

Cours+exos

● Médecine
Pharmacie
1^{re} & 2^e années
DEUG SVT

Biologie cellulaire

Marc Maillet

9^e édition

- L'essentiel du cours
- 700 QCM et QROC corrigés

 **MASSON**

Biologie cellulaire

Mary Mallet

© MASSON

Du même auteur

Atlas de cytologie et de biologie cellulaire. Travaux pratiques, 1986.

Atlas des abréviations en biologie. 2 500 abréviations et acronymes, 1996.

Biologie cellulaire, 300 QCM, 2002.

Dans la même collection

Biophysique. Radiobiologie, radiopathologie, par R. PAULIN, P. GALLE, 2000.

Anatomie générale, par J.-P. CHEVREL, J.-L. DUMAS, J.-P. GUÉRAUD, J.-B. LÉVY, 2000.

Embryologie. Développement précoce chez l'humain, par M. CATALA, 2000.

Histologie. Les tissus, par J. POIRIER, J.-L. RIBADEAU DUMAS, M. CATALA, J.-M. ANDRÉ, R. GHERARDI, J.-F. BERNAUDIN, 9^e édition, 2002.

Chimie organique, par H. GALONS, 2000.

Biomathématiques, par S. BÉNAZETH, M. BONIFACE, I. NICOLIS, V. LASSERRE, C. DEMARQUILLY, M. LEMDANI, 2001.

Évolution de l'organisation animale, par J. BAILENGER, 2001.

Chimie générale, par G. GERMAIN, R. MARI, D. BURNEL, 2001.

Biochimie génétique, biologie moléculaire, par J. ÉTIENNE, É. CLAUSER, 2001.

Probabilités et statistique, par A.-J. VALLERON, 2001.

Autres ouvrages

Biologie du développement, par A. LE MOIGNE. Collection « Abrégés de médecine ». 4^e édition, 1997.

Anatomie 265 QCM, Tome 1, par J.-P. CHEVREL, 2002.

Anatomie 300 QCM, Tome 2, par J.-P. CHEVREL, 2002.

Chimie organique, 200 QCM, 100 exercices, par H. GALONS, 2002.

Chimie générale, QCM et exercices, par G. GERMAIN, 2002.

Embryologie, 300 QCM, par M. CATALA, 2002.

Histologie, 300 QCM, par J. POIRIER, M. CATALA, J.-M. ANDRÉ avec la collaboration de J.-F. BERNAUDIN et R.K. GHERARDI, 2002.

Cours + exos

● Médecine
.....

Pharmacie
1^{re} & 2^e années
DEUG/ SVT

Biologie cellulaire

Marc Maillet

9^e édition révisée et augmentée

M MASSON



Ce logo a pour objet d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, tout particulièrement dans le domaine universitaire, le développement massif du « photocopillage ». Cette pratique qui s'est généralisée, notamment dans les établissements d'enseignement, provoque une baisse brutale des achats de livres, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que la reproduction et la vente sans autorisation, ainsi que le recel, sont passibles de poursuites. Les demandes d'autorisation de photocopier doivent être adressées à l'éditeur ou au Centre français d'exploitation du droit de copie : 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris. Tél. : 01 44 07 47 70.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle par quelque procédé que ce soit des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

© Masson, Paris, 2002

ISBN 2-225-83549-7

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	IX
REMERCIEMENTS	X
1. LA CELLULE : SCHÉMA GÉNÉRAL ET TECHNIQUES D'ÉTUDE	1
Définition	1
La cellule eucaryote et ses organites	2
Les cellules procaryotes	7
Les techniques d'étude de la cellule	10
2. LA MEMBRANE PLASMIQUE	33
Structure et composition biochimique	33
Les mouvements des lipides et des protéines	46
Les transports perméatifs	51
Les transports cytotiques	59
Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique apicale	73
Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique baso-latérale	77
La membrane plasmique et les échanges d'informations	79
Membrane plasmique et adhérence cellulaire	84
Les jonctions intercellulaires	88
La membrane plasmique des cellules tumorales	103
3. LE CYTOSQUELETTE	127
Les microfilaments d'actine	127
Les filaments intermédiaires	148
Les microtubules	153
4. LE NOYAU	177
Introduction	177
Caractères généraux	178
La chromatine	181
L'ADN nucléaire	185
Les ARN	201
Les espaces interchromatiniens	214
La matrice nucléaire	216
L'enveloppe nucléaire	219
Les pores nucléaires	221
Le nucléole	227
5. LE CYCLE CELLULAIRE	257
Les facteurs de croissance	258
L'interphase	258
La mitose ou phase M	261
Les chromosomes et le cycle cellulaire	266
Agents antimitotiques	273
Contrôle du cycle cellulaire	274

L'apoptose	280
6. LA MITOCHONDRIE	299
Structure en microscopie optique	299
Mouvements des mitochondries	302
Ultrastructure et constitution biochimique	303
Mort et renouvellement des mitochondries	312
Phylogenèse des mitochondries	321
Les mitochondries et le contrôle de l'apoptose	322
Les sources d'énergie de la mitochondrie	322
Oxydation des acides gras : l'hélice de Lynen	325
Le cycle de Krebs	326
Le cycle de l'urée	327
Mitochondrie et respiration cellulaire	328
Fonctions de synthèse des mitochondries	335
Rôle des mitochondries dans la thermogenèse	336
Régulation du calcium cytosolique	336
Concentration de substances dans les mitochondries	337
Les dysfonctionnements mitochondriaux provoquent de graves affections	338
7. LES ENDOSOMES	351
Biogenèse et fonctions des endosomes précoces	352
Les vésicules endosomales de transport	357
Les endosomes tardifs	358
8. RIBOSOMES ET RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE	371
Les ribosomes	371
Le réticulum endoplasmique	379
9. L'APPAREIL DE GOLGI	403
Diversité de forme, de taille et de position de l'appareil de Golgi	403
Les dictyosomes	405
Rôle des microtubules dans l'intégrité de l'appareil de Golgi	407
Composition moléculaire	408
Le transit des protéines issues du RE à travers l'appareil de Golgi	410
Le transport du RE à l'appareil de Golgi par les vésicules à manteau de coatomères	412
Les flux membranaires traversant l'appareil de Golgi	414
Fonctions de l'appareil de Golgi	416
Tri des produits élaborés par le RE	420
Origine de l'appareil de Golgi	426
10. LES LYSOSOMES	437
Morphologie des lysosomes	437
Les hydrolases lysosomales	438
Biogenèse des lysosomes	439
Propriétés de la membrane lysosomale	441
Composition de la membrane lysosomale	441
L'hétérophagie	443
L'autophagie	446

Les corps résiduels	449
Digestion de matériaux extracellulaires	451
Rôle dans la fécondation	452
Les maladies lysosomales	453
X 11. LES PEROXYSONES	467
Morphologie des peroxysones	467
Organisation moléculaire des peroxysones	470
Biogenèse des peroxysones	472
Variabilité des peroxysones	477
Fonction des peroxysones	478
Voies de biosynthèse impliquant les peroxysones	484
La minichaîne respiratoire	484
Les maladies peroxysonales	484
12. LE CENTRIOLE, LE CENTROSOME ET SES DÉRIVÉS	499
Le centriole	499
Le centrosome ou MTOC	505
Coordination du cycle centriolaire avec le cycle cellulaire	507
Les cils vibratiles	510
GLOSSAIRE	529
INDEX	547

AVANT-PROPOS

Cette neuvième édition est l'aboutissement d'un profond remaniement et d'une mise à jour à partir de travaux dont la date de publication la plus récente est juin 2002. Il n'est pas possible dans un tel ouvrage d'envisager tous les aspects de la biologie cellulaire : seules les notions que l'auteur considère comme essentielles sont développées.

Ce sont les étudiants, réunis en commission, qui ont décidé de la présentation d'un tel ouvrage.

Cet ouvrage s'adresse à ceux qui recherchent des connaissances actualisées en biologie cellulaire (PCEM1, Pharmacie, préparation à l'École vétérinaire, DEUG de sciences biologiques, professeurs de l'enseignement secondaire, et cette liste n'est pas exhaustive).

La biologie cellulaire est devenue la discipline incontournable dans de nombreux enseignements préparatoires. Par exemple, l'acquisition des connaissances en biologie cellulaire est nécessaire, indispensable à une bonne compréhension de la pathologie et au progrès de la médecine. Elle permet en effet de comprendre les mécanismes pathologiques, leur origine et de concevoir de nouveaux médicaments.

Des disciplines aussi variées que la physique, la biophysique, la biochimie, la biologie moléculaire, les nanotechnologies, sont des outils qui permettent de progresser rapidement. D'où la nécessité, à l'occasion d'une nouvelle édition, d'une mise à jour aussi précise que possible.

Les mises à jour fréquentes peuvent introduire un décalage entre le contenu du livre et votre cours : malgré la lourdeur d'une édition, il arrive, et je l'ai constaté fréquemment, que le contenu de cet ouvrage soit en avance sur l'enseignement magistral. C'est la raison pour laquelle ce travail devrait permettre aux enseignants, surchargés par de multiples tâches, de se mettre à jour facilement tout en complétant leur connaissance à l'aide de la bibliographie : cela éviterait aux étudiants d'émettre parfois des jugements défavorables sous prétexte que le livre consulté ne correspond pas au cours enseigné. Le livre est une référence, à portée de la main, que l'on consulte pour mieux comprendre et parfaire son savoir.

Ce savoir, vous pouvez le tester grâce aux QCM, aux QROC et aux questions sur l'iconographie que vous trouverez à la fin des chapitres, à l'exception du premier chapitre. Ces QCM sont adaptées au contenu de l'ouvrage. Vous devez, vous, adapter vos QCM à votre cours, puisque les épreuves de biologie cellulaire du PCEM1 seront jugées par votre enseignant.

Il faudra vous familiariser avec les nombreuses abréviations que vous trouverez dans ces pages : elles ne correspondent pas à une mode ; elles sont devenues nécessaires dans un ouvrage qui se veut didactique. Elles vous préparent à la lecture des publications de biologie cellulaire et de biologie moléculaire où elles fourmillent littéralement, bien souvent sans aucune explication sur leur signification. Les abréviations sont expliquées dans le texte et en fin de chaque chapitre.

Je terminerai ces quelques lignes par une pensée pour tous mes anciens collaborateurs, les Professeurs Michel-Jack Tharanne, Claude Moraine, Philippe Anthonioz, Brigitte Arbeille, avec lesquels j'ai passé de nombreuses années riches et fertiles, collaborateurs dont l'amitié m'a toujours accompagné.

Écrire un livre, enseigner, c'est transmettre : transmettre son savoir sans l'imposer, en respectant la liberté de l'autre, car nous savons que la vérité d'aujourd'hui n'est pas celle de demain. En effet, les acquis scientifiques ne sont pas toujours définitifs et il arrive qu'ils soient abandonnés pour des résultats plus récents. Tout cela devrait nous ramener à une véritable humilité, celle du philosophe qui écrivait *« Qui voudrais-je être ? », « le plus humble de tous »*.

Marc Maillet
Esvres, Thoissey
Août 2002
mai813@aol.com

REMERCIEMENTS

Comme je ne suis pas le seul responsable du contenu de cet ouvrage, je tiens particulièrement à remercier mon épouse, qui depuis la première édition, en 1973, m'a efficacement secondé. En qualité de première lectrice, Christiane Maillet, m'a souvent fait corriger des phrases dont la construction rendait la lecture difficile : de plus, Christiane, compétente en publication assistée par ordinateur, a réalisé la mise en page de plusieurs de mes ouvrages (en fait, je devrais dire de nos ouvrages), ce qui nous permettait de travailler plus rapidement, en toute sécurité : nous étions sûrs que des erreurs ne seraient pas introduites par l'imprimeur. Je remercie également, Monsieur Pierre Gondran qui, en qualité de relecteur, m'a suggéré des modifications.

A la mémoire de mon père
Monsieur Maurice Maillet
qui m'a enseigné les véritables valeurs :
travail, conscience, persévérance.
C'est lui qui, le premier, m'a fait connaître cette phrase de Guillaume d'Orange :
« Il n'est pas nécessaire d'espérer pour entreprendre
ni de réussir pour persévérer. »

LA CELLULE : SCHÉMA GÉNÉRAL ET TECHNIQUES D'ÉTUDE

Structure
de la cellule eucaryote

Structure
de la cellule procaryote

Les techniques d'étude
de la cellule

Notre univers existe depuis 15 milliards d'années. Le système solaire se constitue 13 400 000 000 d'années plus tard. Il faut attendre encore 1 600 000 000 d'années pour assister à la naissance des Procaryotes et 900 millions d'années pour celles des Eucaryotes.

Quant à l'homme, il est tout jeune, il n'a que 40 millions d'années. Et cet animal, comme tous les êtres vivants, est un complexe assemblage de cellules.

La cellule est l'image même de l'unité dans la multiplicité. En effet, malgré la multiplicité infinie des êtres vivants, nous savons, depuis la naissance de la théorie cellulaire (Schleiden et Schwann, 1837), qu'ils sont tous constitués par une ou par de multiples cellules. De plus, l'observation de la ou des cellules qui composent les organismes unicellulaires ou pluricellulaires montre, qu'en dépit des grandes dissemblances de forme et d'organisation liées à leur spécialisation, ces cellules possèdent toutes des éléments fondamentaux appelés organites, qui ne présentent pratiquement aucune trace de cette diversification structurale.

Définition

Le terme de cellule regroupe les cellules procaryotes et les cellules eucaryotes. La cellule est la plus petite unité capable de manifester les propriétés du vivant. La cellule synthétise l'ensemble, ou presque, de ses constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire. Elle croît et se multiplie. Limitée par la *membrane plasmique*, elle renferme un certain nombre d'organites.

La cellule procaryote ne possède pas de noyau et n'en a jamais possédé; un seul chromosome, formé d'acide désoxyribonucléique (ADN), représente le matériel génétique; aucune enveloppe ne le sépare du cytoplasme.

*La cellule eucaryote contient un noyau, organite limité par une enveloppe, renfermant le matériel génétique sous forme d'ADN, molécule majeure des chromosomes; les Protozoaires sont formés par une seule cellule eucaryote libre, souvent capables de se mouvoir (amibes, paramécies); les Métazoaires sont des êtres pluricellulaires, constitués par des cellules eucaryotes groupées en tissus (épithéliaux, musculaires, conjonctifs, de soutien — cartilagineux, osseux —, nerveux). À l'exception des hématies et des cellules nerveuses, la cellule subit un cycle où alternent deux grandes phases, la phase d'activité fonctionnelle ou *interphase* et la phase de multiplication ou *mitose*.*

Les virus échappent à cette classification : lorsqu'ils sont isolés, ils ne manifestent aucune activité vitale. Mais dans les cellules eucaryotes ou procaryotes qu'ils infectent, leur matériel génétique (ADN ou ARN) est incorporé à la cellule hôte, se réplique et dirige la synthèse des protéines virales.

La cellule eucaryote et ses organites

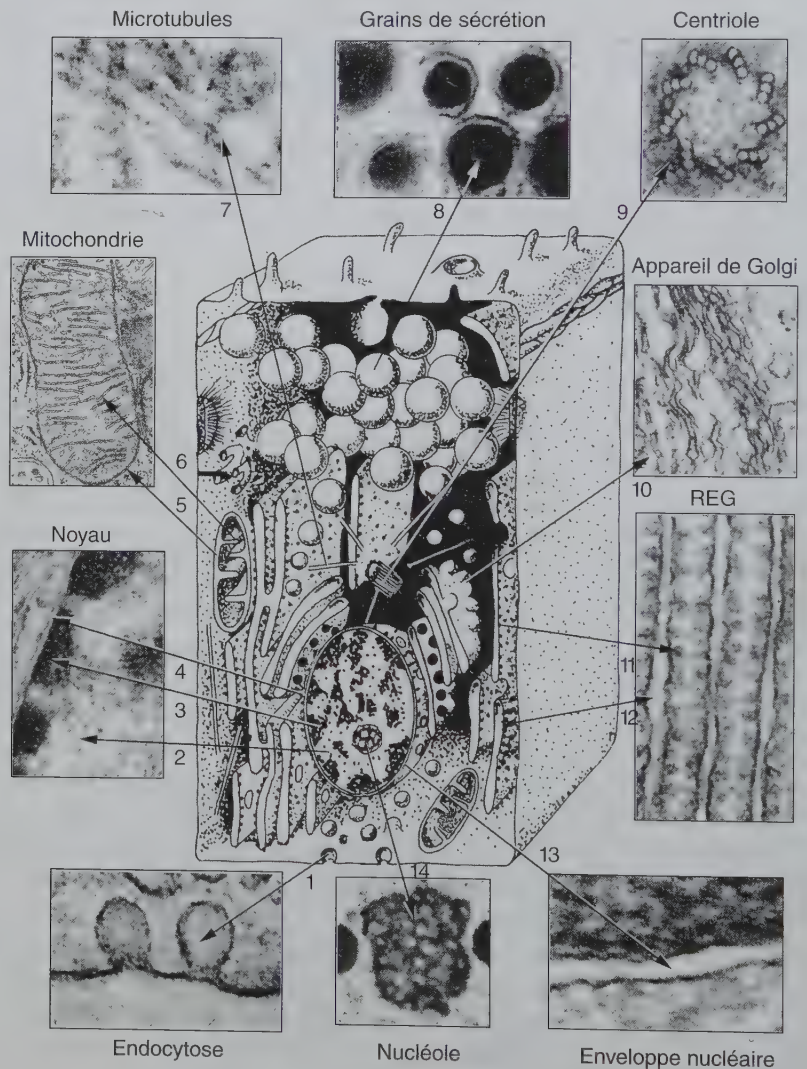
Dans les cellules eucaryotes, l'ADN est séparé du cytoplasme par une enveloppe qui délimite le noyau. Les cellules eucaryotes possèdent, en plus du noyau, plusieurs organites caractéristiques et spécifiques : il s'agit du réticulum endoplasmique (RE), de l'appareil de Golgi, des mitochondries, des chloroplastes (chez les Végétaux), des endosomes, des lysosomes, des peroxyosomes, du cytosquelette et du centre cellulaire.

La membrane plasmique

La membrane plasmique est une structure organisée et complexe (et non pas une simple interface) qui sépare le milieu intracellulaire du milieu environnant. La membrane plasmique a une épaisseur moyenne voisine de 8,5 nm. Elle limite le *protoplasme* qui regroupe le noyau et le cytoplasme (fig. 1.1). Elle est constituée par une *double couche lipidique* (associée à des protéines intramembranaires ou périphériques) recouverte par le *cell coat* (manteau cellulaire).

Fig. 1.1
Représentation schématique tridimensionnelle d'une cellule à sécrétion exocrine.

1. Vésicule d'endocytose en cours de formation.
2. Nucléoplasme.
3. Chromatine marginale.
4. Enveloppe nucléaire.
5. Membrane mitochondriale externe.
6. Crête mitochondriale.
7. Microtubule.
8. Grain de sécrétion.
9. Centriole.
10. Appareil de Golgi.
11. Ribosome.
12. Membrane du REG.
13. Espace périnucléaire.
14. Nucléole.



Si le rôle de la membrane plasmique est le maintien de l'intégrité de la cellule qu'elle limite, il n'en demeure pas moins que, pour obtenir un tel résultat, elle possède des fonctions multiples. La face externe de la membrane plasmique entre en relation avec le milieu extérieur dont la composition et les propriétés peuvent varier considérablement : par contre, la face interne entre en rapport avec un milieu relativement constant, le milieu intracellulaire. Il en découle que la face interne et la face externe de la membrane plasmique ne possèdent ni la même structure, ni les mêmes fonctions. Cette *asymétrie* se traduit non seulement par l'existence, sur la face externe, d'un revêtement glycosylé (le cell coat), mais aussi par une répartition différente des lipides dans la double couche.

La membrane plasmique permet ou interdit l'entrée de molécules dans le cytoplasme. Elle possède les molécules nécessaires à l'endocytose (phagocytose et pinocytose) et intervient dans la *reconnaissance des molécules* circulant dans le milieu extracellulaire, des débris cellulaires ou d'autres cellules avec lesquelles elle peut s'associer (jonctions intercellulaires). Elle permet aux cellules de communiquer les unes avec les autres, grâce aux récepteurs membranaires qui se lient spécifiquement à des signaux moléculaires, les *ligands* (hormones, par exemple) élaborés et libérés par d'autres cellules.

La membrane plasmique peut posséder des différenciations qui magnifient ses fonctions : elle développe des *microvillosités* pour les cellules absorbantes, des *jonctions intercellulaires* lorsqu'une adhérence forte est nécessaire entre les cellules ou entre les cellules et la matrice extracellulaire.

La membrane plasmique associée au cytosquelette participe au *maintien de la forme* et aux *mouvements* de la cellule.

Le noyau

Le noyau, structure particulière des Eucaryotes, est un organite très complexe qui contient, sous la forme d'ADN, les informations nécessaires au maintien des caractéristiques et à la synthèse des protéines spécifiques de l'espèce.

Le noyau, arrondi ou ovalaire, contient, dans le *nucléoplasme*, un ou deux *nucléoles* et des *chromosomes* (ADN) plus ou moins déspiralisés (l'ADN des cellules eucaryotes est associé à des protéines, les histones). Le noyau est limité par l'*enveloppe nucléaire*, une dépendance du réticulum endoplasmique granulaire (REG) qui sépare le noyau du cytoplasme. L'enveloppe nucléaire possède deux membranes, une membrane externe en relation avec le cytoplasme (face cytoplasmique de l'enveloppe nucléaire recouverte de ribosomes) et une membrane interne séparée de la chromatine par la *lamina*. Un espace périnucléaire sépare ces deux membranes.

Des *pores*, ouvertures de l'enveloppe, offrent aux substances exogènes ou endogènes une possibilité de transit, aussi bien dans le sens noyau → cytoplasme que dans le sens cytoplasme → noyau.

Les *mottes de chromatine*, fortement colorables par les colorants basiques en microscopie optique, correspondent à des zones occupées par les filaments d'ADN superspiralisés (ou hétérochromatine). En fait, la microscopie électronique a montré que la chromatine est formée par les régions d'ADN surenroulé associées aux histones. Le terme d'euchromatine désigne les régions plus ou moins décondensées de l'ADN qui occupe les espaces compris entre les mottes de chromatine observées en microscopie photonique.

L'*ADN nucléaire* est le dépositaire de la plus grande partie de l'information génétique (il ne faut pas oublier que les mitochondries contiennent aussi de l'ADN) : il confère au noyau cellulaire toute son importance dans la division cellulaire et dans

le contrôle du phénotype. Le noyau est le siège de la réplication de l'ADN, de la correction des erreurs survenues au cours de la réplication et de la transcription en une molécule (l'ARN messager ou ARNm) porteuse de l'information, qui est décodée et traduite en protéines par les ribosomes dans le cytoplasme (traduction). Le *nucléole*, avec sa matrice dense, dessine un réseau de mailles anastomosées. Il contient des fibrilles et des grains d'ARNr qui participent à la formation des ribosomes cytoplasmiques.

Le réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique (RE) est un ensemble de cavités anastomosées. Il occupe toute la cellule à l'exception de l'exoplasme (terme parfois utilisé pour désigner la partie la plus périphérique du cytoplasme). Le RE est granulaire (REG : réticulum endoplasmique granulaire) lorsque des ribosomes sont accolés à la face externe de sa membrane, lisse (REL : réticulum endoplasmique lisse) lorsqu'il est dépourvu de ribosomes.

Le réticulum endoplasmique granulaire permet la synthèse des protéines. Les ribosomes accolés au REG lisent les molécules d'ARNm et, en fonction des informations décryptées, synthétisent des protéines destinées à l'exportation (grains de sécrétion) et également la plupart des protéines membranaires. Les ribosomes libres traduisent les ARNm en protéines destinées soit au cytosol, soit aux organites (lysosomes, peroxyosomes, mitochondries, etc.).

Le RE est impliqué dans la synthèse de lipides grâce aux *cytochromes P450* qui sont des enzymes contenues dans ses membranes et qui catalysent les réactions d'hydroxylation au cours de la synthèse des hormones stéroïdes.

Les mitochondries

Les mitochondries sont des éléments arrondis ou ovalaires de petites dimensions (1 μm en moyenne) limités par deux membranes, une membrane externe, périphérique, lisse et une membrane interne, dont les crêtes augmentent la surface.

Les mitochondries sont constituées par une *matrice* limitée par deux membranes, distinctes par leur morphologie, leur composition biochimique et leurs fonctions.

La *membrane externe* est très perméable; la *membrane interne*, peu perméable, contient de nombreuses molécules intervenant dans le transport transmembranaire en association avec des protéines transmembranaires de la membrane externe.

La membrane interne dessine des crêtes qui plongent dans la matrice: elles contiennent la *chaîne respiratoire* et le mécanisme moléculaire nécessaire à la synthèse de l'ATP, molécule qui, par hydrolyse, délivre une grande partie de l'énergie nécessaire au fonctionnement de la cellule.

La matrice est impliquée dans l'oxydation des glucides, des lipides et des acides aminés. Elle contient un ADN spécifique, l'ADNmt (ADN mitochondrial) et toute la machinerie moléculaire nécessaire à une synthèse limitée à une dizaine de protéines.

L'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi désigne l'ensemble des dictyosomes de la cellule. Chaque dictyosome regroupe des saccules empilés, des vésicules de petites dimensions.

L'appareil de Golgi modifie, trie, emballe et expédie les produits élaborés par le RE. Les membranes de l'appareil de Golgi catalysent le transfert de précurseurs glucidiques ou lipidiques à des protéines pour synthétiser des glycoprotéines et des lipoprotéines. L'appareil de Golgi est non seulement responsable de la poursuite de la N-glycosylation qui a commencé dans le RE, mais dirige aussi la O-glycosylation des protéines à partir de précurseurs (des glucides nucléotidiques) provenant directement du cytosol.

L'appareil de Golgi est le principal site de formation de nouvelles membranes. Il empaquette les protéines dans des vésicules séparées, spécifiques des produits à transporter.

Les endosomes

■ Le RE, l'appareil de Golgi, les endosomes sont regroupés fonctionnellement en un système, le système endomembranaire. Le système endomembranaire réunit donc des organites et des compartiments limités par une membrane, qui communiquent entre eux et avec la membrane plasmique par l'intermédiaire de vésicules.

Les endosomes, qui regroupent les endosomes précoces et les endosomes tardifs, sont des organites permanents, limités par une membrane, situés sur la voie de l'endocytose.

Les endosomes précoces sont formés par les vacuoles d'*endocytose* qui fusionnent. Les récepteurs membranaires des vacuoles d'endocytose, incorporés dans la membrane des endosomes précoces, sont recyclés en direction de la membrane plasmique. Le contenu des endosomes précoces est transporté aux endosomes tardifs par des vésicules ECV (endosomal carrier vesicle; vésicule endosomale de transport) ou MVB (multivesicular body; corps multivésiculaire) qui proviennent du bourgeonnement de leur membrane. Le contenu des endosomes tardifs est à un pH acide voisin de 5. Les endosomes tardifs fusionnent avec les lysosomes.

Les lysosomes

Les lysosomes sont des organites limités par une membrane, qui contiennent un très grand nombre d'hydrolases capables de lyser la majorité des molécules contenues dans la cellule.

Les lysosomes sont nécessaires à la « digestion cellulaire ». Ces organites sont limités par une simple membrane capable de maintenir leur contenu à un pH très bas (aux environs de 5). Les hydrolases clivent les molécules en composés simples, de faible poids moléculaire, qui sont réutilisés par la cellule. Le contenu enzymatique est variable, fonction du type d'activité de la cellule. La membrane lysosomale est une barrière efficace qui protège la cellule des enzymes lysosomales. La membrane des lysosomes peut être rompue : les enzymes libérées agissent sur leur substrat et la cellule est alors entièrement détruite.

Les peroxysomes

Les peroxysomes sont des organites sphériques ou ovalaires de 0,3 à 1,5 μm , présents aussi bien dans les cellules eucaryotes des Mammifères que dans les Protozoaires et dans les cellules végétales.

Les peroxysomes contiennent des peroxydases qui détruisent le peroxyde d'hydrogène. En fonction des espèces, ces organites limités par une membrane renferment dans leur *matrice* un *nucléotide* (formation paracristalline inconstante, absente chez l'Homme) au sein d'une substance homogène. Ils contiennent de l'uricase (absente chez l'Homme), une D-amino-oxydase, des L- α -hydroxy-oxydases, etc. Ils contien-

nent aussi des enzymes intervenant dans le catabolisme de lipides, localisées soit dans la membrane, soit dans la matrice.

Les peroxysomes des tissus différents contiennent des enzymes différentes.

Le centre cellulaire ou centrosome

Le centre cellulaire ou MTOC (microtubule organizing center; centre organisateur des microtubules) est un organite de petite dimension, constitué par un à deux centrioles noyés dans une masse finement granulaire, qui existe dans toutes les cellules animales susceptibles de se diviser, occupant généralement une région voisine du centre de la cellule.

Le centre cellulaire ou centrosome contrôle les microtubules (MTs) : il intervient dans la polymérisation et la polarité des MTs (l'extrémité négative plonge dans la masse granuleuse péricentriolaire), au cours de la mitose, de la méiose et de la formation des corpuscules basaux des cils vibratiles ou des flagelles.

Le cytosquelette

Le cytosquelette est une entité constituée par l'ensemble des MTs, des microfilaments d'actine (MFs) et des filaments intermédiaires (IFs). Il intervient dans la morphologie cellulaire, le transport intracellulaire, la mobilité cellulaire, la mitose et la méiose.

Les MTs, isolés ou groupés en faisceaux, dispersés ou localisés, parcourent le cytoplasme et convergent vers le centre cellulaire. Les MTs sont des polymères du dimère de molécules de tubuline $\alpha\beta$.

Les microfilaments sont des polymères instables de l'actine globulaire (actine G).

Les IFs sont des polymères stables : ils regroupent les filaments de cytokératine, de vimentine, de desmine, etc.

Le cytosquelette possède trois protéines mécano-chimiques, la myosine, la dynéine et la kinésine : elles convertissent l'énergie chimique en une énergie mécanique qui déplace les divers composants cellulaires.

Le cytosol

Le cytosol est une solution aqueuse (85 % d'eau) de pH 7, homogène, transparente, qui ne contient pas de structure visible en MO ou en ME. Appelé parfois *hyaloplasme* (plasma transparent), le cytosol est le surnageant obtenu après les différentes étapes de l'ultracentrifugation qui ont éliminé tout le matériel particulaire.

Le cytosol est le site de très nombreuses réactions catalysées par des enzymes solubles.

Dans le cytosol se déroule :

- la dégradation des molécules protéiques, lipidiques et glucidiques (catabolisme);
- la synthèse (anabolisme) de molécules organiques (protéines, glucides, lipides, nucléotides et quelques rares acides aminés) destinées aux membranes des organites.

Il fournit les cofacteurs et les enzymes nécessaires à la synthèse des protéines par le RE et par les ribosomes libres, produit des nucléotides, des enzymes nécessaires au métabolisme des acides nucléiques, des précurseurs (des glucides, des lipides et des

■ La liste est loin d'être exhaustive et n'a pas lieu d'être complète dans un ouvrage de biologie cellulaire qui se limite volontairement à l'exposé de la structure et du fonctionnement des organites (consulter les ouvrages de biologie moléculaire).

protéines) et des molécules extrinsèques de la face interne de la membrane plasmique, des protéines pour l'exportation, etc.

La cellule eucaryote est limitée par la membrane plasmique, une double couche lipidique associée à des protéines recouverte par le cell coat. Elle possède un noyau qui conserve le patrimoine génétique sous la forme d'ADN, un RE qui assure la synthèse des protéines et des lipides, des mitochondries qui fournissent l'énergie nécessaire (synthèse de l'ATP) aux diverses fonctions de la cellule, un appareil de Golgi qui joue un rôle essentiel dans la distribution des molécules synthétisées, un centre cellulaire (MTOC) qui contrôle l'organisation des MTs, des IFs et des MFs, des endosomes précoces et tardifs situés sur la voie de l'endocytose, des lysosomes qui hydrolysent les molécules absorbées par endocytose ou des zones lésées de la cellule, des peroxysomes qui détruisent le peroxyde d'hydrogène et interviennent dans le catabolisme des lipides, un cytosquelette formé par les MTs, les IFs et les MFs.

Les cellules procaryotes

Étymologiquement, procaryote (ou procaryote) signifie «à noyau primitif». En fait, l'ADN a la forme d'une boucle fermée et n'est jamais séparé du cytoplasme par une membrane. Les Procaryotes sont soit des êtres unicellulaires, soit, plus rarement, des êtres pluricellulaires (par exemple, l'oscillaire).

Les cellules procaryotes diffèrent des cellules eucaryotes par :

- la présence d'une paroi constituée de peptidoglycanes;
- leur taille (de 1 à 10 μm);
- leur molécule d'ADN libre, circulaire, toujours en contact avec le cytosol; cette molécule est dépourvue de nucléosome; elle est cependant associée à une histone désignée par HU, qui possède plusieurs fonctions et en particulier celle de réparer l'ADN;
- l'absence de mitochondrie (la chaîne respiratoire est localisée dans la membrane plasmique de la bactérie) et de tout autre organe limité par une membrane (Golgi, RE, lysosomes, peroxysomes, etc.);
- l'absence de mitose et de méiose (les Procaryotes se reproduisent par scissiparité);
- les ribosomes, qui ressemblent à ceux des mitochondries et des chloroplastes, et non à ceux du cytoplasme des cellules eucaryotes, et dont la biosynthèse ne nécessite pas la présence de nucléole.

Caractéristiques des cellules bactériennes

■ Archéobactéries et Eubactéries

Les Bactéries, formes vivantes actuelles les plus anciennes, se classent en Archéobactéries et en Eubactéries. Les *Archéobactéries* se distinguent par l'organisation de leur paroi, par l'existence d'acides gras ramifiés dans la membrane plasmique, par la présence de nucléotides particuliers comme la N1-méthylinosine trouvée spécifiquement dans les ARNt. Ces bactéries diffèrent également par la forme des ribosomes et la constitution de l'ARN polymérase. De plus, l'analyse phylogénétique de la séquence de l'ARNr 16S des Archéobactéries les désigne comme un règne à part entière.

Les *Eubactéries* constituent une population hétérogène comprenant les Mycoplasmes (parasites des cellules animales et végétales), les Bactéries photosynthétiques, les

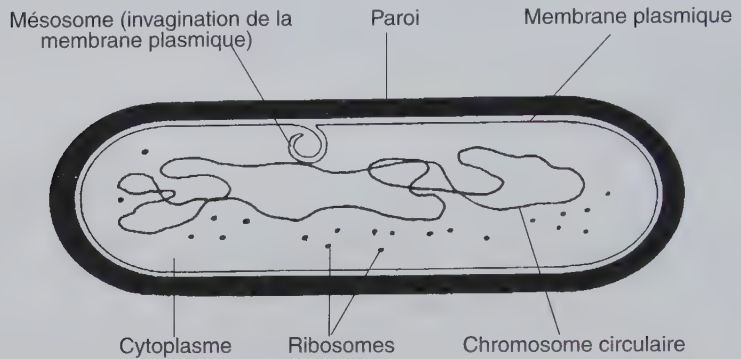
Cyanobactéries qui sont autotrophes photosynthétisantes (elles utilisent l'énergie lumineuse pour synthétiser leurs propres constituants).

■ Caractères généraux

La taille des bactéries est généralement comprise entre 1 et 10 μm (des exceptions existent : les critispires ont une longueur de 30 μm ; le diamètre des rickettsies, à peine plus grandes que les plus volumineux virus, est de 0,3 μm).

Les bactéries sont constituées par un cytoplasme homogène ou granuleux, limité par une membrane plasmique (fig. 1.2).

Fig. 1.2
Schéma général d'une cellule
bactérienne (procaryote).



Il renferme :

- des *ribosomes* groupés en amas (polyribosomes);
- un ou plusieurs *nucléoides*, équivalents nucléaires qui, en microscopie optique, revêtent des formes variées, en bâtonnet, en « V », en haltère. La microscopie électronique démontre que les nucléoides ne sont pas délimités par une enveloppe nucléaire. Ils se différencient cependant facilement du cytoplasme par leur moindre densité au rayonnement électronique et surtout par leur structure fibrillaire. Ils sont remplis d'un feutrage de filaments (3 à 8 nm de diamètre). Ce feutrage est formé par un seul filament d'ADN replié sur lui-même, qui décrit une boucle fermée (ADN circulaire), dont la longueur totale est d'environ 1 mm. Ce filament d'ADN correspond à un chromosome. Il faut noter que le chromosome bactérien peut être parfois linéaire (par exemple chez les *Streptomyces*). Cette molécule d'ADN baigne dans le cytoplasme. La molécule d'ADN est reliée à la membrane plasmique ou, chez les bactéries aérobies, à un mésosome par un complexe enzymatique qui permet sa duplication.

Cette cellule est entourée d'une *paroi* de 8 à 30 μm d'épaisseur, dont la complexité varie avec le type de bactérie. Cette paroi est analogue à celle qui entoure les cellules végétales; elle en diffère, cependant, par sa nature chimique.

■ Caractères distinctifs

Les bactéries peuvent posséder :

- une capsule de nature polysaccharidique, amorphe, qui entoure parfois plusieurs bactéries; elle est souvent très mince, 0,2 μm ; dans quelques espèces, elle est très épaisse et noie la cellule dans une sorte de mucus (zooglie);
- des inclusions (glycogène, lipides, soufre, etc.), qui sont des réserves de substances;
- des chromatophores qui sont des lamelles membranaires porteuses de pigments chlorophylliens;

- des mésosomes (chez les bactéries aérobies) : il s'agit de complexes membranaires qui, pour certains auteurs, auraient la valeur fonctionnelle des mitochondries; les mésosomes sont des invaginations plus ou moins complexes de la membrane plasmique, qui pénètrent parfois profondément dans le cytoplasme bactérien et auxquelles s'attache l'ADN circulaire (nucléoïde);
- des pili, expansions courtes, rigides, adhésives de la membrane plasmique;
- un ou plusieurs flagelles, expansions motrices du cytoplasme.

■ Les Mycoplasmes

Les mycoplasmes sont des bactéries naines, d'un diamètre de 400 nm, non visibles en MO. Les mycoplasmes ou PPLO (*Pleuropneumoniae-like organism*) sont des bactéries pathogènes de l'appareil respiratoire humain. Ces cellules contiennent environ 750 protéines différentes : ce sont les cellules les plus simples actuellement connues. Elles sont entourées par une paroi réduite externe, souple (située en dehors de la membrane plasmique), qui confère à ces cellules une forme aléatoire sans rigidité. Le cytoplasme entoure une molécule d'ADN circulaire : il contient des ribosomes et un appareil enzymatique important.

La membrane contient une quantité notable de cholestérol, absent chez les autres Procaryotes bactériens.

■ Les Spirochètes

Les spirochètes sont des bactéries allongées, hélicoïdales. Le cytoplasme occupe l'axe de la cellule. L'ADN a une forme circulaire : il est en contact direct avec le cytosol. Des microfibrilles, constituées par une protéine contractile, sont disposées autour de l'axe cytoplasmique.

Les Spirochètes sont des parasites de l'Homme, responsables de maladies qui furent (en l'absence de tout traitement efficace) graves (syphilis, spirochètose ictéro-hémorragique).

Le cas particulier des Cyanophycées

Les Cyanophycées et Bactéries, en raison de leurs affinités, appartiennent à l'embranchement des Schizophytes. Les cyanophycées sont des êtres vivant en colonie. Elles ont la forme d'un filament constitué par une rangée de cellules. Chaque filament est entouré par une substance mucilagineuse riche en acides muramique et diaminopimélique. Leur paroi est donc très voisine de celle des bactéries Gram-. Elles possèdent un cytoplasme central occupé par un ADN circulaire non séparé du cytoplasme et de nombreux ribosomes. La zone périphérique de la cellule est occupée par l'appareil chlorophyllien, qui se compose de lamelles membranaires de 15 nm de diamètre, analogues aux thylakoïdes des chloroplastes mais non cloisonnés. Ces membranes sont associées à un pigment sensible à la lumière, la phycocyanine, qui rend ces cellules aptes à une vie autotrophe. Les lamelles membranaires et la phycocyanine interviennent dans la synthèse et l'accumulation de l'énergie.

Les cellules procaryotes se caractérisent par l'absence de noyau, de centre cellulaire, de mitochondrie, d'appareil de Golgi, de RE, de lysosome, de peroxyosome, etc. Elles contiennent une molécule d'ADN circulaire, dépourvue de nucléosomes, et des ribosomes. Les cellules procaryotes ou eucaryotes sont des structures complexes qui assurent l'homéostasie du milieu

intracellulaire malgré les variations du milieu extracellulaire, permettant ainsi le déroulement, dans les meilleures conditions, de milliers de réactions. Non seulement la cellule se réplique sous l'influence de facteurs extra- et intracellulaires, mais elle est aussi capable de croissance. Les cellules eucaryotes diffèrent des cellules procaryotes par la présence d'un noyau (enveloppe nucléaire séparant l'ADN du cytoplasme) et d'organites spécifiques (RE, Golgi, mitochondries, chloroplastes, endosomes).

Les techniques d'étude de la cellule

La biologie cellulaire, comme toutes les sciences biologiques, est tributaire des progrès techniques. Le biologiste dispose actuellement d'un grand nombre de techniques, utilisant des instruments particuliers dont il n'est pas possible de faire, ici, un inventaire complet.

Les microscopes dans l'étude de la cellule

■ Le microscope optique en lumière transmise

Le microscope optique en lumière transmise sert à observer surtout les cellules fixées et colorées.

Un objet éclairé en lumière transmise est examiné à travers un système optique comprenant un objectif, qui donne une image grossie de l'objet, et un oculaire qui permet l'examen de l'image. Les grossissements atteints sont de l'ordre de 1 500 à 2 000 diamètres, avec un pouvoir séparateur de 1/10 de micromètre.

Il est possible aussi de l'employer :

– en lumière réfléchie : l'éclairage est alors vertical, éclairant l'objet de haut en bas; la lumière réfléchie par l'objet est transmise à l'œil de l'observateur par le système optique du microscope;

– en fond noir : l'éclairage est latéral; le fond de la préparation est donc obscur; seules les particules qui diffractent les rayons lumineux en direction de l'oculaire s'illuminent. Cette orientation des rayons lumineux dépend du condenseur. Il est constitué par un dispositif associant un miroir convexe en forme d'anneau et un miroir concave permettant l'éclairage latéral des éléments de la préparation. Les rayons lumineux n'atteignent pas l'objectif lorsque la préparation microscopique est dépourvue de structure. Par contre, lorsque la préparation contient des particules, la lumière est diffractée et certains rayons traversent le système optique du microscope.

■ Le microscope à contraste de phase

Les objets d'amplitude et les objets de phase agissent sur la lumière transmise de deux manières différentes.

Les *objets d'amplitude* diminuent l'amplitude de la vibration électromagnétique : ils sont visibles en microscopie photonique classique.

Les *objets de phase*, transparents et réfringents, n'absorbent pas les radiations lumineuses. Ils ne sont donc pas visibles en microscopie optique conventionnelle.

Pour les objets de phase, la vibration réfractée sera simplement retardée de $\frac{1}{4}$ de longueur d'onde (λ). L'œil ne peut déceler ce retard de phase.

Au cours de l'examen d'une cellule en microscopie photonique ordinaire, l'œil perçoit la lumière transmise. Cette lumière transmise correspond à la somme d'ondes incidentes et d'ondes diffractées. S'il était possible d'augmenter cette diffé-

rence de phase de $\frac{1}{4}$ de λ , on produirait un phénomène dit « phénomène d'interférence » qui provoquerait une baisse d'amplitude de la lumière transmise : l'objet semblerait se comporter comme un objet d'amplitude.

Le microscope en contraste de phase est donc conçu de la manière suivante :

- un condensateur annulaire éclaire une préparation non colorée;
- une plaque de phase est placée derrière la lentille frontale de l'objectif : cette plaque de phase porte un anneau. Les rayons qui traversent la plaque en dehors de cet anneau sont retardés de $\frac{1}{4}$ de λ , ceux qui traversent l'anneau ne sont pas retardés;
- l'image du condensateur se forme exactement sur l'anneau de la plaque de phase;
- les rayons lumineux diffractés par les particules qui constituent l'objet sont diffractés et acquièrent un retard de $\frac{1}{4}$ de λ . Ils traversent la plaque de phase en dehors de l'anneau et sont encore retardés de $\frac{1}{4}$ de λ , ce qui porte le retard, par rapport aux autres rayons non diffractés, à $\frac{1}{2}$ de λ : il se produit alors un phénomène d'interférence et les particules apparaissent en noir.

■ Le microscope à fluorescence

Le microscope polarisant (fig. 1.3) est un microscope photonique pourvu de deux *polaroids* (ou nicols) : l'un est placé entre la lumière et l'objet, l'autre dans l'oculaire. Les nicols étant croisés, on obtient normalement l'extinction : mais lorsque des particules ou des structures sont anisotropes, elles apparaissent brillantes et se détachent sur le fond sombre.

Fig 1.3

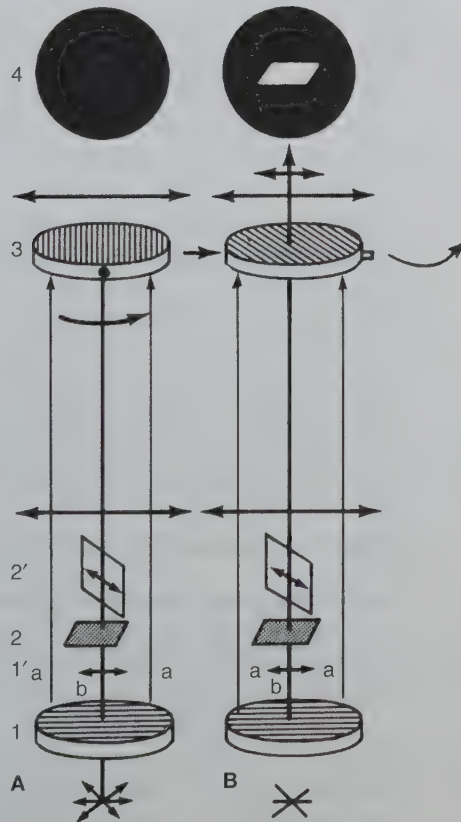
Principe du microscope polarisant.

A. 1. Nicol du condensateur (les traits parallèles indiquent l'orientation des plans dans lesquels vibreront les photons après passage du polaroid). 1'. Plan d'orientation des vibrations lumineuses après passage à travers le nicol. 2. Objet polarisant. 2'. Plan de vibration des photons après avoir traversé l'objet polarisant. 3. Nicol oculaire. On note que son orientation n'est pas parallèle au plan de vibration de la lumière après passage à travers l'objet polarisant. 4. L'objet n'est pas visible.

B. Si le nicol oculaire est orienté de manière à laisser passer les vibrations lumineuses ayant traversé l'objet, et de manière également à ne pas laisser passer les vibrations passant en dehors de l'objet, l'image de celui-ci apparaîtra brillante sur un fond clair.

a. Rayons ne traversant pas l'objet.

b. Rayons traversant l'objet.



Les objets sont illuminés par des radiations ultraviolettes, l'optique du microscope est en quartz : comme la longueur d'onde des ultraviolets est plus courte que celle du spectre visible, le pouvoir de résolution de ces microscopes atteint 0,13 à 0,15 μm . Il permet en outre :

- soit de détecter des substances spontanément fluorescentes (fluorescence primaire), par exemple les tétracyclines, la vitamine A ;
- soit d'observer les structures qui fixent les colorants fluorescents (fluorescence secondaire).

■ Le microscope à fluorescence à balayage

L'image observée avec le microscope à fluorescence « classique » est la somme des images situées en avant et en arrière du plan sur lequel la mise au point a été faite. Le microscope à balayage confocal élimine cet inconvénient puisqu'il ne donne que l'image du plan sur lequel la mise au point a été faite. Un rayon laser focalisé balaie très rapidement tous les points du plan focal. L'image de chacun de ces points est captée par un ordinateur (associé au microscope) qui renvoie une image recomposée. Il est ainsi possible d'observer une cellule ou une structure cellulaire plan par plan et d'obtenir une image tridimensionnelle : cette technique porte le nom de tomographie photonique.

■ Le microscope électronique à transmission

Le MET (microscope électronique à transmission) utilise, à la place de la lumière (rayonnement photonique), un rayonnement électronique. La majorité des ME fonctionnent avec une différence de potentiel de 100 kilovolts.

En raison de la longueur d'onde du rayonnement électromagnétique qui est de 0,005 nm, le pouvoir séparateur du ME peut être théoriquement 40 000 fois supérieur à celui du microscope optique et deux millions de fois plus que notre œil. Le pouvoir séparateur est théoriquement de 2 nm.

L'objet fixé, dont l'épaisseur est inférieure à 0,1 μm est soumis à un bombardement d'électrons. Les électrons, lorsqu'ils passent dans un champ électromagnétique, se comportent comme les rayons lumineux vis-à-vis de lentilles optiques.

Le microscope électronique (fig. 1.4) est constitué par une colonne à l'intérieur de laquelle on peut réaliser un vide poussé : les électrons du rayonnement utilisé seraient absorbés par les gaz. Cette colonne contient des lentilles électromagnétiques qui sont, de haut en bas : le condenseur, l'objectif et le projecteur. Le rayonnement électronique se comporte à travers ces lentilles comme un rayonnement photonique à travers les lentilles de verre. Les électrons permettent ainsi d'obtenir une image agrandie de l'objet, image qui se formera sur écran fluorescent. Cet écran est escamotable de façon à permettre un remplacement de celle-ci par des plaques photographiques.

■ Le microscope électronique à balayage (MEB)

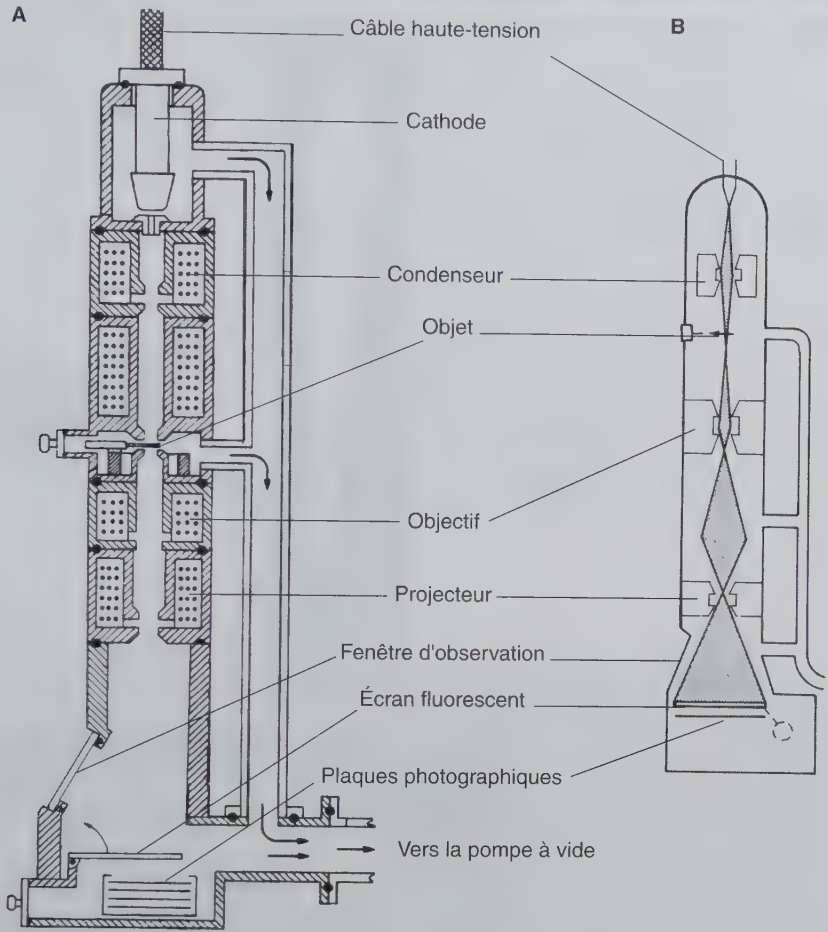
Un faisceau d'électrons (fig. 1.5) balaie la surface de cellules ou de tout autre échantillon qui ont préalablement été recouverts d'un film de platine obtenu par ombrage métallique. L'ombrage des échantillons à étudier se fait dans une enceinte dans laquelle on fait le vide. Un filament métallique (fait d'un métal lourd) est chauffé de telle sorte que le métal s'évapore et recouvre l'échantillon d'une fine pellicule. Les molécules excitées par les faisceaux d'électrons renvoient un rayonnement secondaire sur un détecteur de scintillations : le résultat est observé sur un écran cathodique. La résolution du MEB (microscope électronique à balayage) est

Fig 1.4

Microscope électronique.

A. Structure.

B. Cheminement du rayonnement électronique. Voir explications dans le texte.



de 10 nm. Les images fournies possèdent un relief qui dépend de l'angle du faisceau d'électrons à la surface de l'échantillon examiné.

■ Le microscope électronique à haut voltage

Quelques microscopes électroniques utilisent des différences de potentiel de l'ordre du mégavolt. De tels microscopes permettent d'étudier des coupes épaisses et par conséquent d'observer la forme tridimensionnelle des organites et surtout leur rapport les uns avec les autres. Par exemple, les mitochondries apparaissent comme des éléments allongés et non circulaires et ovoïdes comme la microscopie électronique classique les montre (fig. 1.6).

■ Le microscope à force atomique utilise l'effet tunnel

Le microscope à force atomique (AFM : atomic force microscope) utilise la force d'interaction entre une pointe métallique ultrapointue et la surface de l'objet à étudier. Cette pointe se termine par un atome.

Le cœur de AFM est donc une pointe (fig. 1.7), d'un diamètre apical de 2 à 10 nm, montée sur un levier flexible. L'analyse de la réflexion d'un rayon laser par un récepteur placé sur la face postérieure du levier permet de suivre des déflexions de

Fig. 1.5

Microscopie à balayage.

A. Faisceau d'électrons balayant la surface de l'objet.

B. Objet à étudier.

C. Moniteur permettant d'examiner l'image obtenue par le balayage.

D. Surface d'un grain de pollen vu en microscopie à balayage.

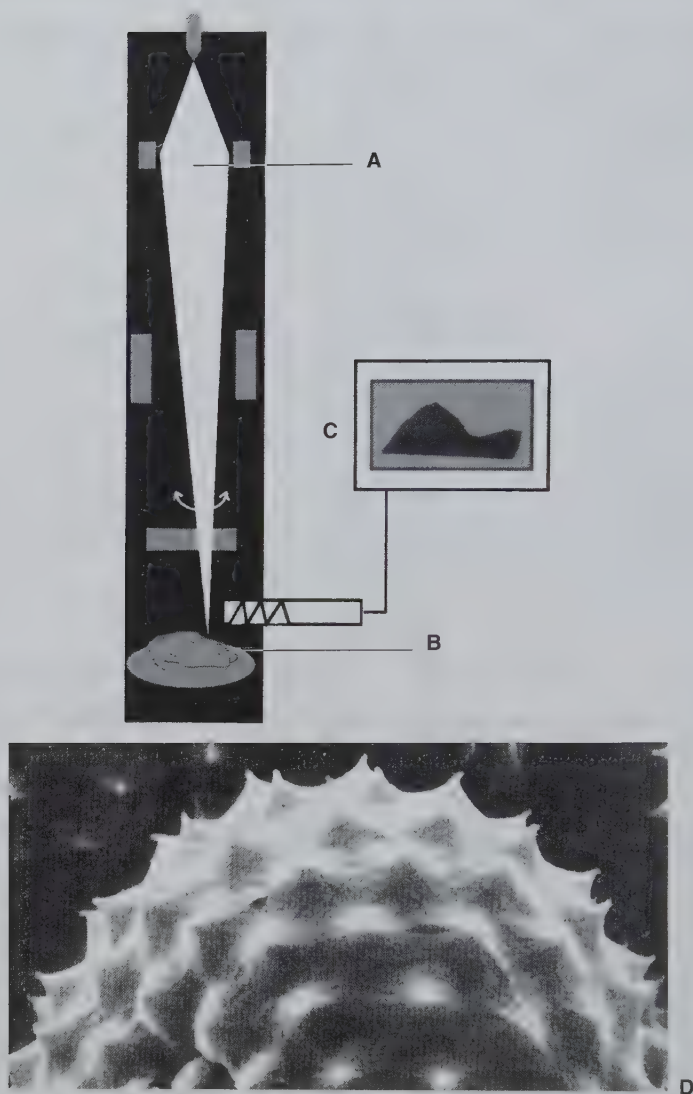


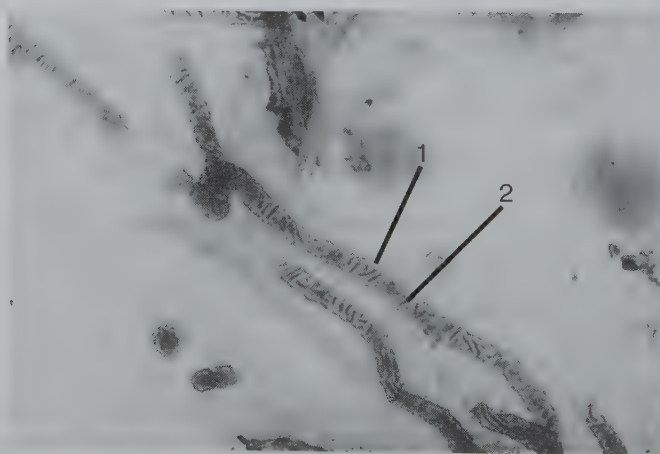
Fig. 1.6

Microscopie électronique alimentée par une tension de 2,5 millions de volts. Les mitochondries apparaissent sous la forme de longs filaments (comparer avec les photomicrographies du chapitre 6).

1. Paroi mitochondriale.

2. Crête.

Courtoisie de P. FAVARD et N. CARASSO.



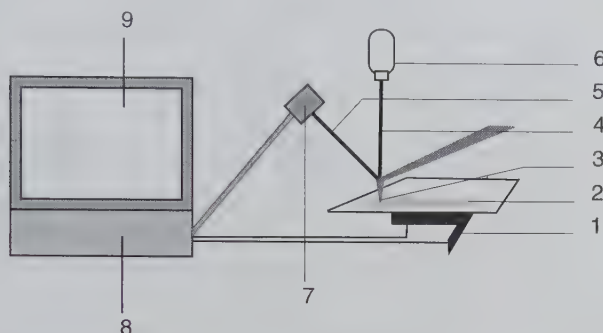
l'ordre de 1 nm. L'échantillon est placé sur des céramiques piézo-électriques, dont la taille change quand on applique un champ électrique. Une précision de déplacement de l'ordre de 0,2 nm est ainsi obtenue. Il est donc possible de balayer l'objet en le déplaçant par rapport à la pointe avec une très grande précision. L'image est observée sur un moniteur.

Ce type de microscope possède une résolution de l'ordre de l'atome. Il permet l'observation des nuages électroniques des atomes, des protéines, etc.

Fig 1.7

Microscope à effet tunnel.

1. Céramiques piézo-électriques.
2. Échantillon à étudier.
3. Pointe de tungstène.
4. Rayon laser.
5. Rayon laser réfléchi.
6. Source d'émission du rayon laser.
7. Capture, pour analyse, du rayon laser réfléchi.
8. Ordinateur.
9. Moniteur.



La microscopie optique classique utilise la lumière transmise : elle donne des images de structures fixées et colorées avec un pouvoir séparateur de $2/10$ de μm et un grossissement maximum de 2 000 diamètres.

Le microscope à contraste de phase est surtout utilisé pour observer les cellules vivantes en culture car il permet de voir nettement les mitochondries, le noyau et diverses autres structures cellulaires.

Le microscope polarisant nous révèle les structures anisotropes.

Le microscope à fluorescence nous montre les substances spontanément fluorescentes ou colorées par des molécules fluorescentes.

Le microscope à fluorescence confocal isole l'image d'un plan d'un objet (tomographie photonique) sans superposition avec les autres plans.

Le MET permet théoriquement d'atteindre des résolutions de l'ordre des distances interatomiques : la résolution est en pratique de 0,5 à 1 nm.

Le MEB donne des images de la surface des objets. L'AFM précise la structure et l'organisation des molécules.

Les techniques de préparations

Que ce soit pour la MO ou la MET, les prélèvements tissulaires ou les cellules sont fixés, inclus, puis débités en coupes. Afin d'obtenir une image, les coupes en MO sont colorées, en ME elles sont contrastées par des sels de métaux lourds.

■ En microscopie optique

Les cellules sont naturellement incolores. Les colorations vitales sont possibles, mais elles ne donnent que peu de renseignements sur les diverses structures et elles ne peuvent être conservées. Il faut fixer les cellules puis les colorer afin d'obtenir des préparations permanentes.

Les techniques de fixation consistent à « tuer » les cellules en coagulant ou non leurs protéines, tout en conservant une structure aussi voisine que possible de celle qu'elles ont à l'état vivant.

Les techniques de fixation et d'inclusion

La fixation utilise des mélanges d'agents chimiques comme le formol, l'acide picrique, le sublimé, l'acide osmique, associés ou non à des acides comme l'acide acétique ou à des sels comme le bichromate de potassium.

Les tissus ou organes à fixer sont plongés dans le mélange fixateur (Bouin, Hollande, etc.).

Les tissus fixés, imprégnés puis inclus dans la paraffine, sont débités en tranches fines par un microtome (fig. 1.8). Les coupes sont étalées et collées à l'eau gélatinée sur une lame de verre, puis séchées à l'étuve.

Les techniques de coloration

Les colorants utilisés, colorants naturels ou colorants synthétiques, sont des sels neutres comportant un radical acide et un radical basique : si la partie colorante est la base le colorant est basique, si elle est acide le colorant est acide.

Les diverses parties des tissus fixeront des colorants différents : certaines structures fixent les colorants basiques, on les dit basophiles, d'autres, les colorants acides, on les dit acidophiles.

La coloration histologique permet une différenciation optique des divers constituants de la préparation observée : mais la couleur des divers constituants n'a pas de signification particulière puisqu'on peut colorer les mêmes tissus, le conjonctif par exemple, en bleu (Masson), en vert (Prenant), en jaune (picro-ponceau), en orange (safran).

■ En microscopie électronique

Utilisation des sels de métaux lourds

Les objets, de très petite dimension (moins de 1 mm³), sont plongés immédiatement après le prélèvement dans un fixateur contenant du glutaraldéhyde tamponné. Cette fixation est suivie d'une post-fixation dans du tétraoxyde d'osmium pour stabiliser les lipides.

Les objets fixés déshydratés sont inclus dans une résine époxy.

Le bloc de résine époxy contenant l'objet fixé est taillé, placé dans un porte-bloc de l'ultramicrotome. Les coupes doivent être ultrafines, environ 30 nm d'épaisseur (fig. 1.9).

Les coupes sont traitées par des sels de métaux lourds (acétate d'uranyle, citrate de plomb) qui se fixent préférentiellement sur certaines structures (l'acétate d'uranyle sur les nucléoprotéines contenues dans le noyau, le nucléole ou les ribosomes, le citrate de plomb sur la membrane plasmique ou les membranes des divers organites cellulaires). Les sels fixés absorbent plus ou moins les électrons et renforcent ainsi le contraste de l'image obtenue sur l'écran fluorescent.

Les techniques de coloration négative

Certaines structures très fines échappent à la microscopie électronique. Les techniques de coloration négative permettent de les étudier (fig. 1.10). Elles consistent à mettre en suspension les structures à étudier dans une solution de phosphotungstate, qu'elles n'absorbent pas. Cette suspension est disposée sur une grille recouverte d'un film de collodion. En séchant, elles forment entre les structures un écran que les électrons ne peuvent traverser. Par contre, les électrons traversent les structures que l'on veut observer. On obtient donc des images en négatif.

Fig. 1.8

Préparation des coupes histologiques pour la microscopie optique.

A. Prélèvement et fixations. L'objet X, prélevé et fixé est placé dans des bains successifs d'un fixateur, d'alcool à 80°, d'alcool à 80°, d'alcool à 90°, d'alcool à 90°, d'alcool absolu, d'alcool absolu, de toluène, avant d'être introduit dans un tube contenant une paraffine liquide à 56 °C et solide à la température du laboratoire. Ces tubes contenant l'objet sont placés dans une étuve à 56 °C.

B. Inclusion à la paraffine. Après un bain prolongé dans la paraffine, la pièce est incluse. Pour cela, elle est disposée au fond d'un parallélépipède limité par deux barres de Leuckart. L'objet est placé au fond et on verse sur l'objet de la paraffine liquide à 56 °C.

C. Coupes. On laisse refroidir le bloc, qui devient solide, on enlève les barres de Leuckart, on taille le bloc et on le dispose dans le porte-bloc du microtome afin de réaliser des coupes qui ont des épaisseurs variables entre 4 et 15 µm. Il se forme un ruban.

D. Étalement et collage des préparations. Le ruban obtenu précédemment est toujours plus ou moins plissé. Pour rendre l'observation plus facile, il est indispensable de pratiquer un étalement de la coupe, c'est-à-dire de déplisser. Cette opération s'effectue en utilisant de l'eau gélatinée, que l'on dispose sur une lame. Un fragment de ruban est placé à la surface de l'eau gélatinée et la préparation est disposée sur une platine chauffante, réglée à une température inférieure à la température de fusion de la paraffine. La coupe s'étale progressivement. Lorsque l'étalement est terminé, l'excès d'eau gélatinée est retiré et la préparation séchée au papier buvard.

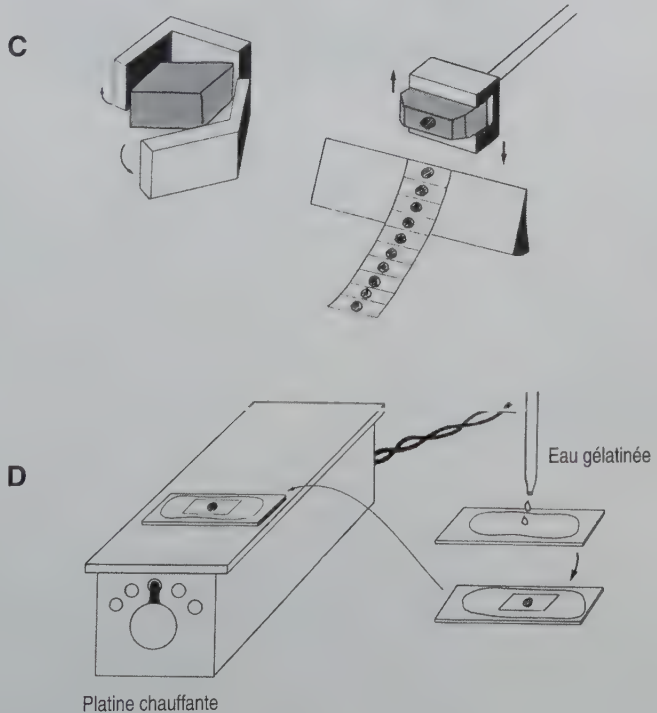
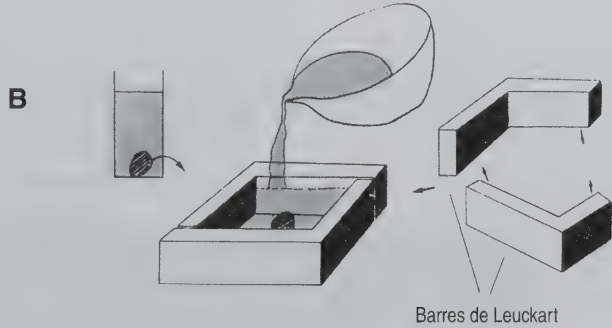
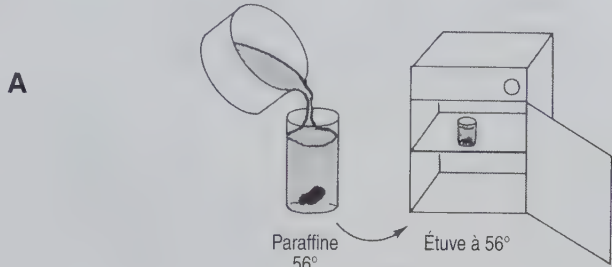
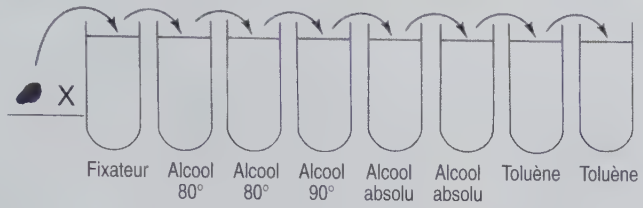


Fig. 1.9

Microscopie électronique : techniques de préparation des objets à examiner.

Ces fragments d'organes sont déshydratés puis placés au fond d'une gélule d'un diamètre de 5 à 6 mm. Une résine (*Epon*, par exemple) est placée dans la gélule. Ces gélules seront introduites dans des étuves réglées à des températures différentes, 37 °C, 45 °C, 60 °C où se déroulera la polymérisation qui aboutira au durcissement de la gélatine.

Le bloc d'épon est taillé, placé dans un porte-bloc de l'ultramicrotome. Les coupes sont faites à l'aide d'un couteau de verre dont l'extrémité a été transformée en une coupelle par l'application d'un ruban adhésif imperméable. Le ruban de coupe est recueilli à l'aide d'une grille dont la surface est de 2 mm², chaque trou (400 en tout) ayant une surface de 5 × 10⁻³ mm². L'objet sera observé entre les mailles de la grille.

A. Prélèvement d'un organe.
B. L'organe est découpé en fragment de 1 mm³ au maximum.

C. Fixation d'un fragment prélevé.

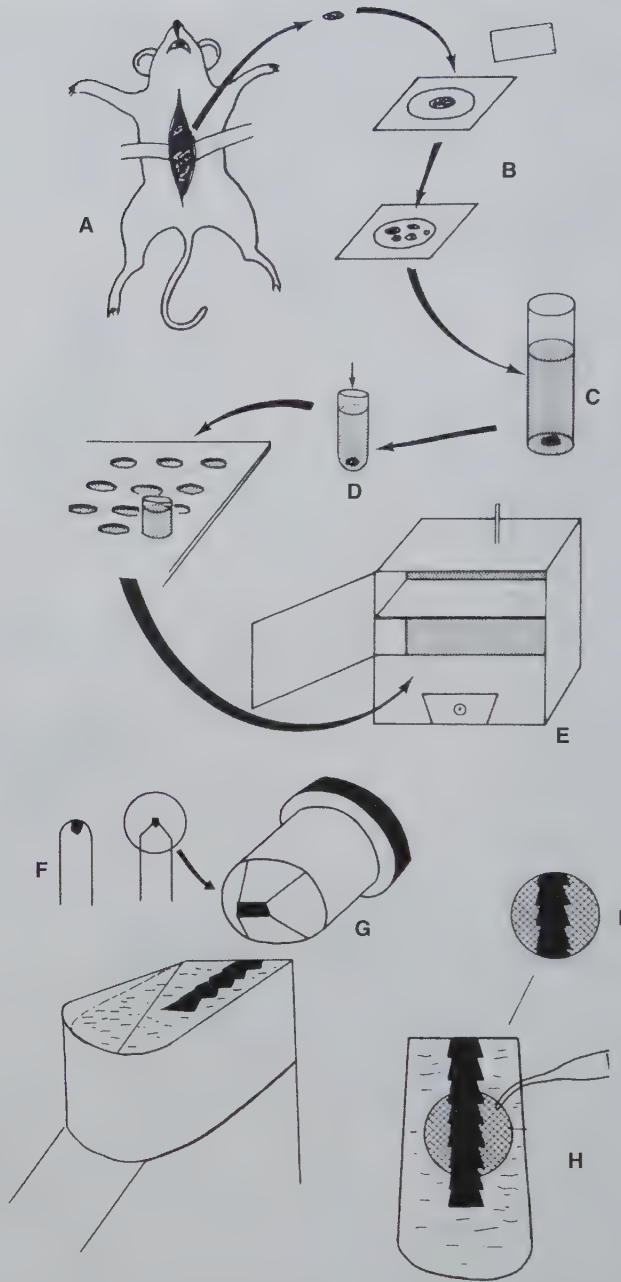
D. Le fragment fixé est placé dans une gélule contenant une résine époxy.

E. La résine est polymérisée (et durcie) par passage dans une étuve.

F. L'extrémité de la gélule est coupée en pyramide.

G. Un ultramicrotome à progression thermique permet de faire des coupes ultrafines qui se disposent en un ruban qui flotte sur de l'eau.

H et I. Les coupes sont recueillies sur une grille : après « coloration », elles sont examinées en microscopie électronique.



Avant d'opérer la coloration négative, il est nécessaire de préparer la grille de manière à obturer les trous avec une matière laissant passer les électrons. Pour cela, une goutte de solution de collodion est placée à la surface de l'eau contenue dans un cristallisateur. Il se forme un film extrêmement fin, que l'on dispose sur la grille. Les substances à étudier en coloration négative sont mises en solution avec du phosphotungstate. On dépose cette solution sur la grille. Le phosphotungstate, en séchant, délimite de manière précise les structures à étudier. Partout où il se

Fig. 1.10

Techniques de coloration négative.

A. Eau distillée.

B. Solution de collodion.

C. Grille utilisée en microscopie électronique. À droite de la flèche, vue de la grille en coupe.

D. Une goutte de la solution de collodion est déposée sur l'eau. Il se forme un mince film de collodion à la surface de l'eau.

E. Le film de collodion est placé sur une grille.

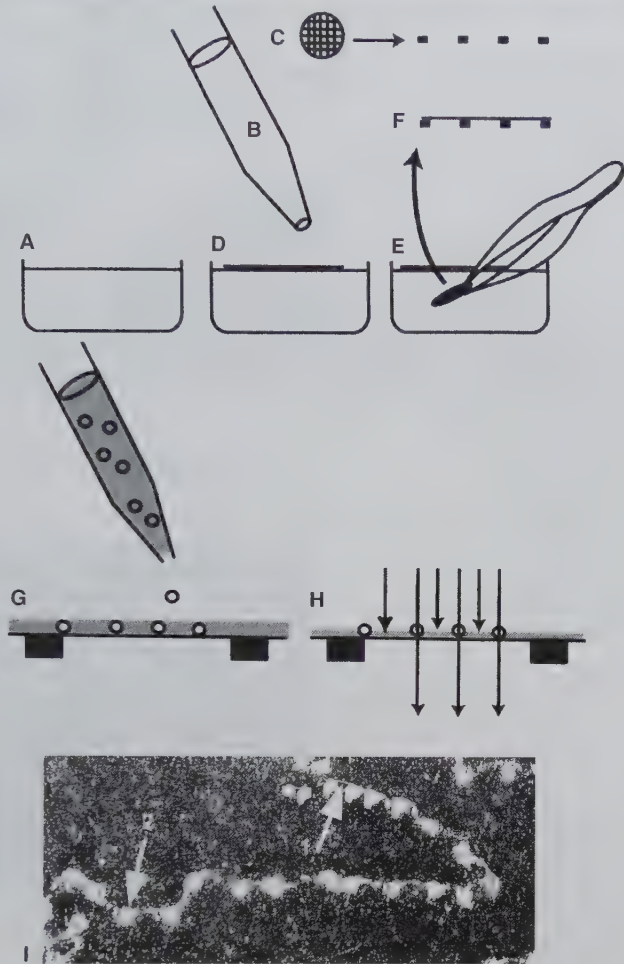
F. Film de collodion déposé sur la grille.

G. Une solution de phosphotungstate contenant les structures à étudier est déposée sur le film de collodion.

H. Les régions non occupées par le phosphotungstate laissent passer les électrons.

I. Coloration négative montrant une fibre nucléosomique.

1. ADN. 2. Nucléosome.



trouve, les électrons ne peuvent traverser. Seules sont perméables aux électrons les régions occupées par les structures dont on veut connaître la forme.

Les techniques de cryofracture

Le tissu à traiter par cryofracture est placé sur un support, congelé rapidement dans du fréon liquide, puis placé dans une cloche sous vide (fig. 1.11). Le spécimen est fracturé et la surface libérée est soumise à une ionisation qui dépose, suivant un angle d'environ 45 degrés, soit du platine, soit du carbone (ombrage). Le platine ou le carbone déposés à la surface de l'échantillon constituent une réplique de la surface. Divers procédés chimiques sont utilisés pour séparer la réplique de l'échantillon. La réplique est observée en microscopie électronique.

La fixation conserve la structure des cellules. L'inclusion dans la paraffine pour la MO, dans des résines pour le ME, permet la réalisation de coupes fines. La coloration en MO, l'utilisation de sels de métaux lourds en ME, contrastent les structures et les rendent facilement visibles. En ME, la coloration négative facilite l'examen des grosses molécules : les techniques de cryofracture et de cryodécapage permettent d'observer leur disposition.

Fig. 1.11

Cryodécapage

A. Le tissu à traiter par freezing etching ou cryodécapage est placé sur un support,

B. Il est refroidi rapidement dans du fréon liquide,

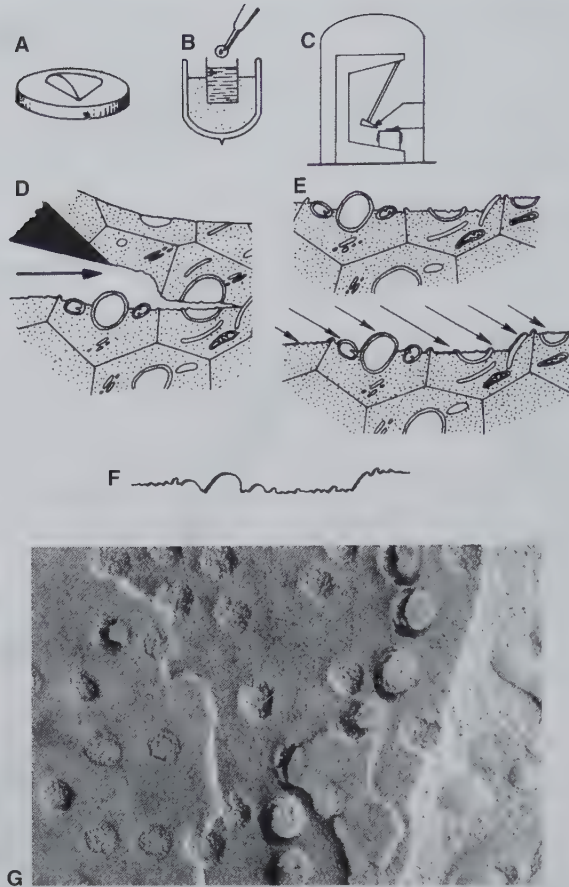
C. Il est placé dans une cloche sous vide préalablement refroidie.

D. Le spécimen congelé est fracturé.

E. La surface libérée est ombrée à l'aide du platine ou du carbone.

F. La réplique est observée en microscopie électronique.

G. Enveloppe nucléaire en cryodécapage : le trait de fracture de la cellule permet de voir à gauche la face interne de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire, au milieu la surface de la partie moyenne de la membrane externe et à droite le cytosol en rapport avec la membrane externe ainsi que la disposition des pores nucléaires.



Les techniques histochimiques

L'histochimie a pour but de caractériser spécifiquement des groupes chimiques ou des substances et de les localiser d'une manière précise.

Elle offre la possibilité d'étudier et de connaître la répartition des acides nucléiques, des lipides, des glucides, des protéines dans la cellule, de localiser un très grand nombre d'enzymes.

Sa précision est parfois remarquable, puisqu'un histologiste peut, sur une coupe, localiser une granulation de bleu de Prusse de 1 nm de diamètre ce qui correspond à 1×10^{-6} g (gamma = 1/1 000 000 de gramme). Il faut conserver à la cellule un aspect proche de sa structure habituelle et empêcher une diffusion des substances à caractériser. Les techniques de congélation évitent ces diffusions.

■ La technique de congélation-dessiccation

Elle consiste à congeler rapidement des cellules en les plaçant dans un mélange propane-isopentane refroidi à -180°C par l'azote liquide, à les transférer ensuite dans une enceinte à -80°C où un vide de 10^{-2} Torr permet une sublimation de la

glace (passage à l'état de vapeur sans passer par le stade liquide). Les substances solubles ne peuvent donc pas diffuser.

■ La congélation-substitution

Elle commence par la même étape que la précédente mais, au lieu d'effectuer une sublimation, on transfère le tissu dans un mélange d'alcools méthylique et éthylique maintenu à -80°C , qui va se substituer à la glace en la dissolvant progressivement. Une fois fixé, le tissu est décongelé lentement.

Les techniques histochimiques localisent avec précision des groupes chimiques ou des molécules dont la concentration peut être extrêmement basse. La congélation-dessication et la congélation-substitution évitent la diffusion.

Le marquage des molécules

C'est la fixation sur une molécule d'un signe de reconnaissance facilement identifiable.

Le marquage autorise le suivi d'un composé dans un organisme, un organe, un tissu ou dans la cellule. Le marquage utilise :

- soit les isotopes radioactifs (autohistoradiographie),
- soit des composés fluorescents (microscopie en fluorescence).

■ Marquage par des isotopes radioactifs

Une molécule marquée est suivie beaucoup plus facilement dans l'organisme ou dans un tissu. Ainsi, le marquage de la cystéine par du soufre ^{35}S permet de connaître le chemin qu'elle parcourt dans le cartilage. La cystéine marquée est injectée à plusieurs rats : ils sont sacrifiés à des intervalles réguliers après l'injection. Le cartilage prélevé est préparé pour un examen en microscopie optique ou en MET. Une émulsion photographique liquide est versée (en chambre noire) sur la préparation : en séchant, elle forme une pellicule sur les cellules. Les régions occupées par l'isotope réduisent l'argent à leur contact. La coupe est traitée, après plusieurs jours d'exposition, comme une pellicule photographique (révélateur puis fixateur), de telle sorte que les grains d'argent réduit apparaissent.

■ Marquage par des substances fluorescentes

Un analogue fluorescent résulte du couplage de la molécule à étudier avec un colorant fluorescent.

Cet analogue est introduit dans la cellule. La micro-injection est effectuée grâce à une micropipette de verre dont l'extrémité a un diamètre de l'ordre du micron. Il est ainsi facile de suivre la dynamique des microtubules (MTs) en injectant un analogue fluorescent de la tubuline (il est constitué par le dimère α/β de tubuline couplé à une molécule de rhodamine). Les analogues se polymérisent en MTs qu'il est alors possible de voir individuellement bien que leur diamètre soit à peine supérieur au pouvoir de résolution de la microscopie optique.

Les techniques d'autohistoradiographie sont très efficaces pour étudier la répartition de nombreuses molécules, leur déplacement ainsi que les fonctions cellulaires.

Les techniques d'immunocytochimie

L'immunocytochimie est l'application à la cellule de techniques fondées sur l'antigénicité des protéines afin de les localiser et de suivre leur évolution.

■ Utilisation des anticorps

Un anticorps, spécifique de l'antigène (protéine) à étudier, est préparé par injection de cet antigène purifié à un animal appartenant à une autre espèce que celle dont on a extrait l'antigène injecté.

L'animal traité développe une réaction immunologique : des macrophages phagocytent la protéine, la fragmentent en peptides et les exposent à leur surface grâce au CMH II (complexe majeur d'histocompatibilité de type II). Les peptides sont présentés aux lymphocytes T. Chacun des peptides présentés déclenche la multiplication de lymphocytes T différents. Les lymphocytes T activent ensuite les lymphocytes B qui se transforment en cellules productrices d'anticorps, les plasmocytes.

L'anticorps obtenu après injection d'un antigène se fixe sur la protéine qui est à l'origine de sa fabrication.

■ Les anticorps poly- ou monoclonaux

Les anticorps sont isolés à partir du sérum de l'animal immunisé. Ces anticorps sont des gamma-globulines. Elles ont la forme d'un « Y » (fig. 1-12). Les deux branches supérieures Fab (fragment antigen binding; fragment de liaison aux antigènes) sont chacune constituées par une chaîne lourde et une chaîne légère disposées parallèlement. La branche inférieure Fc (fragment complément) est formée par deux chaînes parallèles identiques porteuses de liaison avec le complément. Comme ces anticorps proviennent de l'activation de plusieurs populations lymphocytaires, il y aura un type d'anticorps par peptide présenté. Ces anticorps sont donc polyclonaux (plusieurs populations lymphocytaires à leur origine) et polyspécifiques (capables de reconnaître des sites antigéniques, ou épitopes, différents du même antigène).

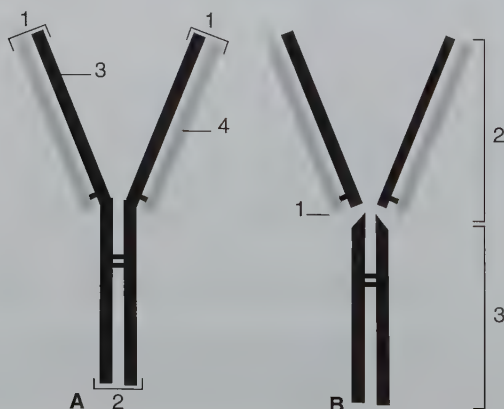
Une technique complexe permet d'obtenir des anticorps monoclonaux monospécifiques à partir d'un antigène.

Fig. 1.12

Représentation schématique d'un anticorps (d'après Poirier et coll.).

A. 1. Sites de liaisons des antigènes. 2. Sites de liaison du complément. 3. Chaîne lourde. 4. Chaîne légère.

B. La papaïne divise la molécule en un fragment Fab et un fragment Fc. 1. Zone de dissociation par la papaïne. 2. Fragment Fab. 3. Fragment Fc.



■ Les anticorps combinés à une substance fluorescente

L'immunofluorescence est une technique qui utilise des anticorps associés à une molécule fluorescente : la fixation du complexe anticorps-substance fluorescente sur la protéine permet de la localiser en microscopie optique en UV.

L'anticorps choisi (fig. 1.13) est combiné à une substance fluorescente (par exemple l'isothiocyanate de fluorescéine). La cellule à étudier, fixée, est recouverte du sérum marqué, puis lavée. L'anticorps fluorescent choisi se fixe sur l'antigène et le met en évidence grâce à la fluorescence visible en MO en lumière UV.

Immunofluorescence directe

Les anticorps repérables par leur molécule fluorescente se fixent sur leur antigène (fig. 1.13A). Le complexe antigène-anticorps-substance fluorescente donne en microscopie à fluorescence des taches colorées facilement visibles.

Immunofluorescence indirecte

La fluorescence n'est alors pas visible même avec un amplificateur électronique d'images.

Dans ce cas, l'immunofluorescence indirecte permet d'augmenter la sensibilité de la réaction. Des anticorps anti-anticorps primaires (anticorps secondaires) sont alors utilisés. La préparation est d'abord traitée par des anticorps primaires : ils se combinent avec la protéine X. Puis, les anticorps secondaires fluorescents se fixent sur les anticorps primaires (fig. 1.13B).

Fig 1.13

Mise en évidence de molécules par les techniques d'immunofluorescence (d'après Poirier et coll.).

A. Mise en évidence directe.

1. Membrane plasmique.

2. Antigène A à localiser.

3. Anticorps anti-A.

4. Molécule fluorescente marquant l'anticorps anti-A.

B. Mise en évidence indirecte.

1. Membrane plasmique.

2. Antigène A à localiser.

3. Anticorps primaire anti-A.

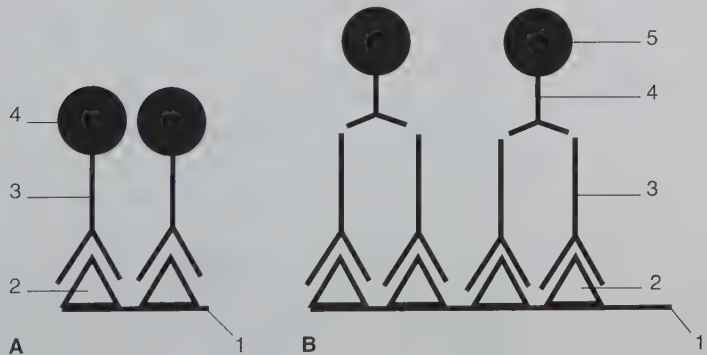
4. Anticorps secondaire

(anti-anticorps anti-A).

5. Molécule fluorescente

marquant l'anticorps second-

aire.



■ Les techniques immunoenzymatiques

Les techniques immunoenzymatiques en MO

Les protéines peuvent être localisées en utilisant leurs anticorps. Une fois leur anticorps obtenu, il est combiné à une enzyme facile à mettre en évidence.

Les enzymes associées aux anticorps sont en effet des enzymes faciles à mettre en évidence : il s'agit soit de la peroxydase extraite du raifort (HRP : horseradish peroxydase), soit de la phosphatase alcaline.

HRP est révélée par la diaminobenzidine qui forme avec HRP un complexe de couleur brune.

La phosphatase alcaline est mise en évidence par divers colorants (magenta phosphate, nitrobleu de tétrazolium, rouge naphthol rapide).

La sensibilité de cette réaction peut être considérablement augmentée par :

- une méthode d'immunofluorescence indirecte qui consiste à utiliser des anticorps antiperoxydase (méthode d'immunoperoxydase indirecte);
- la technique peroxydase-antiperoxydase (PAP) : une molécule PAP est constituée par une molécule de peroxydase combinée à deux molécules d'anticorps-antiperoxydase. Dès que les anticorps antiperoxydase (anticorps primaires) sont fixés sur la protéine à localiser, les anti-anticorps-antiperoxydase (anticorps secondaires) se fixent à la fois sur les anticorps primaires et sur PAP qu'ils réunissent. Pour obtenir une localisation fiable, les molécules de peroxydase de l'échantillon (peroxydase endogène) doivent être inhibées au préalable par H_2O_2 ;
- la technique APAAP (alcalin phosphatase anti-alcalin phosphatase) : une molécule APAAP est un complexe constitué par une molécule d'antiphosphatase alcaline liée à deux molécules de phosphatase alcaline. Les anti-anticorps antiphosphatase se fixent à la fois sur les anticorps primaires (anticorps antiphosphatase) et sur APAAP qu'ils réunissent.

Les techniques immunoenzymatiques en ME

On utilise :

- soit la peroxydase qui forme avec la diaminobenzidine un précipité visible en ME;
- soit des marqueurs opaques (ferritine, or colloïdal) directement visibles. L'or colloïdal est une suspension de sphères d'un diamètre de 0,8 à 5 nm de diamètre. Ces sphères sont recouvertes par des molécules protéiques (protéine A, une protéine de surface du staphylocoque, ou une protéine G, une protéine du streptocoque) : ces protéines peuvent s'associer au fragment Fc de la gamma-globuline. Ainsi, la localisation des sphères d'or colloïdal indique celle des protéines étudiées. En effet, ces sphères, par l'intermédiaire de leur revêtement protéique, se lient aux anticorps qui sont eux-mêmes fixés sur les protéines dont on recherche la localisation;
- soit le système biotine-avidine : la biotine (vitamine hydrosoluble) possède la particularité de se combiner à de très nombreuses substances. Ces substances marquées par la *biotine* sont facilement localisables par l'*avidine* ou la *streptavidine* couplées soit à un fluorochrome soit à HRP ou à la phosphatase alcaline.

Les techniques d'immunofluorescence utilisent des anticorps spécifiques liés à une substance immunofluorescente pour localiser les protéines qui ont été utilisées pour fabriquer ces anticorps. Ces techniques donnent des préparations temporaires et sont inutilisables en ME. L'immunoenzymologie utilise des complexes anticorps-enzymes dont la partie enzymatique peut être facilement mise en évidence.

Les sondes à ADN

Les techniques d'hybridation (IHS : *in situ* hybridation; hybridation *in situ*) sont des techniques basées sur l'emploi de sondes d'acides nucléiques qui permettent de localiser dans la cellule des séquences d'acides nucléiques complémentaires de celles de la sonde utilisée.

Les sondes sont des molécules d'acides nucléiques marquées (soit par des isotopes radioactifs, soit par des composés fluorescents ou non fluorescents) ou non marquées.

Les sondes peuvent être :

- de l'ADN monobrin;
- de l'ADN double brin;
- un ARNm (riboprobe);
- des oligonucléotides synthétiques.

■ Les sondes d'ADN marquées utilisées *in vivo* (fig. 1.14)

Afin de pouvoir les suivre dans la cellule, les sondes sont marquées :

- les sondes chaudes par des isotopes radioactifs (tritium ou phosphore ^{32}P ou ^{33}P),
- les sondes froides par des composés fluorescents ou non fluorescents (biotine ou enzymes comme la phosphatase alcaline).

Les sondes qui se sont combinées à des brins complémentaires sont mises en évidence :

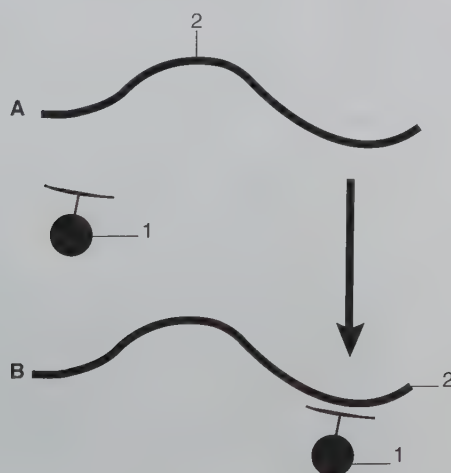
- par autoradiographie pour les sondes chaudes. Un film de gélatine photographique est déposé (en chambre noire) sur les préparations. L'émission de radiations réduit les sels d'argent en grains d'argent. Le comptage des grains d'argent permet une analyse semi-quantitative (technique utilisée également en MET),
- par la microscopie en fluorescence pour les sondes froides marquées par des composés fluorescents,
- par des anticorps pour les enzymes.

Fig. 1.14

Sonde d'ADN marquée (d'après Poirier et coll.).

A. 1. Sonde marquée. 2. ADN monobrin.

B. La sonde marquée se fixe sur les bases complémentaires de celles qu'elles portent. La fixation de la sonde marquée permet de localiser une séquence déterminée de nucléotides.



■ Les sondes d'ADN monobrin marquées utilisées *in vitro*

Pour obtenir une sonde d'ADN monobrin, il convient de séparer les deux brins d'ADN par dénaturation par la température ou le pH. Une température supérieure à 80°C provoque une rupture des liaisons entre les bases de chaque brin et aboutit à la séparation des brins de l'ADN. On détermine ensuite la séquence de cette sonde ainsi obtenue.

À partir d'un pH supérieur à 11,3, les groupements chimiques engagés dans les liaisons hydrogènes perdent leurs charges : l'ADN est alors complètement dénaturé. De plus, en solution aqueuse, les charges négatives des groupements phosphate repoussent les brins, ce qui assure leur séparation.

Les ultraviolets permettent de suivre la dénaturation de l'ADN. L'absorption des UV d'une longueur d'onde de 260 nm (absorbance 260 ou A260) est faible pour l'ADN non dénaturé. A260 augmente au cours de la dénaturation. Cette variation de A260 est représentée par une courbe avec en ordonnées les valeurs relatives de A260 et en abscisses la température : une telle courbe porte le nom de courbe de fusion. La température de fusion T_m est atteinte lorsque l'augmentation de A260 atteint la moitié de sa valeur maximum.

Les molécules d'ADN simple brin possèdent la faculté de se renaturer (de se recombinaison par appariement des bases à une séquence complémentaire) à une température inférieure de 25 °C à la valeur de la T_m et dans un milieu dont la concentration en NaCl est de 0,15 à 0,50 M.

Les ADN dénaturés dont on souhaite connaître les séquences nucléotidiques sont placés en solution puis filtrés sur un filtre de cellulose. Les squelettes pentose-phosphate les fixent fortement tout en laissant les bases libres. Le filtre porteur des molécules d'ADN simple brin est alors plongé dans une « solution d'hybridation » contenant une sonde d'ADN. Après renaturation, les molécules simple brin qui restent libres sont éliminées par une DNase spécifique de l'ADN simple brin.

■ Mise en évidence des régions non complémentaires de l'ADN

L'étude en microscopie électronique des molécules d'ADN renaturé permet de comparer les molécules d'ADN et de détecter les séquences conservées, dénaturées ou absentes (délétées). Lorsqu'il existe, pour deux molécules d'ADN, des régions non-homologues (qui diffèrent par leur séquence nucléotidique), la technique d'hybridation *in situ* reconstruit des molécules d'ADN hybride contenant autant de régions simple brin que de régions différentes. Ainsi, supposons que deux molécules d'ADN (double brin) ne diffèrent que par une seule région. La dénaturation et la renaturation d'un mélange de ces deux molécules d'ADN produit des hétéroduplex, c'est-à-dire des molécules hybrides qui contiennent une région où l'ADN est simple brin. De telles molécules sont parfaitement visibles en microscopie électronique.

L'application de ces techniques à une molécule d'ADN coupée en petits fragments permet, entre autres, de déceler la répétitivité de certaines séquences, de localiser des séquences spécifiques, d'établir les parentés géniques possibles entre divers organismes, de reconnaître des espèces particulières d'ADN.

Ces techniques sont également appliquées à l'ARN sur cellules fixées : elles permettent par exemple de détecter la présence d'un ARN messager spécifique dans tel ou tel type cellulaire.

La quantification du fonctionnement cellulaire

■ Étude de la concentration ionique intracellulaire

Il existe, entre deux microélectrodes introduites dans la même cellule, une différence de potentiel mesurable qui dépend des propriétés de diffusion de l'ensemble des ions contenus dans la cellule. Il est possible d'interrompre la diffusion ionique en appliquant un champ électrique opposé au gradient de concentration.

Les microélectrodes intracellulaires sont en verre : elles possèdent une extrémité dont le diamètre est de quelques dixièmes de microns.

Afin de déterminer la concentration d'un ion déterminé, il faut utiliser une électrode qui ne soit perméable qu'à cet ion. L'électrode est remplie d'une solution de KCl à une concentration connue dans laquelle plonge un fil d'argent. L'extrémité effilée est obturée par une résine échangeuse d'ions perméable uniquement à l'ion dont on souhaite connaître la concentration. L'autre microélectrode est une microélectrode de référence.

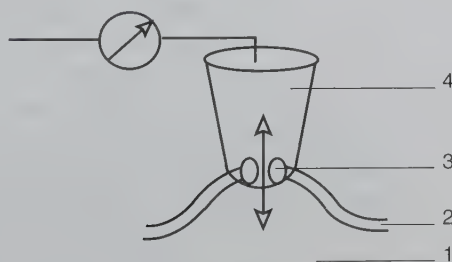
L'intensité du courant électrique continu appliqué pour s'opposer à la diffusion est proportionnelle à la concentration ionique intracellulaire : il est donc possible de mesurer facilement la concentration intracellulaire des ions Ca^{2+} , Cl^{2-} , H^+ , Mg^{2+} , Na^+ .

■ Le patch-clamp

Le patch-clamp est une technique qui permet d'étudier le fonctionnement des canaux ioniques.

Cette technique (fig. 1.15) consiste à appuyer l'extrémité d'une électrode perméable à un seul ion (un peu moins fine que celles décrites dans le paragraphe précédent) contre la membrane plasmique. Ce patch (pièce) de la membrane plasmique est isolé du reste de la membrane par la paroi de la microélectrode qui n'est pas conductrice. Pour effectuer les mesures, il faut « bloquer » (clamp) les variations du voltage des régions situées de part et d'autre de la « pièce ». Les signaux recueillis sont transmis à un système d'amplification ce qui permet de déterminer le potentiel de membrane de la fraction membranaire isolée (patch) et de suivre en temps réel le fonctionnement des canaux ioniques et de déterminer les conditions de leur fonctionnement.

Fig. 1.15
Patch-clamp.
1. Cytoplasme. 2. Membrane plasmique. 3. Canal ionique. 4. Électrode perméable à un seul ion.



■ La stéréologie

La stéréologie regroupe des techniques appliquées à l'étude du volume nucléaire, du nombre de mitochondries, de lysosomes ou de peroxysomes, au calcul des surfaces membranaires des divers compartiments cellulaires. Cette discipline s'intéresse aussi à la quantification des récepteurs membranaires mis en évidence par les techniques immunocytochimiques ou autohistoradiographiques.

■ La quantification par informatique

Les images obtenues en MO et ME sont numérisées et traitées par ordinateur qui les décompose en une multitude de points, les pixels (de « picture element » ; élément d'une image). Divers logiciels adaptés à l'analyse d'image (analyse de

forme, calcul de surface, reconstruction tridimensionnelle à partir d'une série de coupes) donnent des résultats quantifiés.

■ La cytométrie à flux continu

Le trieur de cellules par fluorescence (FACS) sépare les cellules en fonction de leur fluorescence. Supposons que nous souhaitons isoler les cellules porteuses d'une protéine membranaire X de celles qui n'en sont pas porteuses. La suspension cellulaire contenant ces deux types cellulaires est traitée par un anticorps anti-X associé à une molécule fluorescente. Cette solution cellulaire est mélangée avec une solution tampon qui servira de milieu d'entraînement. Les cellules sont dirigées dans une canule qui ne laisse passer qu'une cellule à la fois. Un rayonnement laser illumine chaque cellule au moment de son passage. La lumière diffusée par la cellule qui reçoit le rayonnement est analysée. Puis, la suspension cellulaire circule dans une canule vibrante qui la divise en gouttelettes contenant une seule cellule. Les gouttelettes traversent ensuite un champ électrique : les gouttelettes sans charge ou de charge moindre sont déviées tandis que celles qui contiennent la charge optimum sont recueillies.

Les techniques d'analyse de la cellule donnent des indications précises sur la concentration intracellulaire en ions (par microélectrodes), permettent d'analyser le fonctionnement des canaux ioniques (patch-clamp), de compter les cellules et de les séparer les unes des autres selon des critères préalablement fixés.

Les cultures cellulaires

Les cultures cellulaires se pratiquent :

- soit sur des cellules en suspension (cultures de cellules dissociées),
- soit sur des milieux de culture disposés dans des boîtes de Pétri.

Les *cellules normales* cultivées se multiplient rapidement : en quelques jours la totalité du milieu est recouverte, les mitoses s'arrêtent, les cellules meurent. Ce mécanisme d'arrêt est un mécanisme décrit sous les noms d'inhibition de contact qui dépend de la transmission de signaux entre les cellules cultivées. Afin de maintenir les cellules en vie, il est nécessaire de prélever quelques cellules (avant qu'elles ne meurent) et de les mettre en culture dans une autre boîte (repiquage). De repiquage en repiquage, il est possible de conserver des cellules pendant longtemps : mais elles ne sont pas immortelles.

Il est possible de réaliser des cultures à partir d'une seule cellule. Toutes les cellules issues de la multiplication d'une seule cellule constituent un clone : elles possèdent toutes la même patrimoine génétique.

Les *cellules cancéreuses* ont perdu l'inhibition de contact. L'arrêt des divisions et leur mort sont conditionnés uniquement par l'appauvrissement du milieu de culture. Des repiquages successifs les maintiennent en vie : elles sont devenues immortelles. L'examen en contraste de phase des cellules en culture a apporté une contribution considérable à la connaissance du fonctionnement de la cellule.

Ces techniques permettent en effet :

- d'étudier les cellules vivantes (humaines, par exemple) soumises à des conditions variées, de les cinématographier et d'observer leur réaction à des agents chimiques;
- de suivre le déroulement de la mitose, dans les conditions normales ou après application de substances antimitotiques;

- de réaliser des caryotypes, étude des chromosomes à partir de la culture des leucocytes;
- d'observer les cellules cancéreuses et leur comportement;
- de maintenir des virus et de fabriquer des vaccins, etc.

Les cultures cellulaires offrent la possibilité de comprendre le fonctionnement cellulaire et de poursuivre des expérimentations sur du matériel vivant en dehors de l'organisme dont elles sont issues.

Les techniques de microdissection

La microdissection (ou microchirurgie) est une micromanipulation qui consiste à disséquer des organismes microscopiques, des cellules vivantes : c'est la chirurgie de la cellule.

Cette microdissection se fait grâce à des micro-outils (micropipettes, microbis-touris) fabriqués à l'aide de microforges. La main, pour des raisons de précision, ne peut guider ces micro-outils. Il est nécessaire d'employer un micromanipulateur.

La microdissection permet d'enlever un noyau d'une cellule, de l'introduire dans une autre, de couper des cellules en plusieurs fragments, d'injecter des produits dans le cytoplasme, de couper le fuseau mitotique, etc.

Les techniques de microchirurgie utilisent aussi des faisceaux de rayons X ou de rayons laser d'ultraviolets qui provoquent des destructions électives de parties de cellules inaccessibles à la microdissection. L'étude de l'évolution ultérieure des cellules ainsi traitées apporte de nouvelles connaissances sur le fonctionnement de la cellule.

Les techniques d'ultracentrifugation

La centrifugation de broyats cellulaires (fig. 1.16) à des vitesses supérieures à 100 000 tours par minute offre la possibilité d'isoler des particules de densité infime puisque la force centrifuge est comprise entre 100 000 et 500 000 g.

Un tissu est broyé mécaniquement dans une solution de saccharose de façon à donner un homogénat (suspension homogène).

■ La centrifugation zonale

Les divers organites cellulaires se différencient les uns des autres aussi bien par leur taille que par leur densité. Les éléments les plus gros et les plus denses sédimentent plus rapidement que les autres structures.

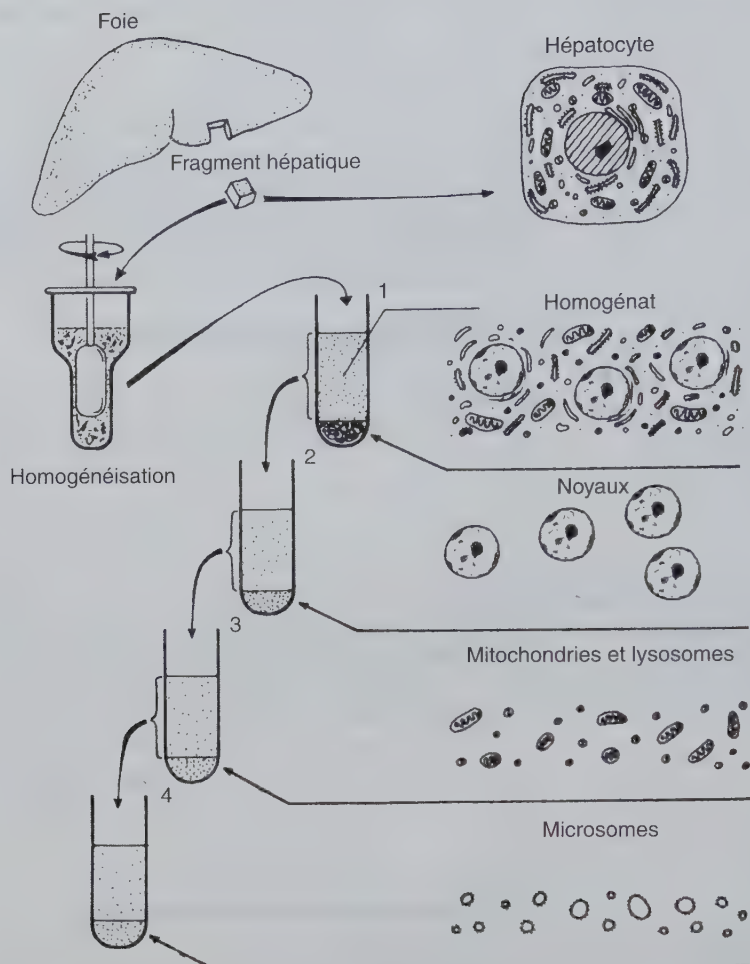
L'homogénat est placé dans une ultracentrifugeuse. Il est soumis à une centrifugation de 600 g pendant 10 minutes. Le culot de centrifugation contient les noyaux cellulaires (ils sont recueillis par remise en suspension) : le surnageant renferme tous les organites de la cellule.

Ce surnageant est isolé, puis centrifugé à 15 000 g pendant 5 minutes : le culot de centrifugation contient les mitochondries, les lysosomes, les peroxysomes.

Le surnageant obtenu est centrifugé à 100 000 g pendant 60 minutes : le culot contient la membrane plasmique, la fraction microsomale (RE fragmenté) et des polyribosomes.

Fig 1.16
Ultracentrifugation différentielle.

1. L'homogénat contient tous les organites et le cytosol.
2. Centrifugation du culot pendant 10 minutes à 750 g. Le culot contient les noyaux et les débris cellulaires.
3. Centrifugation du culot à 10^4 g pendant 20 minutes. Le culot contient les mitochondries et les lysosomes.
4. Centrifugation du culot à 10^5 g pendant 30 heures. Le culot contient les microsomes.



Le surnageant est centrifugé à 300 000 g pendant 2 heures : le culot contient des sous-unités ribosomales et de petits polyribosomes. Le surnageant contient la fraction dite soluble du cytosol.

■ La centrifugation isopycnique

Les fractions obtenues par la centrifugation zonale ne sont pas parfaitement pures. Pour améliorer les résultats, il convient de soumettre ces fractions à une centrifugation isopycnique, c'est-à-dire une centrifugation à l'équilibre en gradient de densité. Une solution de saccharose ou de glycérol est préparée de manière que la concentration la plus élevée se situe au fond et la moins élevée en haut du tube à centrifuger. La fraction à étudier est placée dans ce tube qui est soumis à une centrifugation très élevée ($40\,000$ tours/ min^{-1}) pendant plusieurs heures. Chaque élément contenu dans le tube flotte alors à sa position d'équilibre. Cette position d'équilibre correspond à une zone du tube où la densité du liquide est égale à celle de l'élément concerné.

Le contrôle de pureté se fait en microscopie électronique. Le contrôle de contamination éventuelle s'obtient par une recherche des marqueurs spécifiques de chacun

des organites. Par exemple, la présence de cytochrome c indique une contamination par des fragments de mitochondries.

■ Purification par les techniques immunologiques

Les membranes de chacun des organites portent des molécules protéiques spécifiques. Il est donc possible de purifier les fractions obtenues par ultracentrifugation en utilisant des anticorps spécifiques des protéines membranaires contenues dans ces fractions. Par exemple, des anticorps anti-clathrine sont fixés sur des bactéries : ces anticorps se combinent sélectivement aux molécules de clathrine. Dans une fraction ne contenant que des membranes, seules les membranes des vésicules à clathrine sont capturées.

Les techniques de centrifugation zonale et isopycnique permettent d'isoler des culots purs d'organites en fonction de la vitesse de centrifugation. Elles offrent la possibilité de déterminer avec précision la composition biochimique des constituants cellulaires.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADN _{mt}	ADN mitochondrial
AFM	Atomic Force Microscope; microscope de force atomique
APAAP	Alcalin Phosphatase Anti Alcalin Phosphatase
ARN	Acide RiboNucléique
ARN _m	ARN messenger
ARN _r	ARN ribosomal
ARN _t	ARN de transfert
ATP	Adénosine TriphosPate
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
ECV	Endosomal Carrier Vesicle; vésicule endosomale de transport
Fab	Fragment antigen binding; fragment de liaison aux antigènes
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorter; trieur de cellules par fluorescence (cytométrie en flux)
Fc	Fragment complément ou fragment cristallisable
HRP	HorseRadish Peroxydase; peroxydase du raifort
IF	Intermediary Filament; filament intermédiaire
IHS	<i>In situ</i> Hybridation; hybridation in situ
ME	Microscopie Électronique
MEB	Microscope En Balayage
MET	Microscopie Électronique à Transmission
MF	MicroFilament d'actine
MO	Microscope Optique
MT	MicroTubule
MTOC	MicroTubule Organizing Center; centre organisateur des microtubules

MVB	MultiVesicular Body; corps multivésiculaire
nm	nanomètre
PAP	Peroxydase Anti-Peroxydase
PPLO	<i>PleuroPneumoniæ</i> -Like Organism; organisme ressemblant aux <i>Pleuropneumoniæ</i>
RE	Réticulum Endoplasmique
REG	Réticulum Endoplasmique Granulaire
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
Tm	Température de fusion
UV	UltraViolet

La structure et l'organisation
moléculaire

Les transports perméatifs

Les transports cytotiques

Les spécialisations
morphologiques

Les échanges d'informations

Les adhérences cellulaires

Les jonctions intercellulaires

En 1944, la membrane plasmique était considérée comme « une mince condensation du cytoplasme à la périphérie (...) qui se forme d'une façon quasi automatique par le jeu d'action de surface ». En fait, la membrane plasmique est une structure d'une extrême complexité. La cellule, pour survivre et accomplir ses multiples fonctions, mobilise une part importante de son activité afin d'assurer le maintien de l'organisation membranaire.

Structure et composition biochimique

La membrane plasmique est une enveloppe continue de la cellule, frontière de structure asymétrique entre les milieux intracellulaire et extracellulaire, qui comprend une double couche (bicouche) lipidique, des protéines intramembranaires (intrinsèques), des protéines extramembranaires (extrinsèques), internes (du côté cytosolique) ou externes (sur la face externe de la membrane).

La membrane plasmique se caractérise aussi :

- par une composition chimique variable par la nature des molécules la constituant : la composition biochimique d'une membrane plasmique est en effet adaptée à la fonction de la région cellulaire qu'elle limite; pour la même cellule, cette composition diffère d'un domaine (région) à un autre, mais aussi d'un type cellulaire à un autre; en effet, ces variations constitutives reflètent les différences de fonction de ces membranes; par exemple, la membrane des hématies assure le passage des gaz du sang dans les deux sens, tandis que celle des cellules glandulaires permet l'excrétion des produits de sécrétion;

- par une continuité transitoire avec les membranes du système endomembranaire par l'intermédiaire des vacuoles d'exocytose (le système endomembranaire regroupe le réticulum endoplasmique, l'enveloppe nucléaire, l'appareil de Golgi, les endosomes, les phagosomes, les lysosomes, des vésicules, des canalicules et des vacuoles).

La membrane plasmique agit comme un filtre de très grande sélectivité. Elle contrôle la pénétration des nutriments et l'exportation des déchets. Elle maintient des différences de concentrations ioniques entre les milieux extracellulaire et intracellulaire et intervient dans l'homéostasie du milieu intracellulaire. Elle « perçoit » les modifications de l'environnement cellulaire. Elle capte les signaux externes et modifie son comportement en fonction des informations qu'elle reçoit, afin de s'adapter et de répondre à ces modifications. Elle permet la communication intercellulaire, les phénomènes de reconnaissance entre cellules et, enfin, l'adhérence (ou adhésivité) soit intercellulaire, soit à un substrat.

Organisation générale

La membrane plasmique (fig. 2.1) est constituée par :

- un *double feuillet lipidique*,
- des *protéines*, dont la présence a été mise en évidence par les techniques de cryofracture (freezing-etching),

– un *cell coat*, constitué par un feutrage de fibrilles constituées par des glucides.

En microscopie électronique, la membrane plasmique apparaît comme une structure en triple feuillet : deux feuillets osmiophiles disposés de part et d'autre d'un feuillet osmiophobe. L'épaisseur totale de la membrane plasmique est de 7,5 nm. Elle varie faiblement autour de cette valeur en fonction du type cellulaire et des techniques de préparation.

Fig. 2.1
Membrane plasmique d'un
érythrocyte ($\times 280\,000$).
(Cliché de J.D. ROBERTSON.)



Une telle structure en triple feuillet, mais dépourvue de *cell coat*, limite les organites cellulaires et les diverses vacuoles, à l'exception du centre cellulaire et de diverses enclaves comme les vacuoles lipidiques, le glycogène. Cette similitude se borne à la morphologie, car les cytomembranes diffèrent par leur constitution biochimique (nature des protéines et des lipides) et évidemment par leurs fonctions.

Les hématies : matériel de choix pour l'étude de la membrane plasmique

L'isolement des membranes plasmiques par les techniques d'ultracentrifugation ne permet pas d'en étudier la composition biochimique avec précision à cause de la présence de débris d'organites. L'obtention de culots de centrifugation purs (ne contenant que des membranes plasmiques) à partir de toutes les cellules reste très difficile, à l'exception de l'hématie qui ne contient pas d'organite.

■ Isolement des membranes des hématies

Les hématies (globules rouges ou érythrocytes) placées dans un milieu hypotonique tentent de maintenir un équilibre entre la concentration ionique du milieu extracellulaire et celle du milieu intracellulaire. L'eau pénètre néanmoins dans l'hématie qui se distend, se gonfle, devient sphérique, puis subit l'hémolyse. L'hématie se vide en fabriquant des pores membranaires, dénommés *pores d'hémolyse* (qui apparaissent 20 millisecondes après le dépôt des hématies dans le milieu hypotonique).

Il se forme ainsi des hématies vides, nommées *ghost* (fantôme), dont il ne subsiste que la membrane. Il est alors facile d'en étudier la composition.

■ Composition biochimique

La membrane plasmique des hématies humaines contient :

- 52 % de protéines (la membrane d'enveloppe des organites contient plus de protéines, environ 70 %);
- 40 % de lipides (la membrane des organites n'en contient qu'environ 30 %) : 55 % sont des phospholipides, 25 % du cholestérol, 20 % des glycolipides;
- 8 % de sucres, jamais libres, toujours sous la forme de résidus associés à des lipides (glycolipidiques) ou à des protéines (glycoprotéines ou protéoglycanes).

Les lipides membranaires

Les solvants organiques extraient 50 % des lipides membranaires. 50 % résistent à l'extraction et restent liés de manière covalente aux protéines.

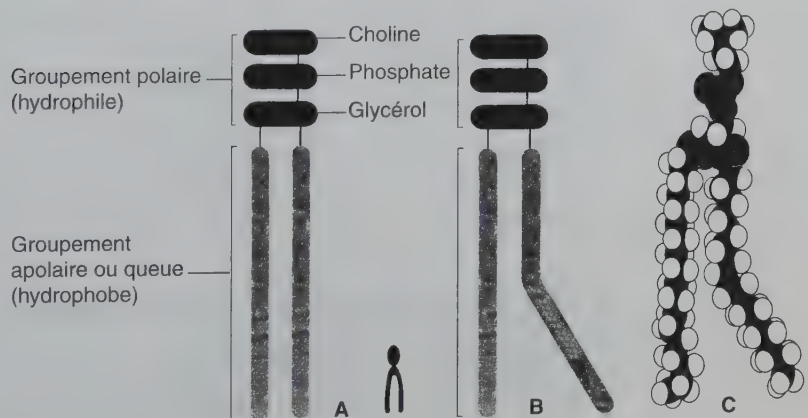
Les principaux lipides membranaires comprennent :

- les phospholipides,
- le cholestérol,
- les sphingolipides qui regroupent des galactolipides, des glycolipides neutres, des gangliosides,
- les glycolipides.

■ Les phospholipides

Ils résultent de l'estérification du glycérol par deux acides gras et par l'acide phosphorique. La tête polaire d'une molécule de phospholipide regroupe une molécule de choline, une de phosphate, une de glycérol : de cette tête polaire émanent deux « queues », chaînes hydrocarbonées (chaînes aliphatiques) saturées ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) ou insaturées ($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$) contenant entre 14 et 24 atomes de carbone (fig. 2.2). Ce sont des molécules amphiphiles : la tête polaire est très hydrophile, la chaîne aliphatique hydrophile. À des degrés divers les autres lipides sont aussi amphiphiles.

Fig. 2.2
Schéma des molécules lipidiques (d'après ALBERTS).
A. Molécule dont les groupements apolaires sont saturés (les deux queues ou chaînes aliphatiques sont rectilignes).
B. Une queue, celle de droite, possède une double liaison (elle est insaturée).
C. Représentation symbolique.



Les phospholipides existent dans la membrane plasmique sous diverses formes, en particulier sous la forme d'acide phosphatidique, de phosphatidylcholine, de phosphatidyléthanolamine, de phosphatidylsérine, etc.

■ Le cholestérol

Le cholestérol possède un groupement polaire et un groupe stéroïde. Il représente presque le quart des lipides membranaires. Les modifications de ses proportions agissent sur la fluidité de la membrane des cellules eucaryotes. La membrane des cellules procaryotes, sauf celle des mycoplasmes, ne contient pas de cholestérol.

■ Les glycolipides

Les glycolipides sont des esters de la sphingosine, ou sphingoglycolipides, qui regroupent les galactolipides, des glycolipides neutres, des gangliosides (glycolipides qui contiennent un acide sialique, l'acide N-acétylneuraminidique) et des galactocérébrosides dont les chaînes glycosylées émergent dans le cell coat.

Glycolipides et antigénicité

Chez les Mammifères, les glycolipides assument une partie de l'antigénicité de surface : les antigènes A, B, H, Lewis et l'antigène tumoral spécifique cytolipine H dépendent de nombreux glycolipides et gangliosides.

Glycolipides récepteurs

Les récepteurs membranaires sont généralement de nature protéique ou glycoprotéique; cependant, certains lipides membranaires jouent le rôle de récepteurs membranaires : il s'agit en général des gangliosides qui fixent certaines toxines bactériennes. Ainsi, le ganglioside monosialylé (GM1) est le récepteur de la toxine cholérique. Certains gangliosides contrôlent l'accès aux récepteurs, par exemple celui de l'hormone thyroïdienne (TSH).

■ La bicouche lipidique

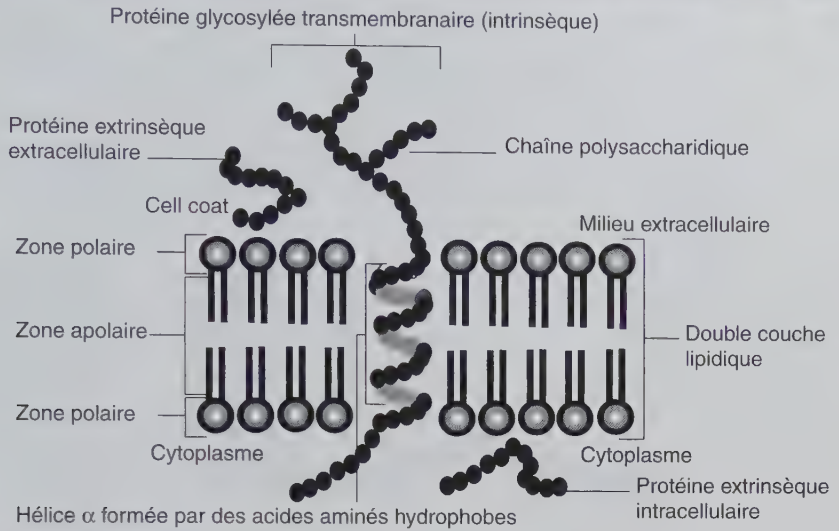
Les molécules lipidiques se disposent en une double couche. Cette double couche est une barrière presque imperméable aux molécules hydrosolubles (fig. 2.3). Les groupes polaires des lipides occupent la face externe (feuillet osmophile externe) et la face interne (feuillet osmophile interne). Les groupes apolaires se situent dans le feuillet médian osmiphobe : leurs chaînes carbonées (chaînes aliphatiques) se dirigent perpendiculairement à la surface des deux feuillets dans l'espace séparant les groupes polaires. Le feuillet osmophile externe, souvent légèrement plus épais que le feuillet interne, indique l'asymétrie de cette membrane plasmique, asymétrie soulignée sur la face externe par le cell coat. Le feuillet interne osmophile entre en rapport avec les éléments périphériques du cytosquelette, le cortex cellulaire, formé en particulier par des microfilaments d'actine. L'épaisseur de chacun des deux feuillets osmophiles atteint 2 nm, tandis que celle du feuillet osmiphobe (médian, clair) mesure 3,5 nm.

■ Propriétés des lipides membranaires

L'asymétrie de la bicouche lipidique

La répartition des lipides entre les deux feuillets est asymétrique. Les sphingolipides, les phosphatidylcholines et les glycolipides sont plus abondants dans le

Fig. 2.3
Organisation moléculaire de
la membrane plasmique.

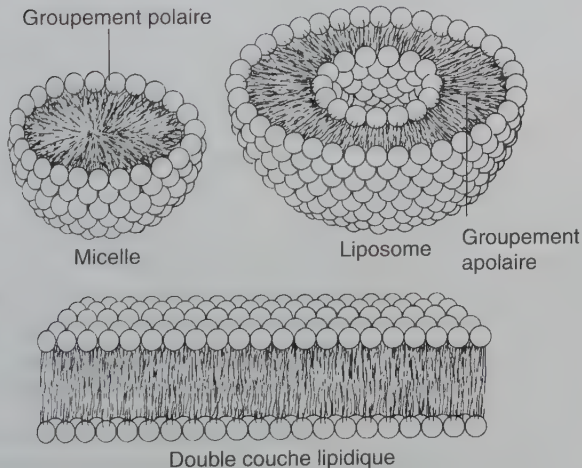


feuillet externe de la bicouche, les phosphatidyléthanolamines, la phosphatidylsérine dans le feuillet interne. Les molécules responsables du maintien de cette asymétrie sont inconnues. Cette asymétrie est fondamentale et sous-tend de nombreux processus : par exemple, la *protéine kinase C* utilise les phospholipides pour transformer les informations extracellulaires en signaux intracellulaires.

Micelles et liposomes

Les lipides forment spontanément des couches mono- ou bimoléculaires. Les lipides en suspension aqueuse s'organisent afin de limiter des sphères, les *micelles* : leurs groupes polaires sont au contact de l'eau et les queues se dirigent vers le centre. Ils se disposent le plus souvent en une double couche qui limite généralement des vésicules sphériques dénommées *liposomes* (fig. 2.4).

Fig. 2.4
Sections transversales des
trois types de structure que
peuvent former des phospho-
lipides en solution aqueuse
(d'après DARNELL).



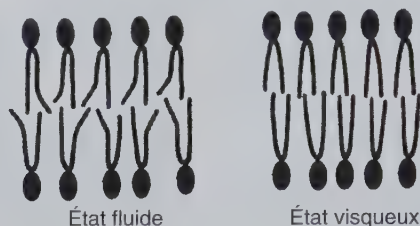
Lipides et fluidité membranaire

La fluidité de la membrane plasmique dépend de l'insaturation des phospholipides, de la quantité de cholestérol et de la température.

L'insaturation des chaînes hydrocarbonées augmente la fluidité de la double couche lipidique. La saturation des chaînes hydrocarbonées la rend visqueuse. La quantité de doubles liaisons détermine donc le degré de fluidité de la membrane (fig. 2.5).

Fig. 2.5

Fluidité de la double couche lipidique en fonction de la saturation des chaînes aliphatiques. À gauche, les chaînes hydrocarbonées sont insaturées (liaisons *cis*), à droite, elles sont saturées.



Cholestérol et stabilité membranaire

Le cholestérol renforce la solidité de la membrane : cette molécule possède un groupement polaire hydrophile et un noyau stéroïde hydrophobe. Le groupement polaire se place entre les groupements polaires des autres molécules lipidiques. Le noyau stéroïde s'intercale dans la zone des chaînes aliphatiques : il immobilise partiellement les chaînes voisines et rend la membrane plus rigide.

Dans la membrane plasmique des cellules eucaryotes, il existe une molécule de cholestérol pour une molécule de phospholipide. D'éventuelles variations de ces proportions modifient la fluidité de la membrane (fig. 2.6).

Fig. 2.6

Le cholestérol dans un feuillet lipidique de la membrane (d'après ALBERTS). La molécule de cholestérol s'intercale entre les chaînes hydrocarbonées. Ces molécules jouent un rôle mécanique en renforçant la « solidité » de la membrane.



Certaines lignées cellulaires cultivées ne synthétisent pas de cholestérol : les cellules possèdent alors une membrane très fragile. Elles subissent rapidement une lyse. L'ajout, dans le milieu de culture, de molécules de cholestérol inhibe cette cytolyse.

Effet de la température sur la fluidité

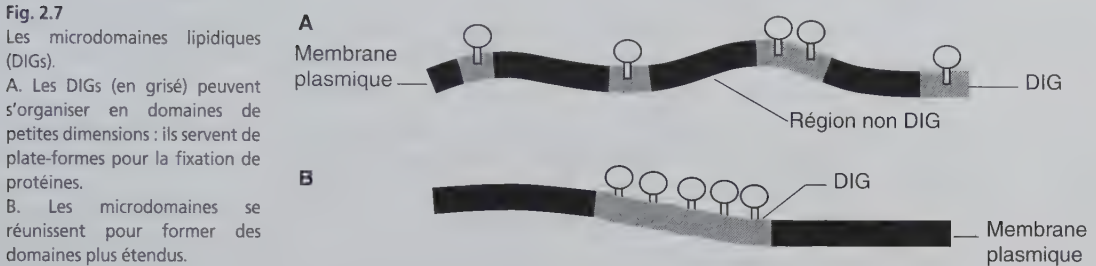
Une baisse de la température provoque la synthèse de lipides membranaires insaturés, induisant ainsi une augmentation de la fluidité de la membrane plasmique.

■ Les microdomaines lipidiques

Dans le modèle en mosaïque, la double couche lipidique est un fluide bidimensionnel dans lequel les lipides et les protéines diffusent librement. Dans un tel

modèle, les deux types de molécules devraient se distribuer au hasard dans la membrane : ce qui est faux. En fait, il existe une *régionalisation* à la fois latérale et transversale des membranes. Elles sont constituées par des *micro-* et des *macro-domaines*, comprenant les deux feuillettes de la bicouche lipidique.

La membrane plasmique est une *mosaïque de microdomaines lipidiques* dénommés DIGs (detergent-insoluble glycolipid-enriched domains; domaines enrichis en glycolipides insolubles dans les détergents) formés de lipides en phase de gel (fig. 2.7). Des régions non DIGs (formées de lipides en phase fluide) les séparent. La cohésion des DIGs est contrebalancée par la dispersion qui dépend de l'entropie. Il s'agit donc d'un système en équilibre. La taille de ces domaines varie : ils peuvent se dissocier ou fusionner les uns avec les autres.



Interactions différentielles entre les lipides

Les sphingolipides et le cholestérol s'associent latéralement en microdomaines très denses dans un environnement plus fluide constitué principalement par des molécules de phosphatidylcholine (PC).

Cette ségrégation des sphingolipides en DIGs est due :

- à la force de cohésion latérale, plus forte pour les sphingolipides que pour les autres lipides : cette cohésion est la conséquence des forces de van der Waals et des liaisons hydrogène entre les sucres et entre les molécules de sphingosine des divers sphingolipides ;
- au mode d'interaction des molécules de cholestérol. Les interactions du cholestérol avec les lipides dépendent surtout de celles qui sont développées entre le noyau stérol et la chaîne aliphatique. Cette interaction est plus forte si la chaîne aliphatique n'est pas saturée. Il existe ainsi deux groupes (pools) de cholestérol dans la membrane cellulaire : l'un est associé aux radeaux, l'autre est situé dans les régions fluides constituées par la phosphatidylcholine.

Rôle des microdomaines

Les DIGs servent de plate-formes pour la fixation de protéines membranaires.

Ces protéines comprennent les protéines ancrées par GPI (glycosylphosphatidylinositol), les enzymes digestives apicales des entérocytes, l'hémagglutinine et la neuraminidase du virus de la grippe, la sous-unité γ des protéines G hétérotrimériques. Les DIGs interviennent dans l'expression des gènes, dans l'activation de certaines enzymes (protéine kinase C) ainsi que dans la biogenèse de la membrane et dans la division cellulaire.

L'annexine II relie le cytosquelette cortical aux DIGs, jouant ainsi un rôle de stabilisateur.

La double couche lipidique est constituée par des phospholipides, du cholestérol et des sphingolipides. La répartition asymétrique des lipides est nécessaire à certaines fonctions de la membrane plasmique comme la transformation des informations en signaux intracellulaires. L'insaturation des chaînes aliphatiques, la concentration en cholestérol, la température contrôlent la fluidité de la membrane plasmique. Les lipides et plus particulièrement les sphingolipides s'associent en microdomaines lipidiques, les DIGs (ou rafts) qui fixent les protéines membranaires.

Les protéines membranaires

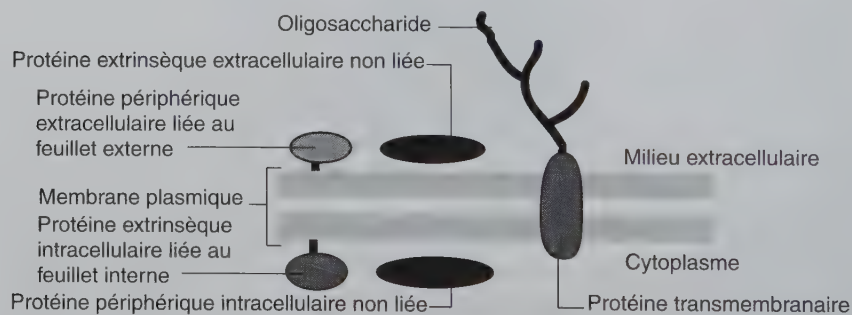
Moins nombreuses que les lipides (100 lipides pour 1 protéine), les molécules protéiques sont 30 à 50 fois plus volumineuses que les lipides. Les protéines modifient la tension superficielle de la bicouche lipidique. La tension superficielle de la membrane plasmique est de 0,2 à 3 dynes/cm² : en l'absence de protéines, elle serait de 15 dynes/cm².

Le PM des protéines est compris en général entre 20 et 215 kDa. Les protéines représentent 50 % de la masse de la membrane.

■ Les protéines intrinsèques

La double couche lipidique contient des protéines membranaires intrinsèques. Ces protéines transmembranaires (environ 70 % des protéines membranaires) (fig. 2.8) sont fortement liées à la membrane. Elles occupent la totalité ou une partie de l'épaisseur de la membrane. Leur extraction nécessite des traitements drastiques par des détergents, des sels biliaires ou des solvants organiques. Ces protéines se caractérisent par leur *amphipathie* : elles possèdent deux pôles *hydrophiles*, en contact l'un avec la phase aqueuse extracellulaire, l'autre avec la phase aqueuse cytoplasmique, et une partie moyenne *hydrophobe* plongée dans la couche lipidique.

Fig. 2.8
Protéines intrinsèques et extrinsèques.

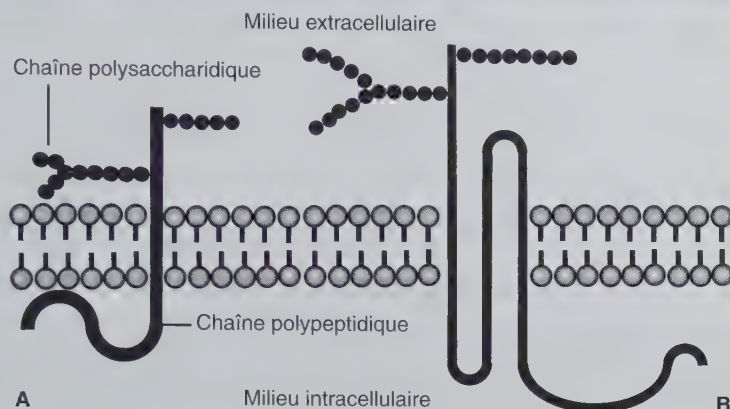


Les protéines transmembranaires (intrinsèques) traversent la membrane (fig. 2.9) soit une seule fois (*protéines à traversée unique, single pass* ou *bitopique*), soit plusieurs fois (*protéines à traversées multiples* ou *polytopiques*).

Elles possèdent une *extrémité amino-terminale* (NH₂) et une *extrémité carboxy-terminale* (COOH). Chacune de ces extrémités est située soit dans le cytoplasme, soit dans le milieu extracellulaire. Il n'existe pas de pôle mais deux *extrémités hydrophiles*. Les protéines transmembranaires, dont l'extrémité amino-terminale est située dans le cytoplasme, sont des *protéines de type I* : sinon, elles appartiennent au *type II*. Des

Fig. 2.9
Protéines intramembranaires.
Ces protéines possèdent 3 domaines, un domaine intracellulaire ou cytoplasmique, un domaine transmembranaire et un domaine extracellulaire.

A. Protéines à simple passage.
B. Protéines à passages multiples.



zones tantôt hydrophiles, tantôt hydrophobes (en fonction de la nature des acides aminés qui les constituent) alternent tout au long de la protéine.

La ou les parties intramembranaires sont hydrophobes : elles décrivent une *hélice α* , limitée au (ou aux) domaine(s) intramembranaire(s), qui interagit avec les queues des molécules lipidiques. Les parties extramembranaires, c'est-à-dire les boucles qui unissent les hélices α , sont constituées par des acides aminés polaires.

Au sein de la membrane, la majorité des protéines (environ 70 %) se lie aux phospholipides hydrophobes et le reste à d'autres molécules. L'extrémité extramembranaire en contact avec le milieu extracellulaire est presque toujours glycosylée.

Quelques rares protéines intrinsèques sont des protéines monotopiques. Les protéines *monotopiques* sont des protéines dont une seule face émerge de la bicouche. Elles sont rares (le cytochrome b_5 serait une protéine monotopique).

Les protéines à traversée unique

Les protéines à traversée unique sont classées dans le groupe des protéines *bitopiques* (fig. 2.9A). L'étude de la structure de la membrane des hématies révèle la présence d'une telle protéine, la *glycophorine*, petite protéine qui leur est spécifique. Les protéines transmembranaires à traversée unique agissent en général comme des récepteurs catalytiques (famille des récepteurs à activité tyrosine kinase comme le récepteur du facteur de croissance épidermique, par exemple).

Les protéines à traversées multiples

Les protéines à traversées multiples traversent plusieurs fois la double couche lipidique, en constituant à chaque traversée une *hélice α* régulière (fig. 2.9B). Ce sont des protéines *polytopiques*.

Ainsi la protéine *bande 3*, un canal ionique de 930 acides aminés, traverse une dizaine de fois la double couche lipidique. Elle a été isolée par électrophorèse à partir des membranes plasmiques d'hématies : elle intervient dans le transport de l'oxygène aux tissus et du gaz carbonique vers les poumons. D'autres canaux ioniques, certains récepteurs (récepteur de l'épinéphrine, de la particule de reconnaissance du signal du RE, etc.) appartiennent également à cette classe de protéines.

Mode d'ancrage des protéines intrinsèques

Pour la majorité des protéines, des liaisons non covalentes, de forte énergie, les lient aux lipides par l'intermédiaire d'un domaine riche en aminoacides hydrophobes comme la leucine, la phénylalanine, le tryptophane, la valine, etc. Seuls des

solvants organiques des lipides ou des détergents peuvent les extraire. La synthèse asymétrique dans le réticulum endoplasmique et l'insertion dans la double couche lipidique prédéterminent leur orientation.

La région intramembranaire de la molécule liée aux lipides s'organise en hélice α . Cette disposition permet aux fonctions CO et NH des peptides de former des liaisons hydrogènes les unes avec les autres, neutralisant ainsi le caractère polaire des liaisons peptides.

■ Les protéines extrinsèques ou périphériques

Ces protéines sont entièrement localisées en dehors de la bicouche lipidique, soit sur la face cytosolique, soit sur la face externe de la membrane plasmique. La liaison de ces protéines à la double couche lipidique n'est jamais une liaison covalente. Elles sont donc liées à la double couche lipidique par des liaisons plus faibles que celles qui associent les protéines transmembranaires à la bicouche. Il s'agit de liaisons électrostatiques unissant ces protéines soit au groupement polaire des lipides, soit aux régions hydrophiles de protéines intramembranaires qui émergent de la bicouche.

Certaines protéines situées en dehors de la bicouche sont *ancrées dans les lipides* par des liaisons covalentes qui les unissent à une molécule de lipide :

- les protéines localisées sur la face externe ou interne de la membrane plasmique s'ancrent par l'intermédiaire de GPI (glycophosphatidylinositol). Cet ancrage s'effectue toujours sur le feuillet lipidique externe par une liaison covalente. Une action enzymatique libère facilement ces protéines. Un tel mode de liaison intéresse, par exemple, gp120 (glycoprotéine de 120 kDa), une glycoprotéine N-CAM (neural-cell adhesion molecule; molécule d'adhésion des cellules nerveuses). Ces glycoprotéines se rencontrent surtout dans les zones de la membrane plasmique impliquées dans la *potocytose*;

- les protéines situées sur la face cytosolique s'ancrent par l'intermédiaire de longues chaînes hydrocarbonées qui s'encastrent dans le feuillet interne de la bicouche. C'est le cas de la tyrosine kinase Src (sarcoma Rous virus; virus du sarcome de Rous), homologue cellulaire de l'oncogène du virus du sarcome de Rous, et de la petite protéine G Ras (rat sarcoma; sarcome du rat) qui sont impliquées dans la transformation d'une cellule en cellule néoplasique (cancéreuse).

Les protéines périphériques de la face interne (intracellulaire) sont exceptionnellement glycosylées.

■ Fonctions des protéines membranaires

Les molécules protéiques, isolées les unes des autres, baignent dans la double couche lipidique. Elles interviennent, en fonction de leur nature, dans :

- la spécificité et la diversité des membranes : elles varient considérablement d'un type cellulaire à l'autre;

- le transport transmembranaire des substances nécessaires à la croissance et aux remplacements des structures cellulaires;

- la réception d'informations : les protéines membranaires sont alors des récepteurs capables de réagir soit à des molécules informatives (par exemple les hormones), soit à des stimuli physicochimiques; les récepteurs convertissent ces signaux afin que la cellule puisse les interpréter;

- les mécanismes de reconnaissance cellulaire; certaines d'entre elles possèdent une activité antigénique : les glycoprotéines sont le support des antigènes M, N et des antigènes d'histocompatibilité;

- l'inhibition de contact : elle se traduit par une inhibition des mouvements des membranes qui sont en contact l'une avec l'autre, mais aussi par un arrêt de la prolifération;
- l'adhérence entre cellules ou sur un support conjonctif ou autre;
- des activités enzymatiques diverses;
- des liaisons structurales qui unissent le cytosquelette à la membrane plasmique;
- la fixation de substances médicamenteuses;
- la fixation de virus, de toxines ou de cellules.

Les molécules protéiques de la membrane plasmique sont approximativement cent fois moins nombreuses que les molécules lipidiques. Elles traversent la membrane une ou plusieurs fois. Leur extrémité amino-terminale peut être cytoplasmique (type I) ou extracellulaire (type II). La plupart des protéines transmembranaires s'ancrent sur les lipides par des liaisons non covalentes de fortes énergies. Les protéines périphériques ne se lient jamais d'une manière covalente aux lipides. Par contre les protéines situées en dehors de la membrane plasmique mais ancrées dans la bicouche se lient à un lipide par des liaisons covalentes (par l'intermédiaire de GPI sur la face externe, d'une chaîne hydrocarbonée sur la face cytosolique). Les protéines membranaires interviennent dans le passage de substances, la reconnaissance cellulaire, l'inhibition de contact, l'adhésion des cellules, etc.

Le cell coat

■ Définition

Le cell coat est un feutrage fibrillaire (fig. 2.10) qui constitue la partie la plus externe de la membrane cellulaire. Il est composé par les *affleurements oligosaccharidiques* des glycoprotéines, des protéoglycanes, des glycolipides (les chaînes oligosaccharidiques sont liées de façon covalente aux protéines et aux lipides) et par des *glycoprotéines extrinsèques* (extracellulaires), faiblement liées aux précédentes (fibronectine, laminine) (fig. 2.11).

Il est constitué par des fibrilles d'un diamètre de 1 nm qui se disposent perpendiculairement à la surface de la membrane. Son épaisseur varie en fonction de la cellule : faible pour l'hématie, elle atteint 200 nm pour l'entérocyte.

Fig. 2.10
Structure du cell coat.

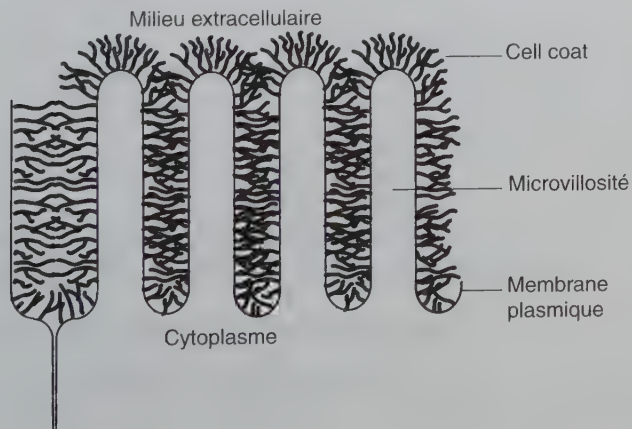
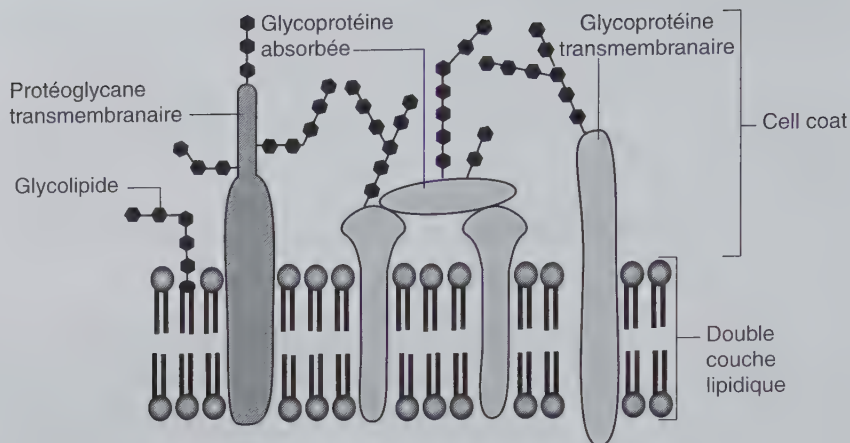


Fig. 2.11
Organisation du cell coat.



Le cell coat revêt le même aspect sur les microvillosités des entérocytes, sur les cellules épithéliales de l'épididyme, les tubes proximaux du rein, les cellules à pôle muqueux fermé de l'épithélium gastrique, etc.

Le maintien des activités physiologiques vitales de la cellule dépend de l'intégrité du cell coat.

■ Les chaînes glucidiques du cell coat

Les glucides membranaires du cell coat existent :

- sous forme de chaînes oligosaccharidiques et polysaccharidiques liées de façon covalente aux protéines membranaires,
- ou sous forme de chaînes oligosaccharidiques liées de façon covalente aux lipides (glycolipides).

Ces glucides représentent 2 à 10 % de la masse totale de la membrane. Ils se distribuent sur la face externe de la membrane plasmique.

■ Un exemple de glycoprotéines transmembranaires : les glycophorines A, B, C

Les glycophorines n'existent que dans la membrane plasmique des hématies. Ce sont des glycoprotéines à passage unique (single pass protein), dont les gènes ont été clonés et séquencés. Elles se déploient sur la face externe de la membrane plasmique. Elles comprennent 16 chaînes oligosaccharidiques qui représentent 60 % de leur poids. Ces 16 chaînes constituent le domaine hydrophile, amino-terminal, extracellulaire, qui porte une centaine de résidus glucidiques. Le segment hydrophobe, en hélice α , long d'une vingtaine d'acides aminés, s'insère dans la couche lipidique.

La glycophorine C forme un complexe avec une autre protéine de la membrane érythrocytaire, la protéine 4.1. Ce complexe intervient dans la stabilité et les propriétés mécaniques de la membrane plasmique. La glycophorine C joue également un rôle de récepteur : elle est le récepteur du virus de la grippe.

■ Les glycoprotéines membranaires extrinsèques

Des glycoprotéines membranaires extrinsèques jouent un rôle dans l'adhérence des cellules.

La fibronectine

Cette molécule, isolée à partir des fibroblastes, existe aussi dans le plasma (elle joue un rôle dans la cicatrisation, la phagocytose et la coagulation) et dans la matrice extracellulaire (elle constitue des fibrilles). Cette molécule dimère, élaborée par la plupart des cellules, assure l'adhérence des cellules avec la matrice. La fibronectine se lie aux molécules d'*intégrine* de la membrane plasmique (elle en est le ligand) et avec les éléments de la matrice. Elle a un rôle important dans l'adhérence de la cellule sur le substrat.

Les molécules de fibronectine marquées par des substances fluorescentes sont très facilement visibles à la surface des cellules normales. Dans de nombreux types de cellules tumorales par contre, la fluorescence s'éteint. Les cellules cancéreuses ne retiennent plus la fibronectine à leur surface. Les cellules deviennent libres et indépendantes dans le conjonctif.

La laminine

Cette glycoprotéine spécifique des cellules épithéliales joue un rôle équivalent à celui de la fibronectine. Elle possède plusieurs domaines de reconnaissance qui la lient à l'intégrine et à la membrane plasmique.

■ Fonctions du cell coat

Les fonctions du cell coat dépendent de ses constituants glycosylés.

Protection de la membrane plasmique

Le cell coat assure une protection chimique de la membrane plasmique, grâce à sa résistance aux enzymes mucolytiques et protéolytiques (la hyaluronidase et la neuraminidase sont seules capables de le lyser), et aussi une protection mécanique. Il préviendrait les ruptures de la membrane apicale des cellules, en évitant tout contact avec les très grosses molécules.

Charge de surface

La charge de surface des cellules est négative comme le montre leur migration électrophorétique : elles se déplacent vers l'anode. L'acide sialique en est le principal responsable car il est particulièrement riche en charges négatives : la neuraminidase, qui lyse l'acide sialique, diminue la vitesse de migration de 80 %.

Fonction de piégeage

Le cell coat, grâce à sa structure et à ses très nombreuses charges négatives, piège des cations (calcium, magnésium, potassium) et un certain nombre de molécules.

Par exemple, *in vitro*, la membrane des érythrocytes absorbe et fixe des lipopolysaccharides, la *cardiolipine*. L'absorption de cardiolipine par le cell coat était la base de plusieurs tests sérologiques pour le diagnostic de la syphilis.

In vivo, le cell coat absorbe ou fixe, par exemple :

- les anticorps cytophiles (opsonisation) qui modifient la phagocytose,
- l'antigène soluble de Gross qui se lie aux lymphocytes normaux.

Activités enzymatiques

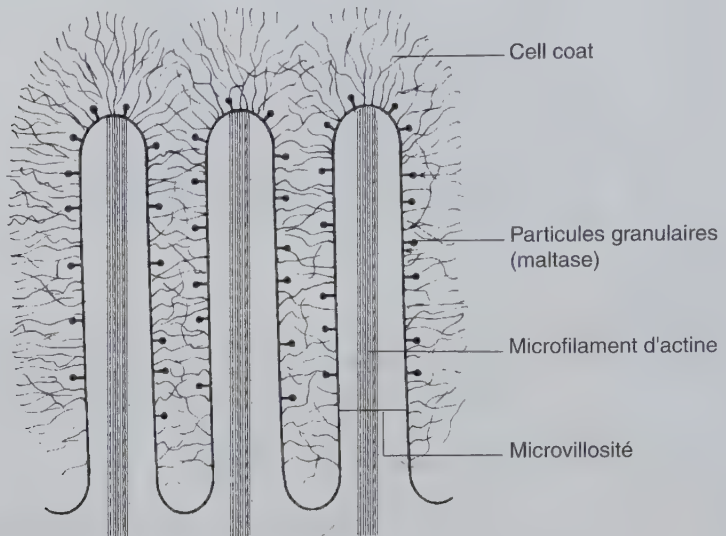
Le cell coat peut avoir une activité enzymatique. Celui des cellules intestinales, des myocytes cardiaques et des hépatocytes renferme des unités globulaires d'un

diamètre de 5 à 6 nm, attachées à la membrane plasmique par une courte constriction de 2 nm de diamètre. Ces unités globulaires contiennent :

- de la leucoaminopeptidase pour les hépatocytes,
- de la maltase pour les cellules intestinales (fig. 2.12).

Fig. 2.12

Cell coat d'une cellule intestinale. Il contient des particules globulaires de 5 nm de diamètre, reliées à la membrane plasmique par une tige de 2 nm de diamètre. La particule contient de la maltase.



Cell coat et adhésion cellulaire

Le cell coat intervient dans l'adhérence cellulaire. Voir « Membrane plasmique et adhérence cellulaire ».

Les mouvements des lipides et des protéines

La structure et l'organisation moléculaire de la membrane rendent bien compte de cette propriété essentielle, la fluidité modulable du revêtement extérieur de la cellule. Cette fluidité contrôlée permet de comprendre les déplacements des lipides, isolément ou par groupes (DIGs ou rafts), et des protéines à l'intérieur de compartiments membranaires.

Modes de déplacement des lipides

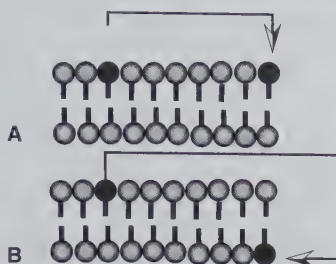
Les lipides peuvent se déplacer latéralement ou d'une couche à une autre.

■ Vitesse

Les phospholipides peuvent se déplacer latéralement, c'est-à-dire dans le même plan (*diffusion latérale*). Le mouvement est alors rapide (1 μm par seconde): La vitesse de déplacement des molécules lipidiques (en particulier celle des phospholipides) dans la membrane plasmique dépend de la longueur des chaînes aliphatiques (vitesse rapide dans le cas de chaînes courtes et insaturées) et du sens de déplacement de la molécule.

Fig. 2.13

Mouvements des lipides dans la double couche lipidique.
A. Mouvement latéral.
B. Mouvement de flip-flop (ou de bascule).



Ils peuvent aussi se déplacer d'une couche à une autre (mouvement de *flip-flop* ou de *bascule*) (fig. 2.13). Ce mouvement très lent est rare. Une molécule de phospholipide met 100 fois plus de temps dans un mouvement de flip-flop que dans un déplacement latéral d'une distance équivalente. Il dépend de protéines spécialisées, les *flippases*, et de la libération d'énergie.

Enfin, les lipides peuvent subir des mouvements de *rotation* par rapport à leur axe longitudinal.

■ Flexibilité des lipides

La flexibilité des molécules lipidiques non saturées est due à la rigidité moindre des doubles liaisons. La fluidité de la membrane augmente donc en fonction du degré d'insaturation des lipides. Rappelons que cette fluidité dépend aussi de la quantité de cholestérol intramembranaire : son augmentation provoque un accroissement de la rigidité membranaire.

Modes de déplacement des protéines

Les protéines se déplacent dans la double couche lipidique.

■ Mise en évidence expérimentale

La mobilité latérale des protéines peut être étudiée :

- par fixation d'anticorps fluorescents sur les protéines antigéniques de la membrane;
- par la technique de récupération de la fluorescence après photodécoloration (FRAP : fluorescence recovery after photobleaching); l'application d'un faisceau laser sur la membrane décolore irréversiblement une zone constituée par 100 à 1 000 fluorophores (protéines marquées par une molécule fluorescente); ce champ membranaire redevient fluorescent grâce à la migration latérale des fluorophores; la mobilité moyenne de ces molécules dans la membrane est mesurée; la vitesse de récupération de la fluorescence observée avec une lumière moins intense donne des informations sur le coefficient de diffusion latérale et le nombre de molécules capables de se mouvoir pendant la durée de l'expérimentation;
- par la technique SPT (single particle tracking; suivi d'une seule particule) qui permet de suivre le mouvement de l'or colloïdal ou de particules fluorescentes liées spécifiquement à une seule ou plusieurs molécules de la membrane; ces particules sont suivies, pendant une période déterminée, par microscopie à image digitalisée et fournissent des informations sur l'environnement membranaire local à l'échelon inframicroscopique; une telle technique permet en plus d'observer les mouvements

browniens moléculaires, les mouvements dirigés et les mouvements limités à un compartiment (diffusion limitée ou enfermée);

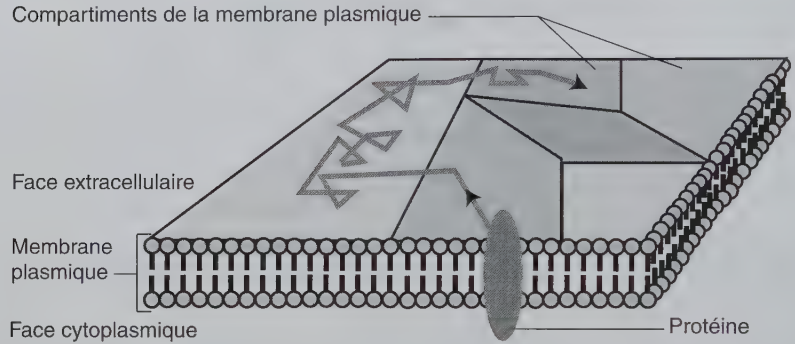
– en déplaçant les protéines marquées à l'aide de rayons laser; des particules d'or colloïdal attachées aux molécules membranaires permettent non seulement de marquer les protéines, mais aussi de les déplacer en utilisant des rayons laser (pinces laser ou pinces optiques).

■ Notion de compartiment

La membrane plasmique est divisée en de nombreux compartiments de 0,1 à 1 μm^2 . Les protéines transmembranaires se déplacent librement à l'intérieur du même compartiment (fig. 2.14) : leurs mouvements de déplacement sont ralentis uniquement par la présence d'autres molécules protéiques. Elles séjournent en moyenne 25 secondes dans un compartiment. Les molécules se déplacent d'un compartiment à l'autre avec la fréquence de 0,01 s^{-1} (2,4 sauts par minute) : la diffusion sur une longue distance est le résultat de déplacements dans les compartiments et de compartiment à compartiment. La vitesse de diffusion est déterminée par la taille des compartiments et la fréquence des sauts entre les compartiments.

Fig. 2.14

Déplacement des protéines membranaires. Les protéines se déplacent facilement dans des compartiments de la membrane plasmique.



■ Un exemple : les immunoglobulines des lymphocytes

Les immunoglobulines des lymphocytes se déplacent lorsqu'ils deviennent actifs.

Répartition des glycoprotéines du lymphocyte inactif

Les glycoprotéines de la membrane plasmique, qui possèdent une activité antigénique, sont colorées par fixation d'anticorps marqués par une substance fluorescente. Les glycoprotéines de lymphocytes exposés au froid, ou métaboliquement et fonctionnellement inactifs, se répartissent par groupes dispersés à la surface de la membrane.

Migration des glycoprotéines du lymphocyte activé

À 37°C, les lymphocytes deviennent actifs : ils se déplacent. La cellule se déforme : elle possède un pôle antérieur sphérique et un pôle postérieur effilé. Les groupes antigéniques migrent vers le pôle postérieur de la cellule, fusionnent en une seule zone, formant une sorte de coiffe (le *capping* des Anglo-Saxons) (fig. 2.15). Les molécules non marquées partent du pôle postérieur et cheminent à contre-courant. Un quart d'heure après la formation de la coiffe, la membrane plasmique s'interna-

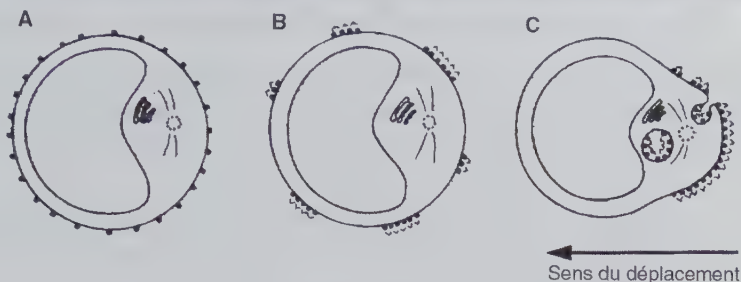
Fig. 2.15

Distribution des immunoglobulines à la surface d'un lymphocyte.

A. Distribution normale.

B. Distribution par zones (cellule exposée au froid ou inactive).

C. Formation de la coiffe au cours de la migration de la cellule (la flèche indique la direction du déplacement de la cellule).



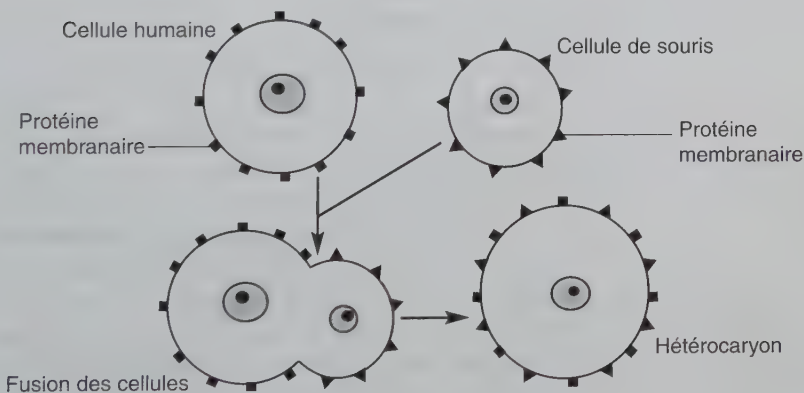
lise par endocytose, la substance fluorescente disparaît de la surface cellulaire et se retrouve dans la paroi des vacuoles d'endocytose. La formation de la coiffe ne dépend pas de la synthèse protéique. Elle dépend du cytosquelette, en particulier des microfilaments d'actine, et consomme de l'énergie. L'inhibition du fonctionnement des mitochondries par des poisons métaboliques ou par le froid bloque ce déplacement latéral des protéines.

■ Expérience des hétérocaryons

Des cellules humaines et des cellules de Souris, placées dans un même milieu de culture en présence de polyéthylèneglycol ou du virus Sendai, fusionnent pour constituer des hétérocaryons (fig. 2.16). L'emploi d'anticorps fluorescents, verts pour marquer les protéines de Souris et rouges pour celles de l'Homme, démontre que, dans l'hétérocaryon nouvellement formé, les points fluorescents verts ou rouges se répartissent sur la totalité de la surface cellulaire. Cette expérience prouve que les protéines membranaires peuvent se déplacer sur des distances relativement importantes.

Fig. 2.16

Mobilité des protéines. Dans un hétérocaryon, les protéines membranaires humaines et de Souris diffusent. Leur répartition n'est plus restreinte à leur membrane d'origine.



■ Mouvements de rotation

Comme les lipides, les protéines intrinsèques peuvent effectuer des mouvements de rotation. Par contre, les mouvements de flip-flop n'existent pas.

■ Limitation et régulation des mouvements des protéines

Le déplacement des protéines est limité par de nombreux facteurs.

Contrôle des mouvements dirigés

Le transport dirigé des protéines membranaires est contrôlé.

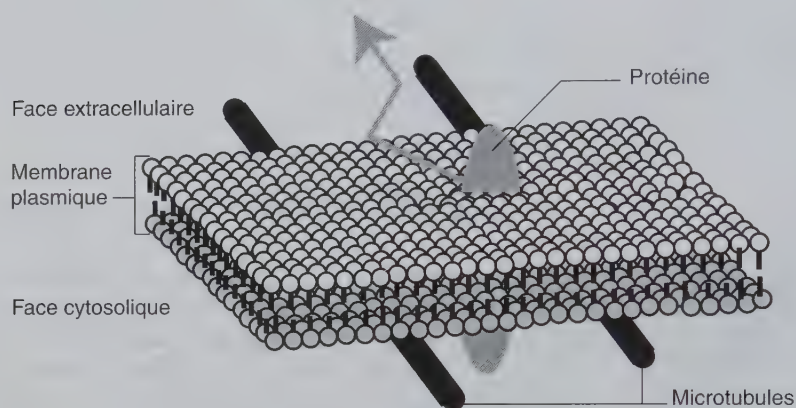
Au cours du *capping*, de volumineux agrégats de protéines membranaires regroupées par les anticorps se déplacent vers l'arrière de la cellule, grâce au flux cortical provoqué par le cytosquelette.

Pendant certains déplacements, les protéines motrices associées aux MTs se lient aux protéines membranaires et les transportent vers des régions sélectionnées de la cellule.

Dans la diffusion canalisée (fig. 2.17), les protéines se déplacent entre deux microfilaments du cytosquelette ou parfois entre deux microtubules.

Fig. 2.17

Diffusion canalisée des protéines membranaires entre deux MTs.



Rôle du cytosquelette

La liaison des protéines avec le cytosquelette limite la mobilité des protéines. Le cytosquelette se lie aux protéines intrinsèques par l'intermédiaire des protéines extrinsèques de la face cytoplasmique. Dans la membrane plasmique des érythrocytes, la spectrine s'ancree sur une protéine intrinsèque, la *glycoprotéine bande 3* (ou canal ionique bande 3), par l'intermédiaire de protéines d'association au cytosquelette (ankyrine, protéine 4.1), et en limite la mobilité. Il en est de même pour les récepteurs de la transferrine et de l'EGF, l' α_2 -macroglobuline, la cadhérine E, la cadhérine T, etc. Certaines protéines ainsi liées ne se déplacent pas, tandis que certaines sont animées de mouvements d'oscillations et que d'autres peuvent se déplacer sur de longues distances.

Rôle de la matrice extracellulaire

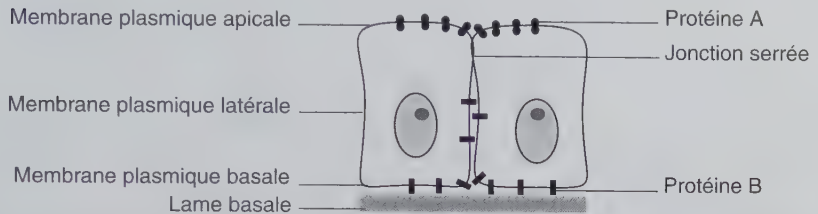
La matrice extracellulaire peut limiter la mobilité des protéines : les protéines intramembranaires du type SAM (substrate adhesion molecule; molécule d'adhésion au substrat), par exemple, ne peuvent plus se déplacer lorsqu'elles interagissent avec la matrice extracellulaire. Il en est de même pour les molécules de type CAM (cell adhesion molecule; molécule d'adhésion cellulaire) qui interagissent avec des molécules portées par la membrane d'une cellule voisine (jonctions intercellulaires par exemple).

Effet des jonctions serrées

Dans les cellules polarisées, comme les entérocytes, les déplacements latéraux des protéines de la membrane plasmique apicale s'arrêtent au niveau des jonctions serrées (tight junctions ou jonctions étanches) qui unissent les pôles apicaux des entérocytes (fig. 2.18). Il en est de même pour les lipides.

Fig. 2.18

Limitation de la diffusion latérale de protéines membranaires dans les cellules épithéliales. La jonction serrée empêche les protéines A de passer dans la membrane plasmique latérale et basale.



Les protéines antigéniques d'un lymphocyte actif se regroupent à l'arrière de la cellule. Après fusion de deux cellules d'origine différente, les protéines membranaires se distribuent dans l'ensemble de la membrane de l'hétérocaryon. Le cytosquelette et la matrice extracellulaire limitent la mobilité des protéines. Les protéines se déplacent facilement dans des compartiments. Elles peuvent passer d'un compartiment à un autre. Elles sont guidées par le cytosquelette cortical. Les jonctions serrées arrêtent leur migration.

Les transports perméatifs

Les transports perméatifs sont des transports transmembranaires qui n'impliquent pas de modifications morphologiques (visibles en microscopie électronique) de la membrane plasmique. Ils se déroulent sans intervention du cytosquelette. Ils concernent les molécules non polaires de faible poids moléculaire ou des molécules dont le passage dépend de la présence de protéines intramembranaires spécialisées dans le transport spécifique de substances.

Ils se divisent en :

- *transports passifs* qui ne consomment pas d'énergie,
- *transports actifs* qui consomment de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP.

Les transports passifs

Les transports passifs sont des transports transmembranaires qui ne consomment pas d'énergie : ils regroupent les transports par diffusion simple, par modification de l'hydrophobie de la membrane, et ceux effectués par l'intermédiaire de transporteurs (protéines porteuses, perméases, canaux ioniques).

■ Les échanges par diffusion simple

Le mouvement des substances par diffusion simple à travers la membrane est conditionné par :

- la taille des molécules : la vitesse de pénétration d'une molécule est inversement proportionnelle à son volume ; la validité de cette règle ne s'applique qu'aux molécules de petite dimension ;

- l'absence de polarité : une molécule polarisée ne traverse pas la membrane plasmique par transport passif;
- l'absence de charge : une molécule chargée et ayant un degré élevé d'hydratation, même de très petite dimension, ne pénètre pas la double couche; par contre le CO_2 traverse facilement la double couche;
- le coefficient de partition : au-dessus d'une taille déterminée, la pénétration dépend du coefficient de partition (rapport solubilité dans les lipides/solubilité dans l'eau); plus ce rapport s'élève, plus la facilité de passage transmembranaire de la substance augmente; les molécules solubles dans les lipides (alcools, aldéhydes, cétones, glycérols et anesthésiques) traversent très rapidement la membrane plasmique;
- le gradient de concentration : pour une molécule capable de se mouvoir librement à travers la membrane, la vitesse de progression repose sur sa différence de concentration de part et d'autre de la membrane; la molécule se déplace des régions où sa concentration est la plus forte vers les régions où sa concentration est la plus faible (c'est-à-dire dans le sens du gradient de concentration);
- la solubilité : ainsi, les liposomes traversent facilement la membrane plasmique; ce sont des microsphères d'un diamètre de 50 nm (voir fig. 2.4), obtenues artificiellement; leur membrane est constituée par des phospholipides porteurs d'acides gras à chaînes poly-insaturées ou d'esters de cholestérol; une double couche lipidique les limite; ces microsphères, produites dans un milieu contenant des principes actifs (enzymes, anticoagulants, etc.) sont utilisées en thérapeutique. Les liposomes servent de véhicules à des médicaments, puisqu'ils traversent facilement la phase lipidique de la membrane plasmique et libèrent leur contenu dans la cellule.

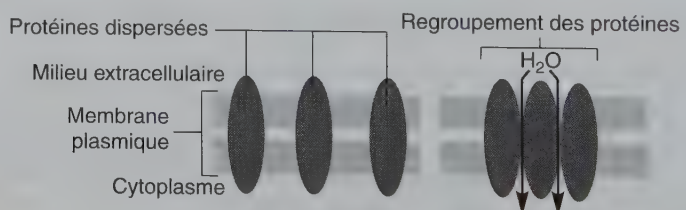
■ Les transports passifs par solvants

Les transports passifs par solvants se produisent grâce à une modification de l'hydrophobie de la membrane plasmique. Ainsi, la perméabilité à l'eau et aux substances hydrosolubles d'une membrane plasmique (qui est constituée par une double couche lipidique hydrophobe) ne peut s'expliquer que par le regroupement temporaire (un millième de seconde) de protéines intramembranaires en unités de transport dénommées « pores ».

Ceci s'observe dans la membrane des cellules de l'épithélium vésical des batraciens. Le cryodécapage montre, chez des sujets normaux, la dispersion des molécules protéiques intramembranaires des cellules superficielles de l'épithélium vésical. L'hormone antidiurétique provoque la résorption d'eau par ces cellules : sous l'influence de cette hormone, les molécules protéiques intramembranaires se regroupent et créent ainsi des zones perméables à l'eau (fig. 2.19).

Fig. 2.19

Perméabilité à l'eau de la membrane plasmique des cellules de l'épithélium vésical de Batracien. Le regroupement des protéines intramembranaires, induit par l'hormone antidiurétique, crée des zones perméables à l'eau.



■ Les protéines porteuses ou perméases

Le transport passif est un mode de transport transmembranaire de substances, sans dépense d'énergie d'origine cellulaire, dans lequel interviennent des protéines porteuses (appelées aussi transporteurs, perméases, translocases, etc., selon les auteurs). L'énergie est fournie par le gradient de concentration de la substance transportée.

Les transports passifs (transports ou diffusions facilités) sont assurés par des protéines porteuses (perméases).

Mécanisme

Les protéines porteuses (PM élevé, hydrophiles) fixent, par complémentarité stérique, une molécule extracellulaire déterminée et la transfèrent spécifiquement dans le milieu intracellulaire. Ce type de réaction ressemble à la réaction enzyme-substrat, mais ne modifie pas la structure de la substance transportée. Ces protéines porteuses (appelées aussi uniports) ne font que véhiculer un soluté unique du milieu extracellulaire (où il est plus concentré) vers le milieu intracellulaire (où il est moins concentré).

Un tel transport peut être bloqué par une inhibition spécifique de la fixation du ligand. Ce blocage dépend :

- d'inhibiteurs dits compétitifs, qui se fixent sur la perméase, au niveau du site de fixation de la molécule à transporter,
- d'inhibiteurs non compétitifs qui se fixent en dehors du site de fixation de la molécule à transporter et modifient la structure de la perméase.

La vitesse de transport atteint son maximum (V_{max}) au moment de la saturation du transporteur (lorsque tous ses sites de fixation sont occupés). La V_{max} caractérise un porteur spécifique.

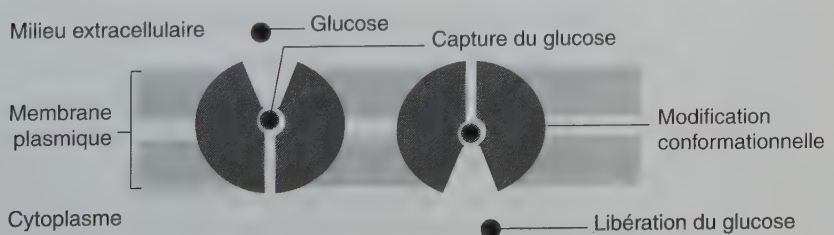
Les transporteurs de glucose

■ GLUT2 a été isolé des cellules hépatiques, GLUT3 du cerveau et GLUT4 du muscle et de la graisse. Chacun de ces transporteurs joue un rôle important et leur activité est régulée. Par exemple, l'insuline, qui augmente le stockage du glucose dans les cellules et en particulier dans les cellules musculaires et graisseuses, provoque une augmentation significative des GLUT4 associées aux cavéoles et donc de la quantité de glucose transporté dans ces cellules.

Les GLUTs (glucose transporters; transporteurs de glucose) sont des perméases qui transportent le glucose (fig. 2.20). Chez les Mammifères, le transport du glucose est assuré, en fonction du type cellulaire, par l'un des 5 transporteurs de ce type connus actuellement.

GLUT1 existe dans la paroi des érythrocytes et s'exprime également dans la plupart des cellules. *GLUT1* est régulé par le glucose : la baisse du glucose intracellulaire provoque une augmentation du nombre de molécules de *GLUT1*. Le mouvement du sucre se fait toujours dans le sens du gradient de concentration et l'énergie nécessaire ne proviendra pas de la cellule mais du gradient chimique du glucose. La concentration du D-glucose intracellulaire demeure toujours inférieure à celle du milieu environnant. Des substances ayant une configuration spatiale voisine du D-glucose inhibent son transport : ce fait implique une complémentarité morphologique de *GLUT1* et du glucose.

Fig. 2.20
Transport du glucose.



■ Les aquaporines se classent en :

- AQP0, qui possède une très basse perméabilité à l'eau,
- AQP1, une perméase de 28 kDa, dénommée antérieurement CHIP28 (channel-forming integral protein; protéine intrinsèque formant canal), très largement distribuée, en particulier dans les hématies et dans le rein,
- AQP2, localisée dans la membrane apicale des canaux collecteurs du rein,
- AQP3, située dans la partie baso-latérale des cellules épithéliales des tubes collecteurs du rein,
- AQP4, une perméase de 32 kDa, antérieurement dénommée MIWC (mercurial-insensitive water channel; canal aqueux insensible au mercure), observée dans le cerveau, dans les poumons, mais aussi dans les reins; dans le SNC (système nerveux central), elle intervient dans la réabsorption du liquide cérébrospinal,
- AQP5, qui interviendrait dans la régulation neurohormonale, dans la sécrétion des larmes, de la salive.

Les aquaporines possèdent une structure tétramérique. Les biologistes ignorent la localisation des pores aqueux, ainsi que les mécanismes responsables de l'existence de ces protéines, exclusivement sous la forme de tétramères plutôt que sous la forme de monomères en équilibre avec la forme tétramérique.

Les aquaporines

Les aquaporines (AQPs) sont des perméases qui assurent le transport transmembranaire des molécules d'eau d'une manière spécifique.

Les AQPs transportent sélectivement l'eau : l'eau passe librement à travers elles alors que les ions ou les protons ne passent pas. L'orientation des résidus acides aminés chargés (ils occupent la lumière du canal) peut empêcher le passage des ions. Si les AQPs ne transportaient pas sélectivement l'eau, il en résulterait une perte ionique considérable. Dans les tubes rénaux, la *vasopressine* intervient dans la régulation d'AQP1 : l'injection de cette hormone diurétique augmente le nombre de molécules d'AQP dans la membrane et les stimule.

Les canaux ioniques

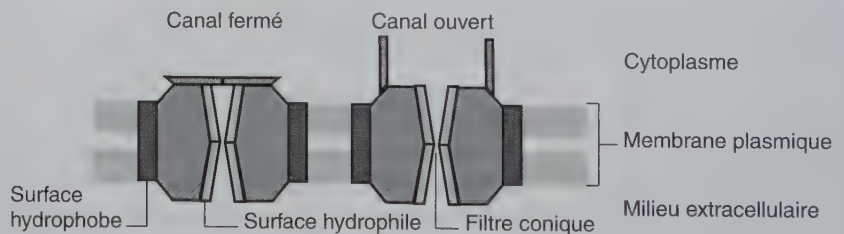
Les canaux ioniques sont des canaux constitués par des protéines transmembranaires à passage multiple, qui transportent des ions d'une manière spécifique et sélective.

L'étude comparée des concentrations ioniques dans le cytosol et dans le milieu intercellulaire montre que la concentration du K^+ est plus élevée dans la cellule, tandis que celles du Ca^{++} , du Cl^- , du Mg^{++} , du Na^+ et de HCO_3^- sont plus élevées dans le milieu intercellulaire. Le maintien de ces concentrations ioniques dépend du fonctionnement des canaux ioniques (fig. 2.21).

Les canaux ioniques sont constitués par une protéine membranaire formant une sorte de pore, ou plus précisément un canal hydrophile. Le diamètre du canal hydrophile qui assure la sélectivité ionique varie en un seul point. Des chaînes hydrophiles d'acides aminés limitent la périphérie du canal, alors que les chaînes aminées hydrophobes sont en contact avec la double couche lipidique. Du côté cytoplasmique, la fermeture et l'ouverture du canal dépendent de groupements protéiques (qui agissent comme une porte). Enfin, les ions ne franchissent ces canaux qu'après avoir éliminé les molécules d'eau qui les accompagnent.

Fig. 2.21

Canal ionique : ouverture contrôlée par la tension. Une molécule transmembranaire délimite un canal hydrophile. Il possède un diamètre très réduit en un seul point, « le filtre conique » sélectif.



Les canaux ioniques voltage-dépendants : un exemple le canal calcique

Les canaux ioniques voltage-dépendants (canaux Na^+ , K^+ , Ca^{++} et Cl^-) sont des canaux dont l'ouverture dépend du potentiel de membrane. Il faut noter que leur localisation n'est pas seulement limitée à la membrane plasmique.

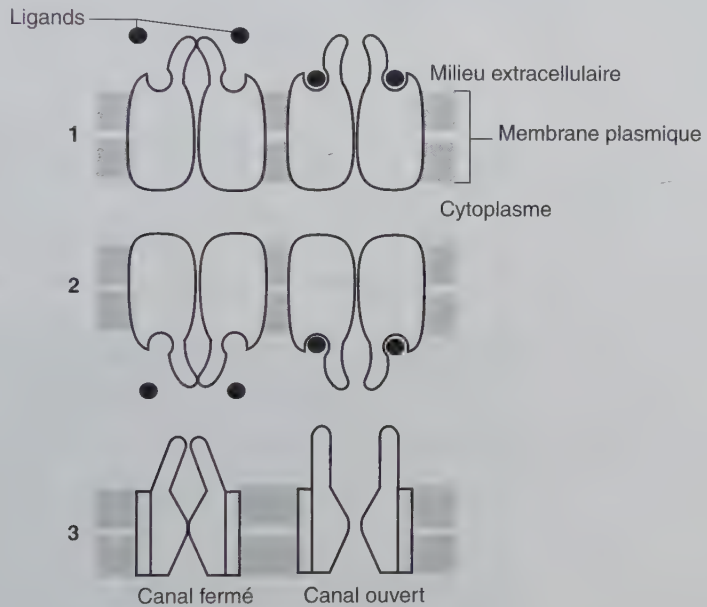
Le canal calcique est un exemple de canal ionique voltage-dépendant. Le canal Ca^{++} est constitué par un oligomère formé de 4 sous-unités. La sous-unité α , qui

est la principale sous-unité, sert à la fois de pore et de détecteur des modifications de la charge électrique. Les canaux Ca^{++} s'ouvrent au cours de la dépolarisation de la membrane plasmique. Ils permettent alors le passage spécifique du calcium dans la cellule. Le délai extrêmement court d'ouverture de ces canaux (quelques millisecondes) permet des échanges rapides et finement régulés.

Les canaux ioniques ligand-dépendants

Les canaux ioniques ligand-dépendants (fig. 2.22) sont des canaux protéiques (récepteurs canaux) dont l'ouverture dépend de la fixation d'un ligand sur une ou plusieurs de leurs sous-unités, porteuse(s) d'un site récepteur spécifique. Ces canaux ioniques existent dans toutes les cellules. Les canaux ioniques ligand-dépendants des neurones en sont un exemple.

Fig. 2.22
Canal ionique ligand-dépendant. Ouverture contrôlée :
1. par ligand extracellulaire.
2. par ligand intracellulaire.
3. mécaniquement.



Le site de fixation du ligand varie en fonction de sa localisation. Il peut être localisé :

- sur la face extracellulaire : le ligand est d'origine extracellulaire; par exemple, l'acétylcholine (un neurotransmetteur) (fig. 2.23) ouvre les canaux sodiques et provoque la formation d'une onde de dépolarisation à l'origine de l'influx nerveux;
- sur la face interne : le ligand est intracellulaire.

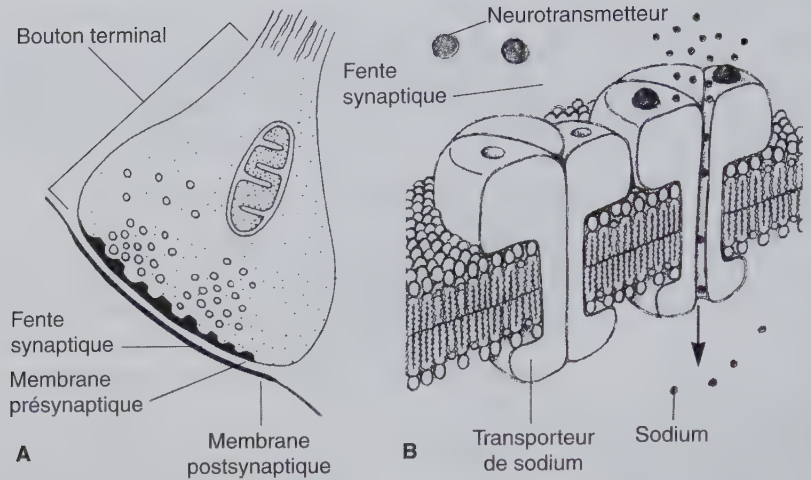
Les canaux ioniques dépendants des nucléotides cycliques

Les canaux ioniques CNG-dépendants sont des canaux dont l'ouverture est contrôlée par des nucléotides cycliques en particulier par le GMPc (guanosine monophosphate cyclique).

Ces canaux jouent un rôle régulateur important dans la fonction cellulaire. La plupart de ces canaux ne sont pas sélectifs des cations (ce qui les différencie aussi des canaux Ca^{++}) mais possèdent une perméabilité élevée pour le Ca^{++} . Ils présentent une homologie avec les canaux ioniques voltage-dépendants. L'activité des canaux

Fig. 2.23

Transmission de l'information entre deux cellules nerveuses.
A. Bouton terminal.
B. Récepteur du neurotransmetteur (acétylcholine).



CNG est modulée par divers facteurs (phosphatases, Ca^{++} /calmoduline, Ca^{++} endogène). L'augmentation d'un de ces facteurs inhibe leur fonctionnement.

Les canaux ioniques à ouverture mécanique

Voir « Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique, stéréocils ».

Les transports perméatifs se déroulent à l'échelle moléculaire. Ils se produisent sans mouvements membranaires, sans intervention du cytosquelette, sans dépense d'énergie, dans le sens milieu extracellulaire $\rightarrow$ cytosol ou inversement, en fonction du sens du gradient de concentration. La vitesse de transport est proportionnelle à la liposolubilité de la molécule et inversement proportionnelle aux dimensions de la molécule, à son degré d'hydratation et à l'importance de la charge de la molécule. Ils peuvent être liés au regroupement de protéines transmembranaires. Des protéines porteuses facilitent le transport du glucose (GLUTs), de l'eau (AQPs). Les canaux ioniques sont aussi des perméases dont l'ouverture dépend soit du voltage membranaire, soit de la fixation d'un ligand, soit de nucléotides cycliques (CNG-dépendants), soit de forces mécaniques.

Les transports actifs

Le transport actif est un transport transmembranaire qui s'effectue contre le gradient de concentration. Il dépend d'une perméase. Il consomme de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP par l'ATPase : il peut aussi être couplé à un transport passif comme dans le cas des *cotransports*.

■ La pompe à sodium

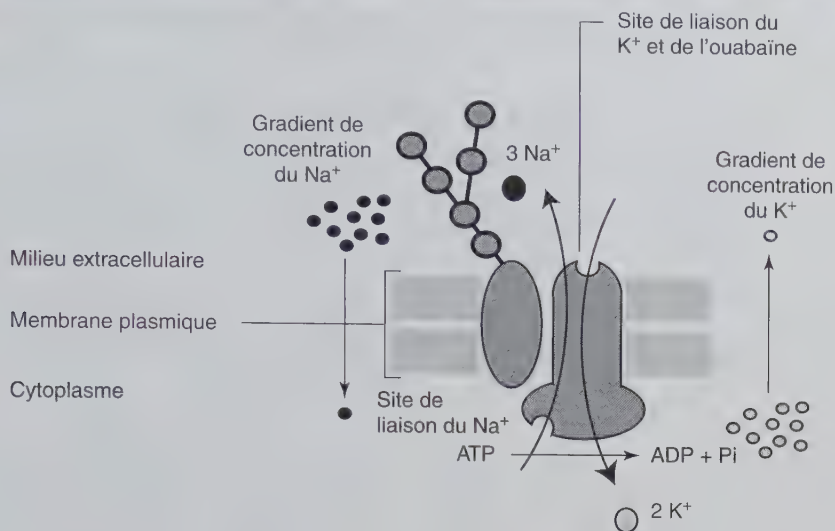
La pompe à sodium est une ATPase (fig. 2.24).

Mode d'action

Le transfert actif du sodium et du potassium se déroule continuellement dans toutes les cellules. La pompe à sodium, une Na^+/K^+ -adénosine triphosphatase (Na^+/K^+ -ATPase) est une protéine, un $\alpha_2\beta_2$ -tétramère d'un poids moléculaire de 270 kDa.

Fig. 2.24

Na^+/K^+ -ATPase (la pompe à Na^+).



La grosse sous-unité α (95 kDa) contient un site de fixation et d'hydrolyse d'ATP (situé sur la face intracellulaire) et un site de fixation des substances stéroïdes cardiotoniques (face externe). La petite sous-unité β (40 kDa) est liée à des groupes hydrocarbonés.

Cette molécule extrait 3 ions Na^+ de la cellule, tandis qu'elle fait pénétrer 2 ions K^+ dans la cellule.

Schématiquement, les étapes successives du fonctionnement de cette pompe peuvent se décrire ainsi :

- phosphorylation de l'enzyme par hydrolyse de l'ATP en présence de Mg^{++} et de 3 Na^+ ; les 3 Na^+ se fixent dans un site récepteur localisé sur la face intracellulaire de la molécule Na^+/K^+ -ATPase;
- l'enzyme phosphorylée modifie sa configuration et amène les 3 Na^+ sur la face externe;
- une déphosphorylation de l'enzyme s'accompagne de la libération de 3 Na^+ à l'extérieur de la cellule et de l'accrochage de 2 K^+ ;
- la molécule Na^+/K^+ -ATPase reprend sa forme initiale en libérant les ions K^+ à l'intérieur de la cellule.

Louabaïne et la digitaline se fixent sur le site récepteur des stéroïdes cardiotoniques. Elles inhibent ainsi le fonctionnement de la pompe à Na^+ : la concentration intracellulaire en Na^+ augmente. Cet accroissement provoque une élévation de la concentration du Ca^{++} intracellulaire, qui renforce les contractions du muscle cardiaque.

Fonctions

Ce transporteur :

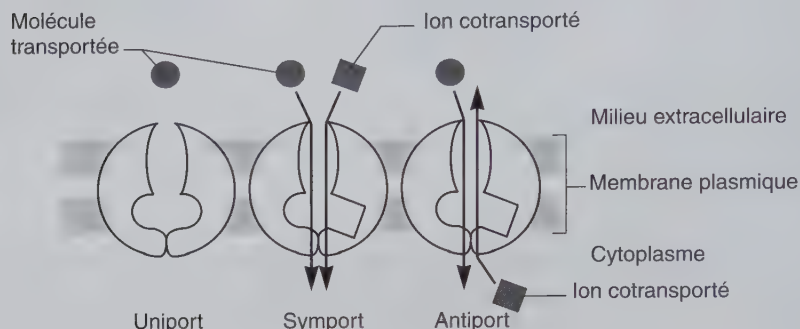
- participe au maintien de la composition ionique cellulaire par rapport au sang;
- contribue au maintien dans la cellule des ions osmotiquement actifs;
- crée un potentiel électrique entre la surface externe et la surface interne de la membrane (potentiel électrique diamembranaire);
- permet le fonctionnement des canaux voltage-dépendants;
- participe au fonctionnement des symports Na^+ -glucose : en effet l'activité de ATPase Na^+/K^+ augmente la concentration du sodium intercellulaire et, par voie

de conséquence, le gradient de concentration du sodium nécessaire au fonctionnement du symports Na^+ -glucose.

■ Les systèmes de cotransport

Un système de cotransport (symports ou antiports) est formé par l'association d'un transport actif couplé à un transport passif (fig. 2.25). L'énergie, dans ce type de transport, est fournie par la dissipation d'un gradient ionique.

Fig. 2.25
Système de cotransport.



Les symports

Les symports couplent des transports passif et actif dans le même sens. Ces transports sont en fait couplés directement avec un flux d'ions qui suit un gradient électrochimique. Ainsi, l'ion Na^+ et le glucose se lient à une protéine spécifique de transport et pénètrent ensemble dans la cellule.

Les antiports

Ils transportent simultanément deux substances en sens opposé, l'une vers le cytoplasme, l'autre vers le milieu extracellulaire.

Les échangeurs Na^+/H^+ (NHE : échangeur Na^+/H^+) règlent le pH intracellulaire par pénétration d' H^+ dans la cellule dépendant d'un flux de Na^+ en direction du milieu extracellulaire. Ils sont aussi impliqués dans la réabsorption du Na^+ par les cellules épithéliales.

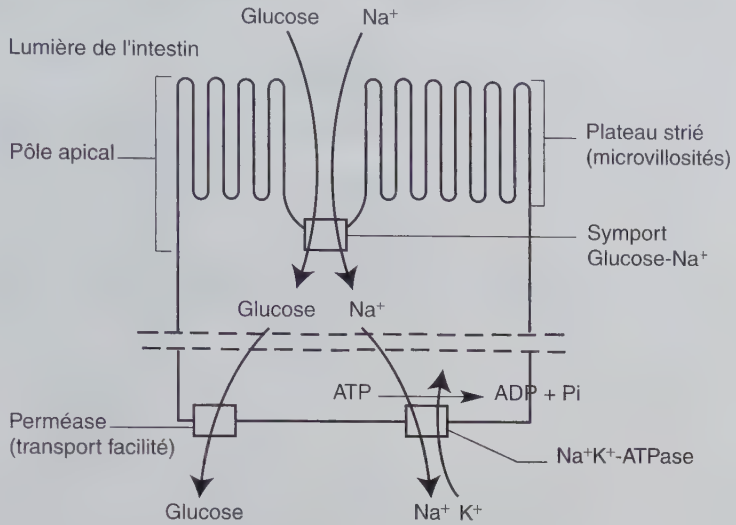
Les échangeurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_2^-$ (dénommés bande 3) des hématies humaines échangent le Cl^- extracellulaire contre HCO_2^- .

Les échangeurs $\text{Na}^+/\text{glucose}$ sont des cotransporteurs situés dans la membrane plasmique du pôle apical : ils assurent la pénétration du glucose dans les cellules épithéliales. La membrane plasmique baso-latérale, par contre, contient des perméases GLUT qui facilitent le transport en dehors de la cellule. Le glucose peut ainsi traverser facilement une cellule épithéliale. Une Na^+/K^+ -ATPase pompe le Na^+ intracellulaire en direction des espaces intercellulaires (fig. 2.26).

Les transports actifs dépendent de perméases ATP-dépendantes : ces protéines porteuses sont des ATPases (par exemple la Na^+/K^+ -ATPase ou pompe à sodium). Les transports actifs peuvent être couplés à un transport passif dans les symports (transports dans le même sens) et les antiports (transports en sens inverse) : l'énergie est fournie par la dissipation d'un gradient ionique.

Fig. 2.26

Symport glucose- Na^+ . La membrane du pôle apical des entérocytes contient des symports glucose- Na^+ . Le glucose pénètre dans la cellule grâce à l'énergie fournie par le gradient de concentration du Na^+ . Le glucose sort de la cellule par le pôle basal grâce à une perméase et à son gradient de concentration (sa concentration est plus élevée dans le pôle basal que dans le milieu extracellulaire). Une Na^+/K^+ -ATPase pompe le Na^+ en dehors de la cellule.



Les transports cytotiques

Les transports cytotiques sont des transports qui s'appliquent aux solutés et aux substances de haut poids moléculaire. Ils se caractérisent par la formation de vésicules ou de vacuoles. Ils dépendent de l'énergie et font intervenir le cytosquelette. Ces transports se déroulent dans une structure limitée par une membrane d'origine plasmique (vésicules de pinocytose ou d'endocytose induite, vacuoles de phagocytose).

L'endocytose

L'endocytose est un terme général, qui regroupe la *pinocytose* et la *phagocytose*, c'est-à-dire l'ensemble des mécanismes responsables de l'internalisation de substances ou de micro-organismes d'origine extracellulaire : la formation d'invaginations de la membrane plasmique, grâce à des mouvements de petite amplitude de la membrane plasmique, aboutit à la formation de vacuoles ou de vésicules contenant le matériel à importer.

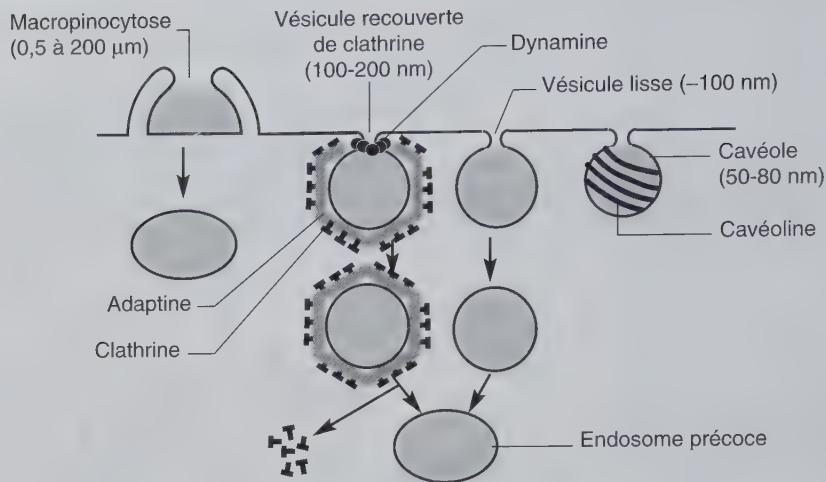
La pinocytose

La pinocytose (du grec *pinein*, « boire ») est la capture, par la cellule, de macromolécules et de solutés dans de petites vésicules qui se forment par bourgeonnement de la membrane plasmique en direction du cytoplasme (fig. 2.27).

Il existe quatre types distincts de pinocytose en fonction de la taille des vésicules, de la nature éventuelle de leur revêtement et du déroulement du phénomène :

- la pinocytose dite « à vésicules lisses » d'une phase fluide,
- la pinocytose induite par un récepteur, au cours de laquelle des macromolécules se lient à des récepteurs de la surface cellulaire, puis se concentrent en un point de la membrane plasmique qui sera le siège de l'internalisation,
- la potocytose,
- la macropinocytose.

Fig. 2.27
La pinocytose. Les diverses formes de pinocytose.



La pinocytose à vésicules lisses

La membrane plasmique s'invagine en une vésicule de 150 nm de diamètre, partiellement ouverte sur le milieu extracellulaire. La substance liquide pénètre dans la vésicule qui se referme, au niveau du col, par étranglement. Ces vésicules lisses, non recouvertes, caractérisent l'endocytose non spécifique : elles assurent un transport « en vrac ».

Les vésicules livrent leur contenu à la cellule, lorsqu'elles fusionnent et forment un *endosome précoce* (voir chapitre 7 « Les endosomes »).

Elles peuvent aussi traverser la cellule (transcytose). Par exemple, dans les cellules endothéliales, qui forment avec la lame basale la paroi des capillaires, les vésicules de pinocytose apparaissent sur la *face luminale* (face cellulaire en rapport avec le sang circulant). Elles transportent, à travers la cellule, les substances capturées (macromolécules, protéines plasmatiques, anticorps, micelles lipoprotéiques) et les libèrent par exocytose dans le milieu extracellulaire entourant le capillaire.

Malgré la pinocytose qui devrait provoquer une diminution de la surface membranaire, celle-ci reste constante : l'apport des membranes des grains de sécrétion au cours de l'exocytose compense, en effet, la perte occasionnée par la pinocytose.

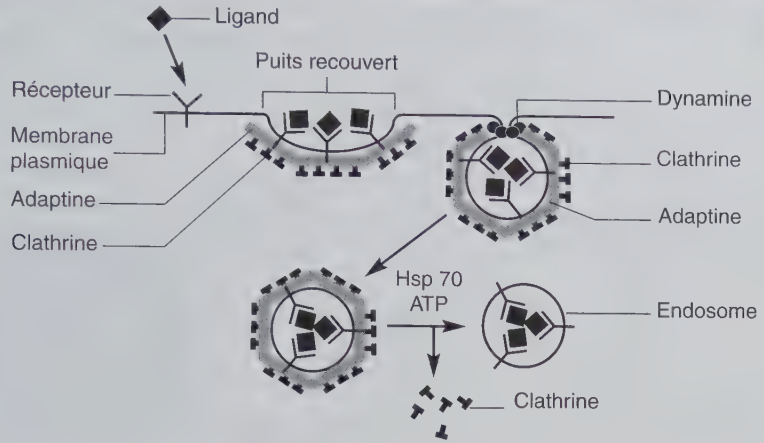
La pinocytose à vésicules à manteau de clathrine

Ce type d'endocytose hautement spécifique correspond à la formation de vésicules à manteau (vésicules hérissées, recouvertes, épineuses, coated vesicles, acanthosomes, etc.) grâce à un processus d'internalisation d'un domaine de la membrane plasmique, recouvert sur sa face interne par des molécules de clathrine contenant des récepteurs adaptine-dépendants (fig. 2.28). Ces vésicules sont sélectives. Par exemple, certaines ne transporteront que du cholestérol, d'autres de l'insuline, etc.

Le réseau de clathrine et d'adaptine. — Des spicules ou épines, d'une longueur de 15 nm, hérissent la face externe de ces vésicules. Cet aspect est dû au réseau formé par l'association des molécules fibrillaires de clathrine-adaptine, qui dessinent des hexagones ou des pentagones à la surface de la vésicule.

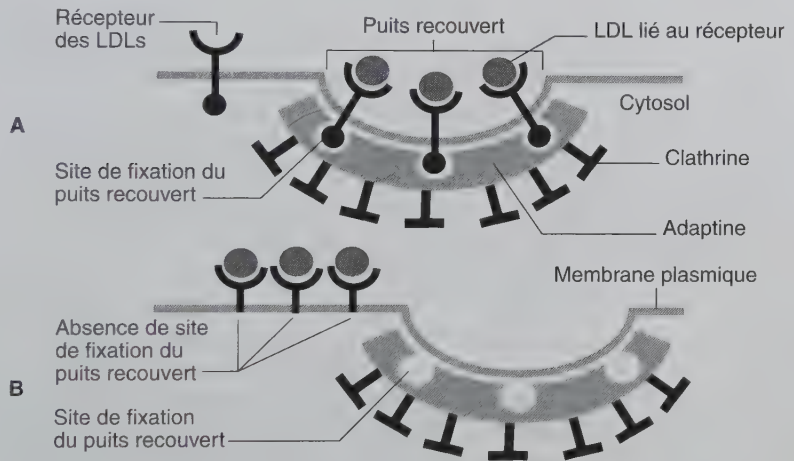
Les récepteurs adaptine-dépendants. — Ces récepteurs spécifiques de la substance à internaliser, après avoir fixé le ligand, migrent vers des dépressions de la membrane plasmique, recouvertes sur leur surface cytoplasmique d'un réseau

Fig. 2.28
Endocytose induite.



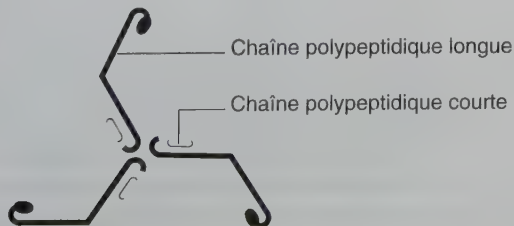
hexa- ou pentagonal de clathrine (les puits recouverts) (fig. 2.29). Les récepteurs se regroupent dans ces puits. Environ 2 % de la surface totale de la membrane plasmique sont engagés dans la formation de ces dépressions.

Fig. 2.29
Les puits recouverts : par exemple le transport du cholestérol (voir plus loin).
A. Les récepteurs liés au LDL se rassemblent dans un puits recouvert.
B. En l'absence de site de fixation du puits recouvert, les cellules ne peuvent intégrer les LDLs.



Les molécules de clathrine. — La clathrine (180 kDa) est un complexe protéique de trois longues chaînes polypeptidiques et de trois chaînes polypeptidiques courtes, qui constituent trois pieds (triskélion) (fig. 2.30). Les molécules de clathrine ont la propriété de s'agréger spontanément en milieu aqueux. Elles ne s'associent pas directement à la membrane de la vésicule. Elles s'assemblent

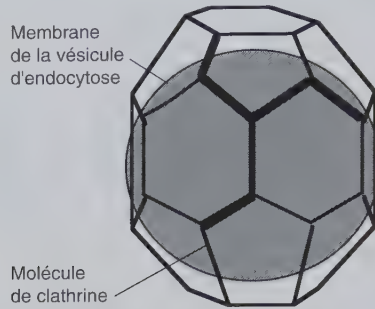
Fig. 2.30
Molécule de triskélion.



d'abord avec des hétérodimères de l'adaptine (β -adaptine). Puis survient l'auto-assemblage des complexes adaptine/triskélions (polypeptides d'assemblage) : il ne consomme pas d'énergie. Il aboutit à la formation d'une sorte de corbeille à mailles hexagonales et pentagonales (8 hexagones et 12 pentagones) (fig. 2.31).

Fig. 2.31

Représentation tridimensionnelle d'une vésicule d'endocytose induite (vésicule à manteau ou hérissée).



Les molécules de β -adaptine. — Elles interviennent comme intermédiaire entre la membrane plasmique et le manteau de clathrine. Elles fixent l'enveloppe de clathrine sur la membrane plasmique par l'intermédiaire de récepteurs. Ces récepteurs sont des molécules transmembranaires : ils possèdent un domaine cytoplasmique contenant une séquence de FRXY (phénylalanine, arginine, X, tyrosine, X désignant n'importe quel acide aminé) qui est reconnue par les adaptines. Cette séquence forme une partie du signal d'endocytose.

L'internalisation des puits recouverts. — La membrane des puits recouverts s'invagine et s'internalise grâce aux forces développées par l'assemblage des molécules de clathrine et des autres protéines d'enveloppe situées sur la face interne ou cytoplasmique. L'invagination se ferme et forme une vésicule d'endocytose recouverte par le réseau hexagonal du complexe clathrine/adaptine (voir fig. 2.27).

Le rôle de la dynamine. — Elle est nécessaire à la fermeture des vésicules à clathrine (voir fig. 2.27). La dynamine est une volumineuse GTPase. Elle contient trois séquences capables de se lier au GTP. Trois gènes différents codent la dynamine chez les Vertébrés supérieurs et sont à l'origine de la dynamine I exprimée dans les terminaisons nerveuses, de la dynamine II distribuée dans de très nombreux tissus et de la dynamine III dans le testicule.

Dans des conditions normales, la dynamine forme un complexe avec GTP, complexe qui se dispose en anneau autour du col et provoque une constriction. Les petites molécules peuvent encore entrer dans la vésicule par le col. L'inhibition de l'hydrolyse du GTP par le GTP- γ S (forme non hydrolysable du GTP) arrête l'endocytose à ce stade. Sinon, l'hydrolyse du GTP par la dynamine se produit : le col est alors coupé et la vésicule libérée dans le milieu intracellulaire.

Les formes mutantes de la dynamine, dépourvues de toute activité hydrolytique, incapables de se lier au GTP, inhibent l'endocytose des vésicules à clathrine.

Le pore de fission. — Au moment de la fermeture de la vésicule d'endocytose provoquée par la dynamine, le pore de fission apparaît sous la forme d'un raccordement aqueux entre la lumière de la vésicule et le milieu extracellulaire : la durée de vie de ce pore de fission n'excède pas quelques centièmes de milliseconde.

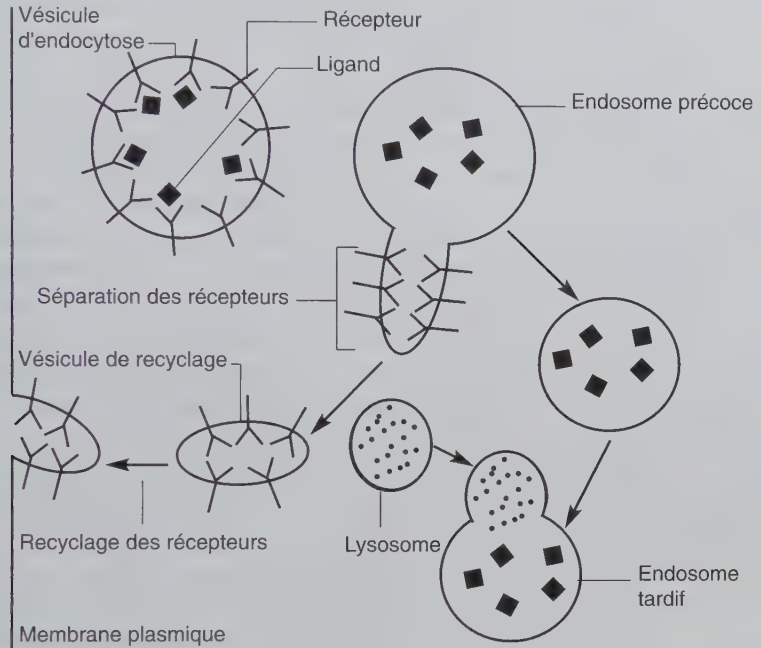
Le rôle des microtubules. — Le déplacement des vésicules d'endocytose dépend des microtubules. L'association des vésicules d'endocytose aux microtubules dépend de la présence de CLIP170 (cytoplasmic linker protein; protéine cytoplasmique de

■ Par vésiculation, les **endosomes précoces** forment des vésicules de recyclage des récepteurs, qui peuvent ainsi regagner la membrane plasmique, et des vésicules ECV (endosomal carrier vesicle; vésicule endosomale de transport) ou MVC (multivesicular carrier; transport multivésiculaire) qui transportent les ligands vers les endosomes tardifs.

liaison) qui relie la membrane des vésicules aux microtubules. La dépolymérisation des microtubules provoque le déplacement des vésicules.

Fusion des vésicules d'endocytose en endosomes précoces. — Très rapidement, sous l'action d'une enzyme, l'ATPase de « déshabillage » clathrine-dépendante (une protéine chaperonne Hsp70 : heat shock protein; protéine de choc thermique), et en présence d'ATP, les vésicules d'endocytose se débarrassent des molécules de clathrine et d'adaptine. Elles se transforment par fusion en un **endosome précoce** (fig. 2.32).

Fig. 2.32
Évolution d'une vésicule d'endocytose induite.



Les endosomes constituent un ensemble de compartiments que les macromolécules et les particules endocytées doivent d'abord traverser avant de subir l'action des lysosomes. Identifiés en microscopie électronique, ils regroupent des vésicules hétérogènes et des tubules limités par une membrane (voir chapitre 7 « Les endosomes »).

Transport du cholestérol. — Il est transporté dans la cellule par des vésicules à clathrine. Le cholestérol est insoluble dans les liquides de l'organisme. Ingéré avec la nourriture ou synthétisé par le foie, il ne peut circuler dans l'organisme que grâce à un transporteur appelé LDL (low density lipid; lipide de faible densité) (voir fig. 2.29), particule sphérique de 20 à 30 nm de diamètre. La face externe des LDLs se compose d'une couche de phospholipides et de cholestérol, elle contient aussi une apo-B-protéine. Cette sphère transporte 1 500 molécules de cholestérol estérifié.

La membrane plasmique possède des récepteurs spécifiques de LDL. L'apo-B-protéine se fixe sur les récepteurs LDL de la membrane, qui se regroupent ensuite dans les puits recouverts. Après endocytose, les particules de LDL perdent leur revêtement par action de molécules Hsp. Les vésicules transportant les LDLs forment par fusion les endosomes précoces : des vésicules de transport les livrent aux endosomes tardifs qui fusionnent avec des lysosomes. Le catabolisme de

l'apo-B-protéine libère des acides aminés, tandis que les esters de cholestérol donnent du cholestérol et des acides gras. La membrane incorpore immédiatement le cholestérol. Les acides gras forment de nouvelles molécules de phospholipides.

La synthèse des récepteurs au LDL dépend du taux de cholestérol intracellulaire : s'il est bas, la synthèse des récepteurs au LDL, par la cellule qui a besoin de cholestérol, se déclenche (rétrocontrôle cellulaire).

Il convient de noter qu'un Homme sur 500 possède un gène récepteur de LDL défectueux (transmission héréditaire de type récessif). Le cholestérol, mal absorbé par les cellules, se dépose sur la paroi des artères, en particulier celle des artères coronaires : ces sujets sont prédisposés à l'infarctus du myocarde.

La potocytose

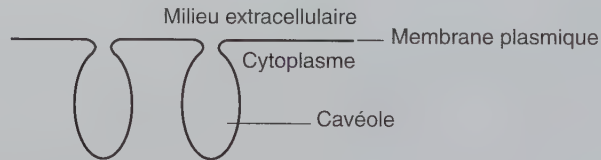
■ La **cavéoline/VIP21** est une phosphoprotéine intrinsèque. Dans certaines conditions expérimentales, la cavéoline peut être absente de la membrane cavéolaire. Dans les homogénats cellulaires non traités par la cholestérol oxydase, la cavéoline située sur la membrane plasmique est accessible à la fois aux anticorps anticavéoline et à la trypsine. En présence de cholestérol oxydase, la cavéoline abandonne la membrane plasmique et s'associe aux compartiments du Golgi et du RE. La cavéoline associée au Golgi est inaccessible aux anticorps anticavéoline et à la trypsine. Après extraction de l'enzyme du milieu, la cavéoline retourne aux cavéoles.

La potocytose (du grec *potos* « action de boire, boisson ») est un mode d'endocytose provoquée par la fixation d'un ligand sur des récepteurs membranaires, aboutissant à la formation de cavéoles qui restent attachées à la membrane ou qui se déplacent vers l'appareil de Golgi (fig. 2.33). Les cavéoles sont des spécialisations membranaires qui se forment au cours de l'internalisation, par potocytose, de microdomaines de la membrane plasmique plus riches en lipides, en particulier en cholestérol (DIGs).

Les cavéoles, d'un diamètre moyen de 50 à 80 nm, donc inférieur à celui des vésicules lisses, possèdent un revêtement granulaire disposé en spirales, non décelable par les techniques de microscopie électronique conventionnelles, et constitué par la **cavéoline/VIP21** (vesicular integral-membrane protein; protéine intrinsèque de la membrane des vésicules), qui s'associe à un revêtement strié situé sur la surface cytoplasmique de la membrane des cavéoles.

La *bréfeldine A*, qui inhibe le trafic RE → Golgi, n'empêche pas la cavéoline de quitter la membrane plasmique. La perte de la cavéoline ne modifie ni le nombre ni la morphologie des cavéoles.

Fig. 2.33
Potocytose.



Composition de la membrane. — En plus de la présence de cavéoline, cette membrane se caractérise par sa richesse en glycosphingolipides, en monosialoganglioside (GM1) et en cholestérol par rapport aux autres régions de la membrane plasmique. La membrane des cavéoles est actuellement considérée comme un DIG.

La membrane cavéolaire contient aussi des récepteurs (des protéines associées au GPI [glycophosphatidylinositol] ou des protéines à 7 domaines intramembranaires), des pompes à protons, des canaux anioniques, des perméases.

Les récepteurs sont des glycoprotéines transmembranaires, activées par la fixation d'IP3 (inositol 1,4,5-triphosphate). L'activation provoque une ouverture des canaux Ca^{++} . Ils existent également dans les membranes du RE, de l'appareil de Golgi, dans l'enveloppe nucléaire.

La fixation d'un ligand sur ses récepteurs peut provoquer un bourgeonnement de la membrane.

Les pompes à protons (une ATPase à protons) provoquent une baisse du pH lorsque la cavéole est fermée.

Les canaux ioniques du Ca^{++} situé dans la membrane des cavéoles assurent le transport du calcium de la cavéole vers le cytoplasme.

Fonctions des cavéoles. — Les cavéoles contiennent, concentrent et internalisent de nombreuses molécules connues comme intervenant dans la transduction de signaux. L'analyse morphologique et biochimique de la capture de deux ligands (la toxine cholérique et les anticorps qui se lient au GPI) fournit des certitudes sur la fonction d'endocytose des cavéoles.

La toxine cholérique se fixe sur le ganglioside GM1 concentré dans la paroi des cavéoles. Puis elle est retrouvée dans de petites vésicules d'endocytose. Elle est ensuite libérée dans le cytosol où elle modifie la sous-unité α des protéines G trimériques.

Les cavéoles interviendraient dans la transmission des signaux mécaniques et hormonaux. Cette spécialisation membranaire intègre des messages entrant ou sortant de la cellule.

Devenir des cavéoles. — Les cavéoles peuvent se fermer, rester liées à la face interne de la membrane plasmique puis s'ouvrir à nouveau. Cette fermeture est ATP-dépendante. Les cavéoles peuvent s'isoler comme des vacuoles d'endocytose et être transportées vers l'appareil de Golgi. Elles peuvent déverser leur produit dans le REG.

Effets des traitements pharmacologiques. — Les molécules qui se lient sélectivement au cholestérol modifient la structure et la fonction des cavéoles. Ainsi, la *filipine*, qui se fixe sur le cholestérol, bloque sélectivement la capture de protéines modifiées comme l' α_2 -macroglobuline.

L'internalisation de la membrane des cavéoles est inhibée par la cytochalasine D et nettement stimulée par un inhibiteur des phosphatases, l'*acide okadaïque*. Les cavéoles internalisées au cours du traitement par l'acide okadaïque s'accumulent dans la région périnucléaire, où elles constituent des groupes volumineux. Ces résultats démontrent que les cavéoles ne sont pas des éléments statiques.

La macropinocytose

La macropinocytose est une endocytose de solutés (molécules en solution), qui aboutit à la formation des macropinosomes, vacuoles non revêtues de clathrine, d'un diamètre compris entre 0,5 et 200 μm .

Les macropinosomes (voir fig. 2.27) se forment en réponse à des facteurs de croissance et à des esters de phorbol (agents chimiques carcinogènes, activateurs de la PKC [protéine kinase C]). Leur formation s'accompagne (mais pas nécessairement) d'expansions ondulantes temporaires qui, au moment de la macropinocytose, entourent les solutés extracellulaires à internaliser.

Les macropinosomes sont réfractaires à la fusion avec les endosomes précoces : les macropinosomes ne délivrent qu'une infime partie de leur contenu aux endosomes précoces ou tardifs. La bréfeldine A n'induit pas le mélange des contenus des macropinosomes et des endosomes ; de plus, elle n'altère pas, ou presque pas, la morphologie des macropinosomes, tandis que dans les mêmes cellules elle produit des effets dramatiques de tubulation sur les endosomes. Bien que réfractaires à la fusion avec les endosomes, les macropinosomes, structures dynamiques, prennent parfois une morphologie tubulo-vésiculaire et fusionnent les uns avec les autres.

Les différents mécanismes d'endocytose pourraient donner des populations endosomales distinctes.

■ La phagocytose

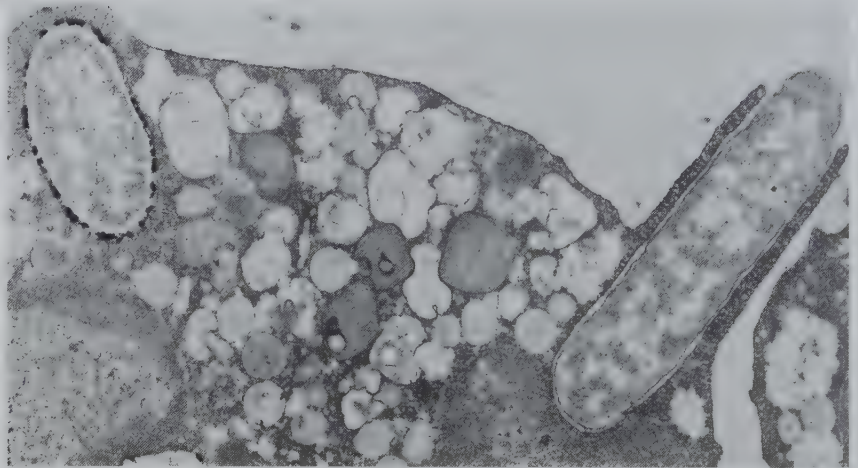
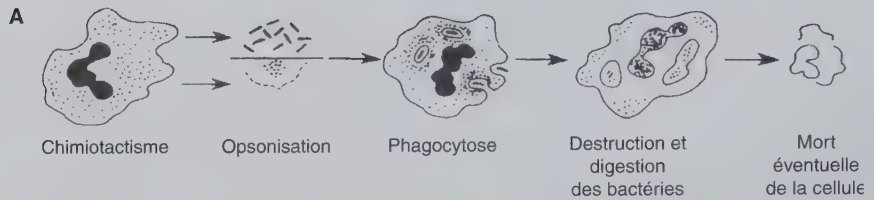
La phagocytose est l'ensemble des phénomènes qui aboutit à la formation des *phagosomes*, vacuoles de grande taille (visibles en microscopie optique) contenant des particules solides (par exemple des bactéries) ou des débris cellulaires de grande taille (fig. 2.34). La phagocytose est un processus actif qui consomme une quantité importante d'énergie délivrée par l'hydrolyse de l'ATP.

Fig. 2.34

Phagocytose.

A. Principales étapes de la phagocytose.

B. Phagocytose par un granulocyte. En haut à droite, une bactérie en forme de bâtonnet est recouverte presque totalement par des pseudopodes. En haut à gauche, une bactérie vient d'être phagocytée; elle est contenue dans une vacuole phagocytaire. Les grains noirs, à la périphérie de la vacuole, correspondent à des phosphatases qui ont été déversées dans la vacuole par des lysosomes ($\times 18\,000$). (Cliché de D. FORD BAINTON; *J. Cell Biol.*, 58, 1973, 249-264.)



B

Les cellules phagocytaires

Il s'agit d'un mécanisme de défense de l'organisme dépendant de cellules spécialisées, des cellules phagocytaires comme les *granulocytes* et les *macrophages*; la phagocytose concerne non seulement les bactéries, mais aussi les débris cellulaires (un macrophage peut phagocyter environ un millier d'hématies sénescents par jour).

D'autres cellules, non phagocytaires, peuvent, dans des conditions pathologiques, acquérir la possibilité d'absorber aussi des particules solides. Ainsi, des cellules néoplasiques (néoplasmes du col de l'utérus, par exemple) phagocytent parfois d'autres cellules comme, par exemple, des polynucléaires.

Les quatre étapes de la phagocytose

La phagocytose se déroule en quatre étapes (la phagocytose de bactéries par les macrophages est choisie comme exemple type).

Opsonisation. — Immédiatement après leur pénétration dans l'organisme, les bactéries sont opsonisées. Des anticorps (IgG, immunoglobuline G) recouvrent les bactéries.

Migration des macrophages par chimiotactisme. — Les granulocytes migrent vers les lieux occupés par les bactéries, attirés par une substance chimique dont on ignore encore la nature; ils migrent à la vitesse de 0,7 à 1 μm par minute.

Contact. — Animés de mouvements incessants, les macrophages forment des pseudopodes qui entrent en contact avec la bactérie. Le contact précède une phase essentielle, l'adhérence.

Adhérence. — Des CAMs (cell adhesion molecule; molécule d'adhérence cellulaire) et des SAMs (substrate adhesion molecule; molécule d'adhésion au substrat) assurent l'adhérence du macrophage à la bactérie. La membrane plasmique du macrophage porte des récepteurs spécifiques FcR (récepteur du fragment complément) pour les Fcs (fragment complément) des immunoglobulines qui recouvrent la bactérie. La formation du complexe FcR/Fc active les canaux ioniques associés aux récepteurs. Une quantité importante d'ions sodiques pénètre dans le cytoplasme, provoque une chute du potentiel de membrane, active la phagocytose, les mouvements cellulaires, la formation de H_2O_2 et de substances antibactériennes dans les lysosomes, et induit la phase rhéologique.

Phase rhéologique. — Le terme *rhéologique*, qui qualifie cette phase, signifie « qui a rapport à l'écoulement de la matière ». Dans le cas de la phagocytose, il s'agit du moment où le cortex cellulaire envoie des pseudopodes qui s'anastomosent les uns aux autres et entourent toutes les faces de la bactérie. Ils limitent une vacuole (phagosome) occupée par la bactérie. Les bords libres des pseudopodes entrent en contact puis fusionnent à la manière d'une fermeture Éclair (zipper interaction).

Le phagosome se transforme ultérieurement en phagolysosome (voir chapitre 10 « Les lysosomes »).

Rôle de l'actine. — De faibles concentrations de cytochalasine, qui inhibent la polymérisation de l'actine, ralentissent ou interrompent la phagocytose. Les bactéries opsonisées adhèrent alors aux macrophages, mais la membrane d'origine plasmique ne les entoure jamais complètement. Les bactéries restent dans des invaginations plus ou moins profondes de la membrane.

Les mécanismes d'extension et de mouvement des pseudopodes dépendent donc de l'actine (voir chapitre 3 « Le cytosquelette »). Au cours de la phagocytose, les pseudopodes contiennent de très importantes quantités d'actine et de protéines liées à l'actine. L'entrée massive de sodium, au moment de la phase d'adhérence, provoque une onde de dépolarisation qui libère du calcium contenu dans le réticulum endoplasmique. Les ions Ca^{++} sont responsables de la formation de l'actomyosine, donc de la contraction des faisceaux d'actine. Le phagosome reçoit ensuite des hydrolases qui proviennent des vésicules à hydrolases. Ces vésicules fusionnent avec la membrane du phagosome pour y déverser leur contenu. Le phagosome devient alors un phagolysosome.

■ La transcytose

La transcytose regroupe l'ensemble des phénomènes qui permettent à une substance ou une particule (bactérienne ou non) de traverser le cytoplasme d'une cellule et de passer ainsi d'une région extracellulaire à une autre région extracellulaire (par exemple, passage à travers les cellules endothéliales de molécules contenues dans le sang circulant).

La transcytose intéresse les vésicules lisses provenant de l'endocytose non spécifique. Elle dépend du cytosquelette, des microfilaments d'actine qui jouent le rôle

de moteur, tandis que les microtubules indiquent la direction que l'endosome doit suivre. Elle est ATP-dépendante.

Marqueur des vésicules de transcytose

L'isolement d'une population de vésicules de transcytose qui se déplacent dans le sens baso-latéral → apical d'une cellule prismatique a permis de fabriquer un marqueur, un anticorps, qui reconnaît un composant spécifique des transporteurs vésiculaires transcytotiques, une protéine de 108 kDa.

Transcytose induite

Certains signaux déclenchent la transcytose. Le récepteur de l'immunoglobuline (pIg-R : polymeric immunoglobulin receptor; récepteur polymérique de l'immunoglobuline) peut subir une transcytose dans les cellules épithéliales polarisées. La phosphorylation d'un résidu sérine (Ser 664) du domaine cytoplasmique de pIg-R déclenche sa transcytose.

Les protéines TAPs

Les protéines TAPs (transcytosis-associated proteins; protéines associées à la transcytose) sont localisées dans la membrane des vésicules de transcytose; elles interviennent dans la fusion avec la membrane cible. TAP est indispensable pour établir une fusion stable avec la membrane cible.

Transcytose et microtubules

Les cellules MDCK (Madin-Darby canine kidney; rein de chien Madin-Darby : souche de cellules fréquemment utilisée en biologie cellulaire et moléculaire) portent des récepteurs pour le domaine Fc des IgG (FcRII-B2) ou pour l'immunoglobuline (pIg-R). Dans ces cellules, la dépolymérisation des microtubules par le nocodazole ne bloque pas la transcytose induite par l'activation de FcR, qui assure le transport de vésicules de la membrane apicale à la membrane baso-latérale. Par contre, elle bloque la transcytose provoquée par l'activation de pIg-R par IgA qui s'effectue en sens opposé.

■ TAP est l'homologue de p115, une protéine impliquée dans le transport entre les citernes cis et médianes de l'appareil de Golgi. Elle est l'homologue de Usop1, une molécule impliquée dans les transports entre le RE et l'appareil de Golgi. TAP/p115/Usop1 sont donc des protéines homologues qui interviennent dans les voies de la sécrétion et de l'endocytose.

TAPs : ne pas confondre avec transporter-associated with antigen processing; protéine transporteuse associée aux antigènes (voir chapitre 8 « Ribosome et réticulum endoplasmique »).

L'endocytose (pinocytose, phagocytose) correspond à l'internalisation de la membrane plasmique en vacuoles qui transportent du matériel extracellulaire. La pinocytose capture des macromolécules ou des solutés. Les vésicules d'endocytose à membrane lisse effectuent des transports non spécifiques, les vésicules à clathrine des transports spécifiques (endocytose spécifique). Une GTPase, la dynamine, est nécessaire à la fermeture des vésicules à clathrine. Le déplacement des vésicules dépend de MTs et d'une protéine motrice CLIP170. Les vésicules à manteau perdent leur revêtement grâce aux protéines de la famille Hsp. Les deux types de vésicules se transforment en endosomes précoces. La *pinoctose* est une forme d'endocytose aboutissant à la formation de cavéoles dont la totalité de la membrane est constituée par un DIG qui contient une protéine, la cavéoline, des pompes à protons, des canaux ioniques Ca^{++} , des molécules intervenant dans la transduction des signaux. La macropinocytose, endocytose de solutés, aboutit à la formation de macropinosomes, vésicules non revêtues de clathrine qui ne fusionnent pas avec les endosomes. La *phagocytose*, endocytose de particules solides ou de germes, intéresse principalement les cellules intervenant dans la défense de l'organisme. Les germes sont phagocytés après une suite d'événements qui sont l'opsonisation, le chimiotactisme, le contact, la reconnaissance et la phase rhéologique. La *transcytose* transporte des molécules dans des vésicules lisses à travers la cellule, d'un milieu à un autre. Elle est déclenchée par des signaux. Des protéines TAPs de la membrane des vésicules assurent la fusion de ces vésicules avec le compartiment cible.

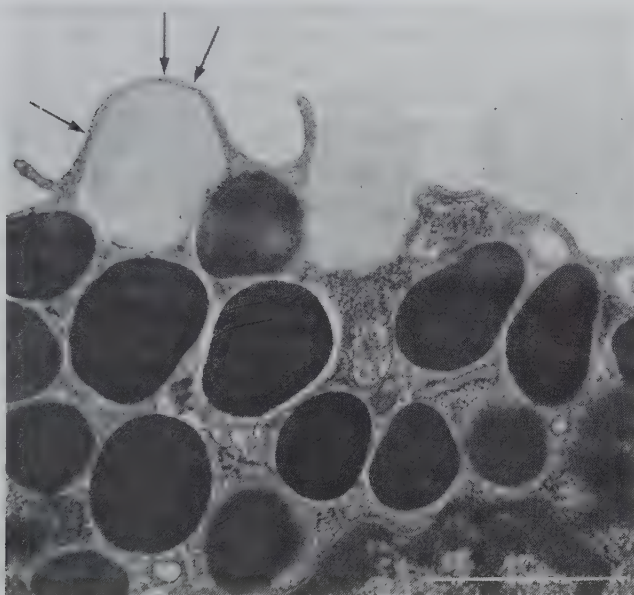
L'exocytose

C'est le processus inverse de l'endocytose. Au cours de l'exocytose, la cellule excrète ses produits. Les membranes des vésicules de sécrétion fusionnent avec la membrane plasmique et libèrent leur contenu dans le milieu extracellulaire (fig. 2.35).

Il faut signaler l'existence d'une exocytose dite *exocytose par bourgeonnement* ou *apocrinie*, relativement rare : les produits excrétés sont entourés par une partie de la membrane plasmique. C'est le cas pour la sécrétion lactée de la glande mammaire et pour certains virus non enveloppés qui sortent de la cellule par un grain de sécrétion.

Fig. 2.35

Mastocyte. Excrétion des grains de sécrétion. Les flèches indiquent les points de fusion entre la membrane plasmique et la membrane du grain. La membrane se rompt au point de fusion et libère le grain de sécrétion ($\times 26\,600$). (Cliché de P. ROHLICH, P. ANDERSON et B. UVNAS; *J. Cell Biol.*, **51**, 1971, 465-483.)



■ Les vésicules d'exocytose

Les produits excrétés sont transportés dans des vésicules. Toutes les cellules eucaryotes, à l'exception des hématies, contiennent des vésicules renfermant des produits élaborés par le réticulum endoplasmique. Des vésicules de transport les conduisent à l'appareil de Golgi où ils subissent des modifications structurales. Des vésicules, formées par vésiculation des citernes *trans*, transportent ces molécules modifiées depuis l'appareil de Golgi jusqu'à la membrane plasmique. L'exocytose compense quantitativement l'endocytose.

Les molécules de la membrane des vésicules d'exocytose s'intègrent à la membrane plasmique, tandis que le contenu vésiculaire est excrété :

- dans le sang (sécrétion endocrine d'hormones, sécrétion de nutriments),
- dans le liquide interstitiel qui baigne ces cellules excrétrices (sécrétion endocrine de nutriments pour d'autres cellules),
- ou dans les cavités de l'organisme (sécrétion exocrine des cellules sécrétrices des glandes salivaires, par exemple).

■ Exocytoses continue et discontinue

L'excrétion cellulaire revêt deux formes. Il s'agit soit d'un phénomène continu (*excrétion constitutive*), soit discontinu (*excrétion provoquée et contrôlée*) (fig. 2.36).

L'excrétion continue constitutive

L'excrétion continue est l'étape terminale du flux vectoriel membranaire et permanent, qui achemine des constituants destinés à la membrane plasmique, comme les glycoprotéines extrinsèques de la face externe de la membrane plasmique ou des substances solubles pour la matrice extracellulaire.

Les vésicules, à leur origine golgienne, sont recouvertes d'un manteau de COPs (coat proteins; protéines de revêtement) : elles le perdent très rapidement après leur individualisation et peuvent alors gagner la membrane plasmique (voir chapitre 9 « L'appareil de Golgi »).

L'excrétion discontinue contrôlée

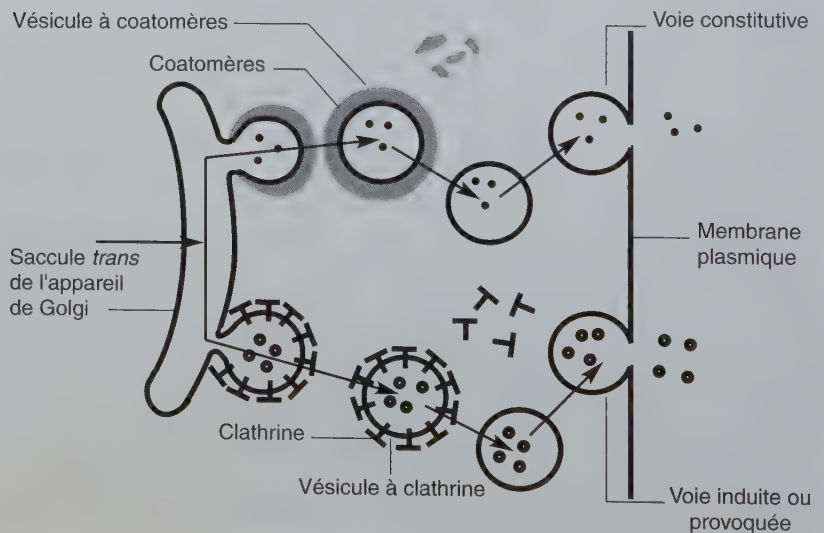
Elle n'intéresse que les produits de sécrétion. Elle se fait par décharge induite par un stimulus : des ligands spécifiques se fixent sur les sites récepteurs membranaires et déclenchent ce mode d'excrétion.

Des vésicules à clathrine, à leur origine golgienne, stockent les produits de la sécrétion cellulaire. Après déshabillage, les vésicules devenues lisses peuvent fusionner soit avec la membrane plasmique, soit avec les lysosomes, les endosomes ou les phagosomes.

Un signal contrôle l'excrétion discontinue. — Ce signal peut provenir de la cellule elle-même : une baisse du potentiel d'action dans les cellules nerveuses induit la libération d'un neuromédiateur à l'extrémité synaptique, par exemple l'acétylcholine.

Il peut aussi avoir une origine extracellulaire. Lorsque la concentration sanguine du glucose augmente, des ligands spécifiques se fixent sur les sites récepteurs membranaires des cellules β des îlots de Langerhans, qui libèrent alors l'insuline, une

Fig. 2.36
Voie de la sécrétion provoquée et constitutive.



hormone hypoglycémiant. L'exocytose se déroule uniquement dans la région de la membrane plasmique qui contient des sites récepteurs stimulés par les ligands.

La migration des vésicules d'exocytose. — Elle dépend de la concentration en Ca^{++} . La fixation des ligands sur les sites récepteurs augmente la concentration des ions Ca^{++} . Ces ions, contenus soit dans le REL, soit dans le milieu extracellulaire, pénètrent dans le cytoplasme par des canaux ioniques voltage-dépendants. L'augmentation de la concentration en calcium joue un rôle essentiel dans la migration des vésicules en direction de la membrane plasmique et provoque la fusion de la membrane vésiculaire avec la membrane plasmique. De nombreuses cellules à sécrétion interne ou externe excrètent leur produit dans de telles conditions (glandes salivaires, acini pancréatiques, médullo-surrénale, etc.).

Nature des produits transportés. — Ils sont soit des grains de sécrétion, soit des produits exogènes. Parmi les produits endogènes (grains de sécrétion), on peut citer le mucigène (précurseur du mucus), des enzymes, des hormones, etc. Les produits exogènes ont été capturés par endocytose et sont rejetés après avoir traversé la cellule, en ayant subi ou non une lyse enzymatique.

■ Mécanisme moléculaire de l'exocytose

Les grains de sécrétion traversent le cortex cellulaire pour fusionner avec la membrane plasmique.

Dépolymérisation des microfilaments d'actine

Au cours de cette phase, les filaments d'actine du cortex cellulaire (c'est-à-dire la région sous-membranaire), qui empêchent l'exocytose, subissent une dépolymérisation locale provoquée par la gelsoline activée par les ions calcium. Ceci permet l'accès à la membrane plasmique.

Transport des vésicules par les microtubules et la kinésine

La voie d'accès à la membrane plasmique étant dégagée, la vésicule se déplace pour adhérer à la face interne de la membrane plasmique. Cette migration s'effectue grâce à la kinésine qui se déplace sur les microtubules en direction de leur extrémité positive, située au voisinage de la membrane plasmique.

Fusion des membranes plasmique et vésiculaire

La fusion d'une vésicule sécrétoire avec la membrane plasmique requiert un grand nombre de protéines agissant selon une séquence probablement bien définie mais encore mal connue. Cette phase nécessite en effet la présence de protéines fusogènes, de protéines d'amarrage qui ancrent les vésicules au site membranaire d'exocytose, de protéines cytosoliques qui reconnaissent les protéines d'amarrage, de l'ATP et des petites protéines G qui régulent la fusion (voir « Appareil de Golgi », chapitre 9, « Adressage des vésicules aux membranes »).

Les modèles de description de la fusion

Actuellement deux groupes de modèles, les « modèles de proximité » et les modèles « pore de fusion », sont proposés pour expliquer le mécanisme de la fusion des membranes vésiculaire et plasmique (fig. 2.37).

Les modèles de proximité. — Au cours de la fusion, il existe toujours une étape intermédiaire d'hémifusion, pendant laquelle les feuilletts opposés de chacune des doubles couches ont fusionné, pour former une nouvelle double couche hybride qui

Fig. 2.37

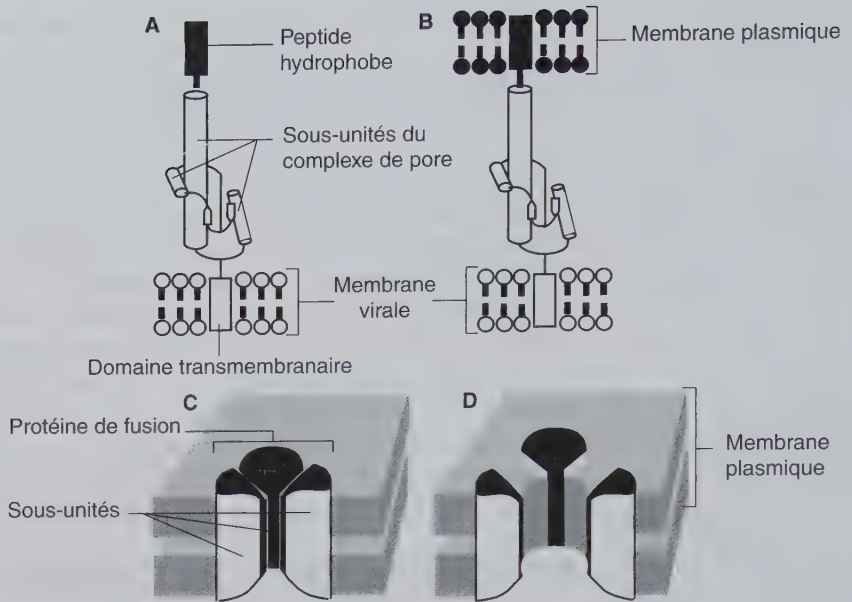
Fusion membranaire.

A. Protéine de fusion du virus de la grippe : cette protéine possède un domaine transmembranaire situé dans la membrane virale et un peptide hydrophobe.

B. Le peptide hydrophobe s'insère dans la membrane plasmique.

C. Les sous-unités de la protéine de fusion, situées entre les deux membranes qui vont fusionner, s'insèrent dans chacune des membranes et forment un pore aqueux.

D. Les sous-unités s'écartent l'une de l'autre et les molécules lipidiques pénètrent entre les sous-unités.



■ Des études électrophysiologiques, associées à des mesures fluorimétriques, démontrent que le **pore de fusion** a une taille initiale comparable à celle d'un canal ionique. L'exocytose d'une simple vésicule provoque un accroissement de la capacitance électrique de la membrane plasmique au moment de l'ouverture du pore de fusion, lorsque la vésicule ajoute sa membrane à la membrane plasmique. L'augmentation de la capacitance membranaire est suivie, occasionnellement, par une baisse de la même amplitude, comme si le pore de fusion s'ouvrait et se fermait très rapidement (vacillement de la capacitance).

sépare la cavité vésiculaire du milieu extracellulaire. Cette double couche lipidique doit être percée pour former une connexion aqueuse.

Les modèles « pore de fusion ». — L'intervalle, compris entre les membranes qui fusionnent, contient un complexe protéique hypothétique, dont les extrémités opposées pénètrent dans chacune des membranes opposées. Ce complexe comprend des sous-unités à disposition radiaire. Après activation, le complexe constituant le pore de fusion subit un changement conformationnel, de telle sorte qu'un canal aqueux relie les deux compartiments.

Les données électrophysiologiques sont en faveur de ces modèles « pore de fusion ». Le **pore de fusion** est un raccordement aqueux, pas plus large qu'un canal ionique, qui se forme entre la lumière de la vésicule et l'espace extracellulaire, au début de la fusion. L'élargissement du pore se produit grâce à un déplacement radiaire des sous-unités protéiques du complexe. Il est logique de penser que des protéines spécialisées (protéines de fusion) interviennent, puisque, dans les conditions habituelles, les membranes des différents organites ne fusionnent jamais entre elles. De plus, les virus qui possèdent une enveloppe contiennent, dans celle-ci, une protéine de fusion (protéine fusogène).

Le virus de la grippe, par exemple, se fixe sur des sites récepteurs de la membrane plasmique avant de pénétrer dans la cellule. Puis il se dirige vers les endosomes : la protéine fusogène provoque la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane de l'endosome. De telles protéines de fusion n'ont pas encore été isolées dans les cellules.

L'exocytose assure l'excrétion dans le milieu extracellulaire (sécrétion endocrine ou exocrine) de produits endogènes (élaborés par la cellule) ou exogènes. Cette exocytose peut être constitutive (sécrétion continue) : les vésicules de la sécrétion continue sont recouvertes d'un manteau de COPs. Elle peut être contrôlée (sécrétion discontinue, car induite par un stimulus) : les vésicules sont recouvertes de clathrine. Dans les deux cas, les vésicules sont déshabillées avant de fusionner avec la membrane plasmique.

■ Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique apicale

Les spécialisations de la membrane plasmique apicale sont des différenciations de cette membrane et du cytoplasme superficiel, qui permettent à la cellule d'assurer une ou plusieurs fonctions précises.

La membrane plasmique apicale se spécialise. Ces différenciations comprennent :

- les microvillosités, isolées ou très nombreuses à la surface de la cellule (plateau strié, bordure en brosse),
- les stéréocils,
- les cils vibratiles (voir chapitre 12 « Le centrosome et ses dérivés »).

Les microvillosités

Les microvillosités sont des expansions cytoplasmiques cylindriques (d'environ 1 μm de longueur et de 0,1 μm de diamètre), limitées par la membrane plasmique apicale, occupées en leur centre par un faisceau de MFs. Elles magnifient considérablement la surface de la membrane plasmique.

■ Les microvillosités isolées

Les microvillosités sont parfois isolées. La membrane apicale ne dessine alors que quelques microvillosités distantes les unes des autres. Ces microvillosités se caractérisent par l'irrégularité de leur forme, l'inégalité de leur longueur et de leur diamètre. Ces microvillosités possèdent diverses fonctions. Ainsi, les leucocytes, qui franchissent l'endothélium par diapédèse, émettent des microvillosités qui interagissent avec l'endothélium vasculaire. La diapédèse comprend en effet :

- une phase de roulement à la surface de l'endothélium vasculaire,
- une phase d'activation des signaux qui provoque une augmentation de la quantité d'intégrines,
- une phase d'adhérence étroite avec la membrane des cellules endothéliales,
- une phase de migration transépithéliale.

C'est au cours de la phase de roulement que les leucocytes développent des microvillosités. La membrane de ces microvillosités porte des molécules d'adhésion (la L-sélectine) : elles interviennent dans les contacts temporaires qui se produisent entre les leucocytes et l'endothélium.

■ Les microvillosités groupées

Groupées, les microvillosités recouvrent toute la surface libre (la membrane basale du pôle apical) de la cellule (fig. 2.38A) : l'identité de forme, de longueur, de diamètre, de direction des microvillosités, caractérise ces groupements. Elles constituent le plateau strié des entérocytes et la bordure en brosse des tubes contournés du rein.

Le plateau strié des entérocytes

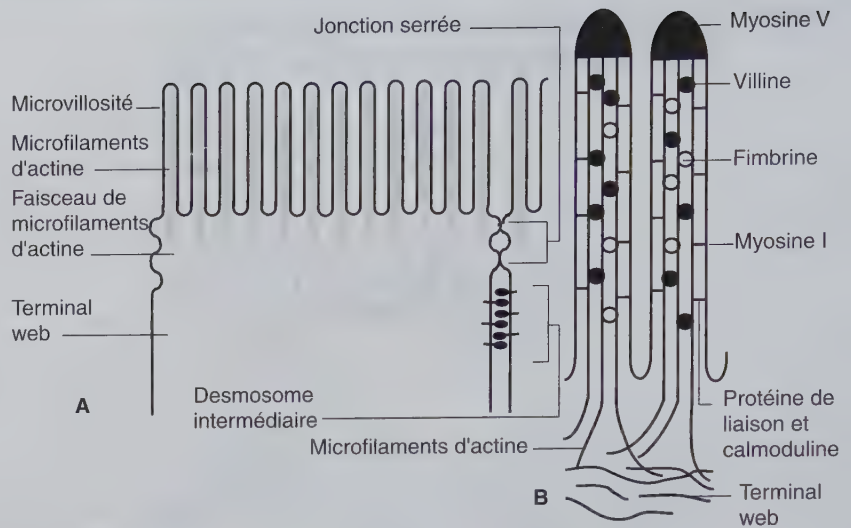
Il absorbe les nutriments. Une zone à striation perpendiculaire à la surface cellulaire recouvre les entérocytes. Cette observation en microscopie optique s'explique en réalité par la présence de très nombreuses microvillosités, en moyenne 1 500 par

Fig. 2.38

Plateau strié (le cell coat n'est pas représenté).

A. Les microfilaments d'actine groupés en faisceaux dans les microvillosités se répartissent dans le terminal web.

B. Organisation des filaments d'actine et des protéines de liaison de l'actine.



entérocyte dans le jéjunum, 3 000 dans l'iléon. Le cytoplasme de la microvillosité comprend :

- une zone périphérique dépourvue de structure, de 20 à 30 nm d'épaisseur,
- une zone centrale qui contient 10 à 50 microfilaments d'actine groupés en faisceaux (leur disposition est fréquemment hexagonale).

Ces faisceaux sont dépourvus de tropomyosine et d' α -actinine. Des molécules, la *villine* et la *fimbrine* (fig. 2.38B) unissent les microfilaments. La villine, en présence d'un faible taux de calcium, polymérise les microfilaments d'actine dans les microvillosités et les unit en faisceaux. La fimbrine (PM 68 kDa) réunit les microfilaments d'actine en faisceaux résistants (une molécule de fimbrine pour 10 monomères d'actine).

Des molécules d'une ATPase filamenteuse, activée par l'actine et formée par un complexe calmoduline/protéine appartenant à la classe des myosines I, réunissent le faisceau de microfilaments d'actine à la face interne de la membrane de la microvillosité.

Ces faisceaux interviennent dans le maintien de la forme de la microvillosité. Leur pôle positif est englobé, à l'apex des microvillosités, dans une substance amorphe qui contiendrait une myosine V (cette myosine existe aussi dans le terminal web, une structure constituée par des éléments fibrillaires du cytosquelette qui cheminent parallèlement à la surface du pôle apical juste au-dessous des microvillosités). Le mode d'insertion des filaments d'actine dans la membrane, à l'extrémité des microvillosités, est vraisemblablement complexe.

Les bordures en brosse

Elles revêtent le pôle apical des cellules des tubes proximaux. Les microvillosités des bordures en brosse diffèrent des précédentes par leur plus grande longueur. Le fond de l'espace intermicrovillositaire, au lieu de courir transversalement, s'invagine fréquemment.

Le rôle des microtubules

La différenciation des microvillosités dépend de l'intégrité des microtubules. Les microtubules sont orientés uniformément vers un espace étroit, l'espace subterminal, situé au-dessous du terminal web. Cet espace contient les éléments

nécessaires à l'organisation de microtubules et contrôle l'alignement polarisé des microtubules. La colchicine ou la vinblastine provoque une dépolymérisation des microtubules, de telle sorte que des protéines apicales (phosphatase alcaline, sucrase, isomaltase) se retrouvent cantonnées dans le pôle basal de la cellule. Les microvillosités du pôle apical se différencient tandis que de nombreuses microvillosités se différencient au pôle basal.

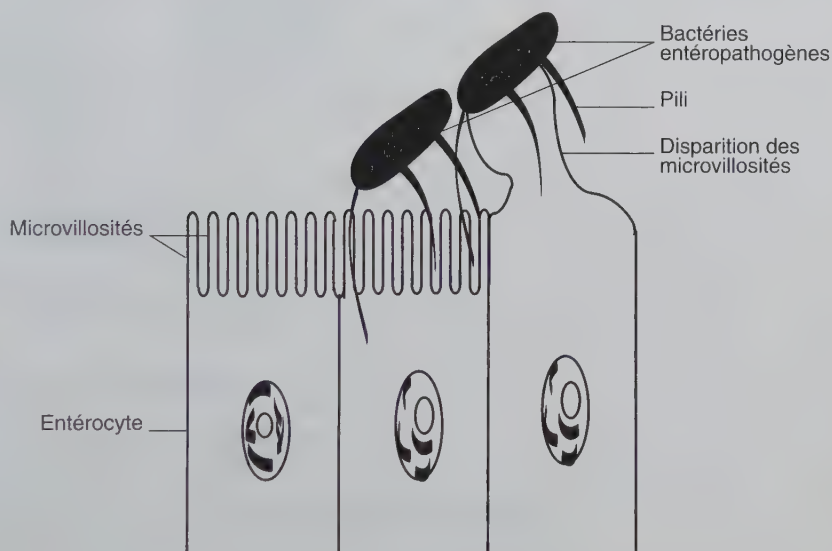
Dédifférenciation pathologique des microvillosités

Certaines bactéries provoquent la diarrhée par dédifférenciation des microvillosités des entérocytes. *Escherichia coli* entérotoxigène (EPEC : Enteropathogenic *Escherichia coli*) est une des principales causes de diarrhée et de mortalité infantile dans les pays en voie de développement. EPEC se fixe sur les entérocytes par l'intermédiaire de BFP (bundle-forming pili; pili formant un faisceau).

Les *pili* ou *fimbriæ* sont des fibres rigides d'un diamètre d'environ 5 nm, situées à l'un de pôles de la cellule bactérienne (fig. 2.39).

Fig. 2.39

Bactéries entérotoxigènes et entérocytes. La liaison Tir/intimine permet une jonction intime entre la bactérie et l'entérocyte et déclenche la formation d'une colonne de filaments d'actine (en haut et à droite), d'une dizaine de microns de longueur : cette liaison induit aussi une disparition des microvillosités (cellule située au-dessus de la bactérie indiquée par une flèche).



Les pili sont responsables des propriétés d'adhérence des bactéries à la surface des tissus épithéliaux et à la membrane des cellules phagocytaires. Après l'étape d'adhérence, les bactéries entérotoxigènes transloquent, dans les cellules épithéliales, la protéine Tir qui jouera le rôle de récepteur membranaire pour un composant de leur propre paroi, l'intimine. Ce récepteur Tir est phosphorylé dans la cellule épithéliale, à la suite d'une cascade de signalisations induites par des protéines bactériennes sécrétées. La liaison Tir/intimine permet une jonction intime entre la bactérie et l'entérocyte et déclenche la formation d'une colonne ou piédestal de filaments d'actine, d'une dizaine de microns de longueur. Les microvillosités disparaissent, ce qui entraîne une diarrhée par malabsorption.

Ces bactéries pathogènes transfèrent donc leur propre récepteur à la cellule cible, détournent la machinerie de transduction du signal de cette dernière et provoquent un réarrangement du cytosquelette.

Les stéréocils

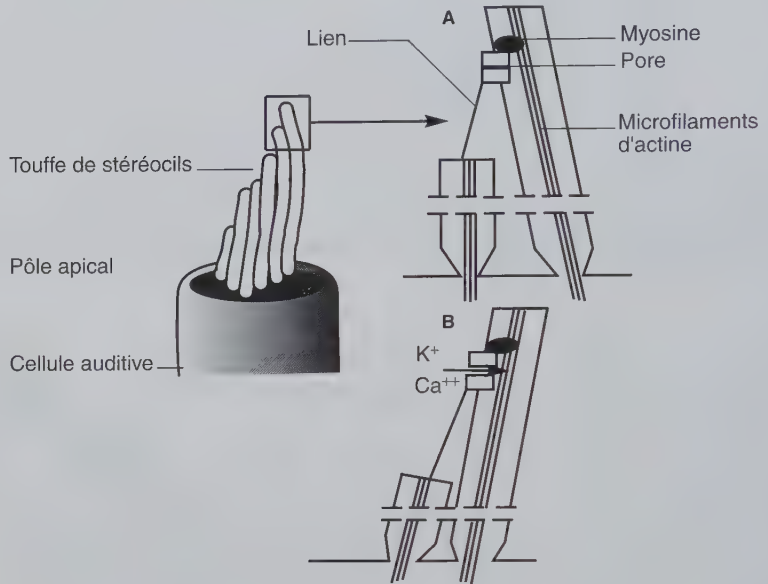
Les stéréocils sont de longues expansions cytoplasmiques immobiles, ressemblant par leur forme à de grandes microvillosités (fig. 2.40) : ils s'agglutinent par touffes à la surface, par exemple, des voies excrétrices de l'appareil génital mâle ou dans certains organes sensoriels où ils ont été beaucoup plus étudiés.

Fig. 2.40

Cellule auditive. Les stéréocils sont associés les uns aux autres par des liens.

A. Les deux stéréocils n'ont subi aucun déplacement : le pore est fermé.

B. Un déplacement ouvre le pore : des ions K^+ et Ca^{++} peuvent pénétrer.



■ Disposition des stéréocils des cellules auditives

La face apicale des cellules auditives porte des rangées parallèles de stéréocils, d'inégale longueur, disposés en ordre croissant, associés les uns aux autres (chaque rangée a la forme de la lettre V). Les stéréocils adhèrent, par leur extrémité libre, à la *membrana tectoria*. Dans la même rangée, ils sont reliés latéralement, surtout au voisinage de leur extrémité, par des liens perpendiculaires à leur axe. Un autre ensemble de liens associe les stéréocils de rangées différentes. De plus, l'extrémité des stéréocils les plus courts est liée à l'extrémité du stéréocil le plus grand de la rangée voisine.

■ Composition de l'axe des stéréocils

L'axe des stéréocils est occupé par un faisceau de fibres d'actine unies les unes aux autres par des molécules de fimbrine. Des molécules de myosine sont associées à des protéines intramembranaires de liaison de la myosine. Des canaux cationiques sont localisés dans la membrane plasmique de l'extrémité des stéréocils.

■ Transformation des vibrations sonores en potentiel d'action

Les stéréocils transforment les vibrations sonores en potentiel d'action. Quand un stimulus mécanique (une vibration sonore) plie un groupe de stéréocils vers le stéréocil le plus long (déplacement positif), une traction tend les liens qui unissent les stéréocils adjacents. Cette traction provoque l'ouverture des canaux ioniques (canal ionique à ouverture mécanique). Les ions K^+ et Ca^{++} pénètrent dans la

cellule et déclenchent la formation de complexes d'actomyosine qui développent une force de tension. Le déplacement des stéréocils induit une augmentation du voltage de la membrane : cette augmentation est transmise aux fibres nerveuses qui se terminent au contact de la cellule.

La déviation des stéréocils en direction du stéréocil le plus court, déplacement négatif, provoque une diminution de la tension de liaison entre les stéréocils et de la transduction du potassium et du calcium.

Microvillosités, stéréocils, cils sont des différenciations du pôle apical. Les microvillosités, expansions cylindriques contenant un faisceau de MFs, existent isolément dans de nombreuses cellules, en particulier dans les leucocytes où elles interviennent dans les mouvements de roulement à la surface de l'endothélium. Groupées dans le plateau strié des entérocytes, elles assurent l'absorption des nutriments. Leur destruction par des bactéries entéropathogènes (EPEC) provoque une diarrhée par malabsorption. Les stéréocils des cellules auditives transforment les vibrations mécaniques en un potentiel d'action, grâce à l'ouverture mécanique de canaux ioniques K^+ et Ca^{++} qui dépend des MFs axiaux et de molécules de myosine.

Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique baso-latérale

Le pôle basal d'une cellule épithéliale repose sur une lame basale continue qui contient du collagène de type IV et VII, de la laminine, des protéoglycanes, des glycoprotéines. La membrane plasmique du pôle basal présente deux types de différenciation : les *hémidesmosomes* qui attachent la cellule à la lame basale et des *replis* particulièrement développés.

Les hémidesmosomes

Voir « Les jonctions intercellulaires ».

Les replis de la membrane plasmique basale

Dans la majorité des épithéliums, la membrane plasmique du pôle basal de la cellule, linéaire, non spécialisée, court parallèlement à la lame basale.

Lorsque les cellules épithéliales participent activement à des échanges hydrominéraux dans le sens cellule → matrice (tube contourné proximal du rein, par exemple), la membrane plasmique dessine des replis plus ou moins profonds qui pénètrent dans le cytoplasme basal et le divisent en compartiments ouverts vers le cytoplasme (fig. 2.41). Les récepteurs des hormones, qui contrôlent ces échanges, se localisent dans ces membranes, tandis que de nombreuses mitochondries, qui fournissent l'ATP nécessaire, occupent ces compartiments.

La longueur et la complexité de ces replis dépendent de l'importance des échanges.

Les jonctions et engrènements des faces latérales

La cohésion des faces latérales est assurée par des jonctions et des engrènements. Voir « Les jonctions intercellulaires » et fig. 2.42.

Fig. 2.41

Pôle basal d'un tube excréteur rénal (tube proximal. $\times 24\ 000$).

1. Invagination membranaire.
2. Compartiment.
3. Mitochondrie.
4. Lamelle basale.
5. Endothélium vasculaire fenêtré.
6. Hématie.

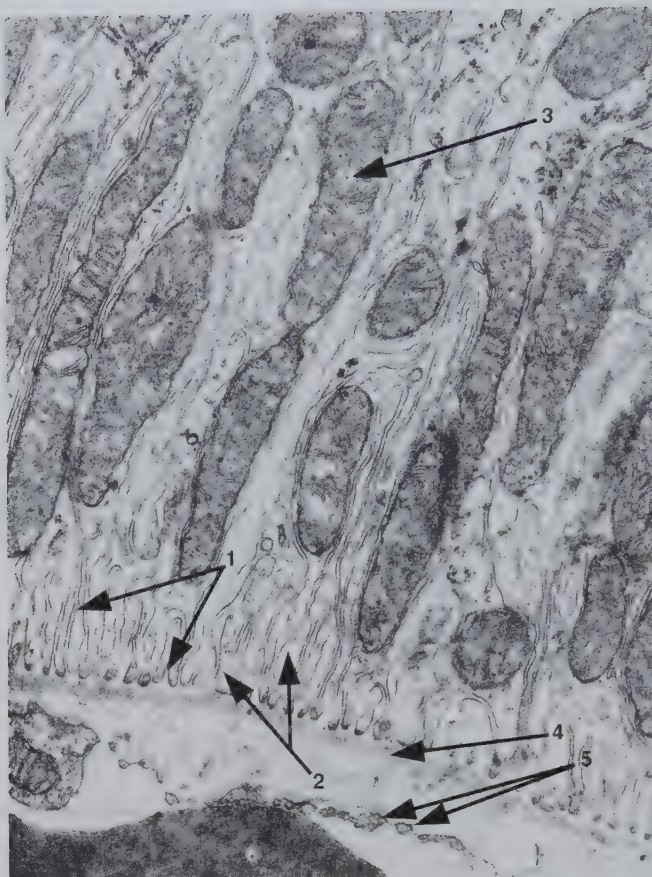
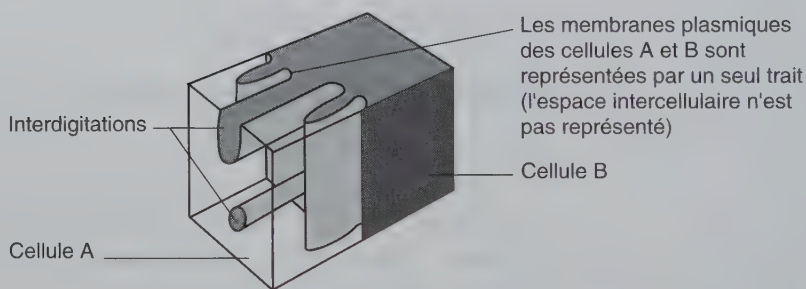


Fig. 2.42

Interdigitations permettant à deux cellules A et B de s'engrener l'une dans l'autre.



■ Rôle des engrènements dans l'adhérence des cellules

Les membranes cellulaires qui s'affrontent sont souvent rectilignes : cependant, par places, elles suivent un contour sinueux (interdigitation), de telle sorte que deux cellules voisines s'engrènent. Ces engrènements augmentent la surface de contact entre deux cellules et, de ce fait, leur adhérence l'une avec l'autre, puisque les membranes portent des molécules d'adhérence en relation avec les éléments du cytosquelette. Il s'agit d'un système d'adhérence très labile.

■ Autres fonctions des engrènements

Les engrènements constituent une réserve de membrane plasmique. Cette réserve est utilisable en cas d'expansion de la cavité que les cellules limitent (épithélium vésical). L'accroissement de la surface membranaire, au niveau des engrènements, facilite aussi le transport des matériaux vers ou à partir de la cellule.

Dans certains épithéliums, comme celui du col ou du vagin, les digitations donnent des images extrêmement complexes : les espaces compris entre les cellules se comportent comme des canalicules, fonctionnellement très importants dans la nutrition et le métabolisme de l'épithélium.

Les différenciations du pôle basal correspondent essentiellement aux hémidesmosomes et replis multiples qui divisent le cytoplasme basal de certaines cellules (tubes contournés du rein). Les faces latérales sont unies par des jonctions et par des engrènements qui réalisent une réserve de membrane et facilitent le transport de matériaux.

■ La membrane plasmique et les échanges d'informations

Les informations sont des signaux de nature protéique (molécules informatives) qui se fixent soit sur un récepteur activateur, soit sur un récepteur inhibiteur. Grâce à ces signaux d'information, les cellules se reconnaissent entre elles, adhèrent les unes avec les autres, modifient leur activité.

Les divers types de signaux d'information

■ Le signal endocrine

La cellule « émettrice » de l'information, distante de la cellule « réceptrice », émet un signal dont la transmission se fait par l'intermédiaire d'une hormone acheminée par le système circulatoire (fig. 2.43).

■ Le signal paracrine

La cellule « réceptrice », voisine de la cellule « émettrice », reçoit le signal émis par cette dernière (fig. 2.43); les informations se transmettent alors :

- par voie nerveuse (neuronale), entre deux cellules nerveuses ou entre une cellule nerveuse et une cellule n'appartenant pas au système nerveux, par exemple une cellule glandulaire (transmission synaptique électrique ou chimique);
- par l'intermédiaire ou non de jonctions communicantes (gap-jonctions) unissant deux cellules non nerveuses.

■ Le signal autocrine

Pendant le développement embryonnaire, chaque cellule en cours de différenciation envoie des signaux susceptibles de renforcer cette différenciation en se fixant sur ses propres récepteurs (fig. 2.43). Cette transmission autocrine existe aussi chez l'adulte. Ces signaux sont des médiateurs chimiques locaux qui comprennent l'histamine, la sérotonine (sécrétées par les mastocytes), des facteurs de croissance et les eicosanoïdes.

Synthèse des eicosanoïdes

Les eicosanoïdes (qui regroupent les prostaglandines, les prostacyclines, les thromboxanes et les leucotriènes) sont des molécules informatives synthétisées

Fig. 2.43

Les divers types d'échanges d'informations.

A. Transmission endocrine du signal.

B. Transmission paracrine:

1. entre des cellules voisines;

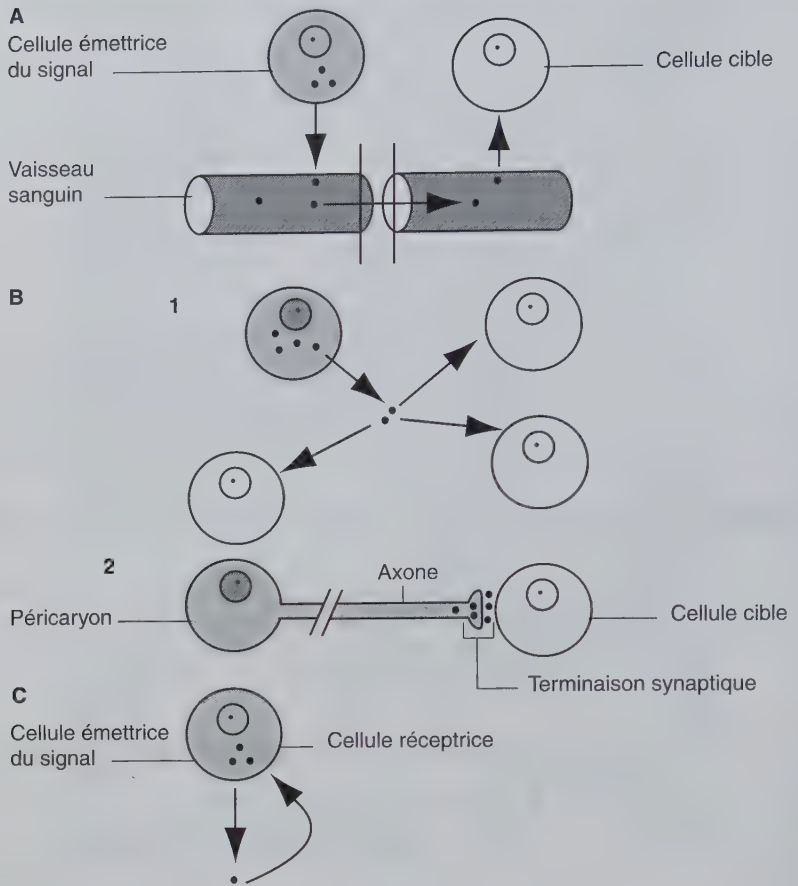
2. entre une cellule nerveuse

et une cellule réceptrice

(décrite aussi sous le terme

de transmission synaptique).

C. Transmission autocrine.



continuellement par la membrane plasmique de cellules appartenant à des Mammifères. Ils assurent la transmission d'informations entre des cellules appartenant à un même type.

La synthèse des eicosanoïdes s'effectue dans la membrane plasmique à partir d'acides gras ayant 20 atomes de carbone et possédant au moins 3 doubles liaisons. La transduction de divers stimuli augmente quantitativement la synthèse des eicosanoïdes : cette transduction active une phospholipase A2 (PLA2) qui agit sur ces phospholipides membranaires, libère l'acide arachidonique et permet la synthèse subséquente d'eicosanoïdes grâce à deux voies de synthèse différentes :

- la voie dépendant de la cyclo-oxygénase, qui agit sur l'acide arachidonique pour aboutir à la formation des prostaglandines, des prostacyclines et des thromboxanes; la cyclo-oxygénase existe sous deux formes : une forme constitutive COX-1 (présente dans la cellule sous certaines conditions physiologiques normales) et la forme COX-2 (induite par quelques cytokines, des mitogènes et des endotoxines dans des conditions pathologiques);

- la voie dépendant de la lipoxygénase, qui agit sur l'acide arachidonique pour aboutir à la formation des *leucotriènes*.

Effets des eicosanoïdes

Les eicosanoïdes interviennent dans des processus physiologiques (contraction des cellules musculaires lisses, agrégation des plaquettes) et dans des processus pathologiques (douleur, fièvre, inflammation).

L'aspirine, agent antalgique, anti-inflammatoire non stéroïdien, agit sur la douleur en bloquant la cyclo-oxygénase.

Les corticostéroïdes, par contre, agissent sur la douleur par inhibition de la PLA2 et donc de la formation d'acide arachidonique.

Le thromboxane A2, puissant agoniste plaquettaire et vasoconstricteur, exerce son activité par l'intermédiaire de récepteurs couplés à la protéine G.

Les eicosanoïdes libérés à partir d'une cellule activent les récepteurs des cellules voisines, qui interagissent les unes avec les autres au cours d'un mécanisme de répliques (cross-talk phenomenon).

Les signaux, molécules protéiques porteuses d'informations, peuvent être transportés à distance par le sang (signal endocrine), transmis à une cellule voisine (signal paracrine) ou à la cellule émettrice (signal autocrine).

La classification des récepteurs membranaires

Les récepteurs membranaires sont classés en fonction de leur nature et de leur organisation : par exemple, les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR : G protein-coupled receptor), les récepteurs-enzymes (guanylylcyclase, tyrosine kinases, sérine/thréonine kinases), les récepteurs canaux, les récepteurs des cytokines, etc.

■ La famille GPCR

Les GPCRs constituent la famille la plus nombreuse. Plus de mille gènes codent ces récepteurs (0,1 % du génome). Ces récepteurs assurent la reconnaissance de signaux provenant de notre environnement (saveurs amères, sucrées ou salées, lumière, odeurs). Les GPCRs reconnaissent ainsi des signaux ou messages très variés (photons, ions, molécules odoriférantes, acides aminés et dérivés, nucléotides, nucléosides, lipides, peptides et protéines).

Subdivision de la famille GPCR

Les GPCRs se classent en trois groupes.

Le groupe I comprend la majorité des GPCRs, localisés dans la membrane des cellules olfactives, des cellules visuelles, cônes et bâtonnets (la rhodopsine), les récepteurs β -adrénergiques, les récepteurs de nombreux peptides.

Le groupe II comprend des récepteurs hormonaux d'hormones peptidiques comme la sécrétine, l'hormone parathyroïdienne, le PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide; polypeptide activant l'adénylate cyclase pituitaire).

Le groupe III comprend des récepteurs du glutamate et un récepteur sensible à la concentration du Ca^{++} plasmatique et urinaire.

Mode d'action

Schématiquement, tous les GPCRs agissent selon le même schéma (fig. 2.44). La fixation d'un ligand (décrit comme premier messenger) sur le récepteur provoque

Fig. 2.44

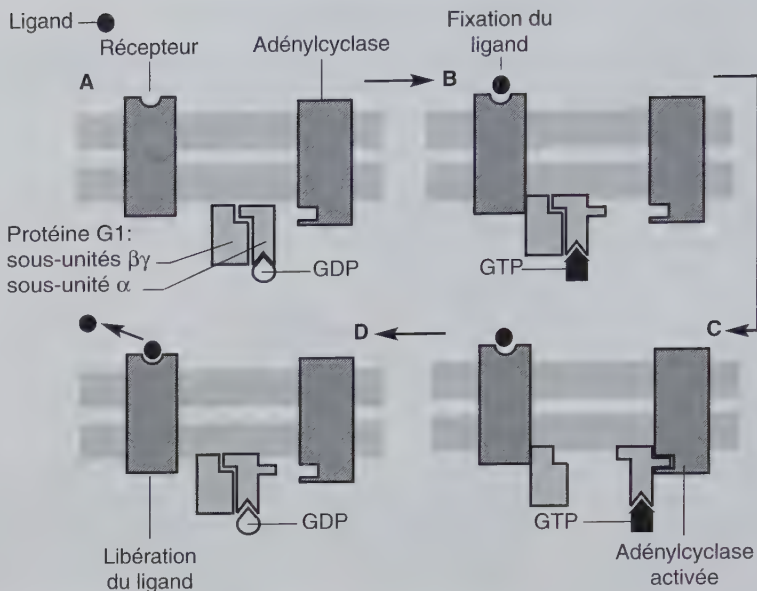
Phase membranaire de l'activation d'un récepteur (voie adénylcyclase AMPc).

A. Disposition des molécules (protéine réceptrice, protéine G1, adénylcyclase) avant la fixation du ligand.

B. Le récepteur activé par le ligand se combine avec la protéine G1. Le GDP est échangé contre GTP.

C. La sous-unité α se sépare des sous-unités $\beta\gamma$, se déplace en direction de l'adénylcyclase et l'active en se combinant avec elle.

D. L'hydrolyse de GTP en GDP permet la reconstitution du complexe $\alpha\beta\gamma$.



l'activation d'un transducteur qui transduit le signal à un effecteur. Celui-ci provoque l'augmentation de la concentration d'un second messenger.

Le transducteur, une protéine G hétérotrimérique. — À l'état inactif, les protéines G hétérotrimériques sont situées dans le cytoplasme sous-membranaire, ancrées *via* une chaîne d'acide gras. Elles se composent de trois sous-unités différentes (α , β , γ). La sous-unité α ($G\alpha$) est associée au GDP. L'activation du récepteur stimule la libération du GDP qui est remplacé par du GTP. Le complexe formé par le récepteur, la sous-unité α -GTP ($G\alpha$ -GTP) et le complexe $\beta\gamma$ se dissocie. $G\alpha$ -GTP ainsi libérée s'associe à son effecteur (adénylcyclase, PLC, PLA) et, selon la nature de la protéine G, stimule ($G_{\alpha s}$) ou inhibe ($G_{\alpha i}$) son activité. La sous-unité $\beta\gamma$ reste ancrée à la membrane *via* sa chaîne d'acide gras et participe aussi, par des mécanismes moins connus, à la transduction de signaux.

Effecteurs et seconds messagers. — L'activation de l'effecteur induit l'augmentation de la concentration d'un second messenger, qui agit sur des effecteurs secondaires.

Ce second messenger peut être :

- l'AMPc (adénosine 3'-5' monophosphate cyclique, un dérivé phosphorylé de l'adénine) dans la voie de l'adénylcyclase; par exemple, la sérotonine 5-HT (5-hydroxytryptamine) est reconnue par un récepteur 5-HTR (5-hydroxytryptamine receptor; récepteur de la 5-hydroxytryptamine); le complexe 5-HT/5-HTR, par l'intermédiaire de la protéine G_s (s pour stimulatrice), active l'adénylcyclase; l'adénylcyclase déclenche la production de l'AMPc qui provoque une cascade de réactions enzymatiques parmi lesquelles l'activation de la PKA;
- l'acide arachidonique dans la voie phospholipase A2, qui aboutit à l'élaboration des eicosanoïdes;
- l'inositol triphosphate (IP3) et le diacylglycérol (DAG) dans la voie phospholipase C β : IP3 libère le Ca^{++} tandis que DAG active la protéine kinase C.

Retour à l'état inactif. — L'hydrolyse du GTP en GDP interrompt l'interaction $G\alpha$ -GTP/effecteur. $G\alpha$ -GDP s'associe alors à $\beta\gamma$ et met fin à l'association de $\beta\gamma$ avec

son propre effecteur. La forme inactive, trimérique et sous-membranaire, est reconstituée.

■ Les récepteurs-enzymes

Les récepteurs-enzymes sont des récepteurs qui, lorsqu'ils sont activés par la fixation d'un ligand (facteur de croissance [PDGF, NGF], insuline), développent une activité enzymatique.

Certains de ces récepteurs agissent comme des enzymes (le récepteur est lui-même une protéine kinase), d'autres sont couplés à des enzymes, à des protéines kinases. Ces récepteurs possèdent un seul segment intramembranaire, une extrémité extracellulaire réceptrice du ligand et une extrémité intracellulaire à activité catalytique. En fonction de la nature de l'activité enzymatique, on distingue les récepteurs à activité tyrosine kinase, sérine/thréonine kinase, guanylate-cyclase, etc.

Les récepteurs à activité tyrosine kinase

Les récepteurs à activité tyrosine kinase recrutent, sous la membrane plasmique, de nombreuses protéines de la machinerie de transduction du signal; ils stimulent aussi leur propre internalisation (endocytose induite).

Le mode d'action du récepteur au PDGF est un des mieux connus. La fixation du ligand induit la dimérisation du récepteur qui s'autophosphoryle sur des tyrosines dans sa partie cytoplasmique. Les tyrosines phosphorylées du récepteur constituent alors des sites de haute affinité pour des protéines contenant le domaine d'interaction SH2 (src-homology domain 2; domaine homologue à Src). Certaines (Src, PLC γ) sont des enzymes qui sont recrutées puis activées par phosphorylation, d'autres sont des protéines adaptatrices qui recrutent, secondairement sous la membrane, d'autres protéines de la transduction du signal. Grb2 (growth factor receptor-bound protein 2; protéine liée à un récepteur de facteur de croissance) est une telle protéine adaptatrice: elle s'associe à une tyrosine phosphorylée du récepteur activé par son domaine SH2 et elle interagit par son domaine SH3 avec Sos. Sos est un facteur d'échange de la petite protéine G Ras. Sos se trouve donc transloqué à proximité de sa cible (Ras est en effet ancré en permanence à la membrane) et l'active. La stimulation de la voie Ras permet la transduction du signal mitogénique du PDGF jusque dans le noyau (*via* Raf et les MAP kinases) où des facteurs de transcription, tels que c-jun, seront activés.

Ces récepteurs à activité tyrosine kinase migrent ensuite vers les puits recouverts de clathrine. Les complexes ligands/récepteurs subissent une endocytose, par internalisation de la membrane plasmique qui forme des vésicules d'endocytose à manteau.

Les récepteurs à activité sérine/thréonine kinase (récepteur du TGF β , par exemple) provoquent une phosphorylation des résidus sérine et, moins souvent, des résidus thréonine de leur protéines cibles.

Les récepteurs à activité guanylate cyclase

La guanylate cyclase intervient dans les cellules pour reformer de la GMP cyclique lorsque celle-ci s'épuise. Par exemple, les canaux à Na⁺ (qui sont aussi perméables au Ca⁺⁺) des bâtonnets se ferment lorsque la stimulation lumineuse cesse: la baisse de concentration intracellulaire du Ca⁺⁺ stimule la guanylate cyclase qui reforme la GMP cyclique.

■ **Sos** signifie «son of sevenless». Il a en effet été découvert tout d'abord dans la voie de transduction induite par le récepteur à activité tyrosine kinase sevenless de drosophile. Sevenless a été ainsi nommé par les généticiens de la Drosophile, car les mouches contenant une mutation de ce gène présentent une altération du développement des cellules photoréceptrices R7 (seven) de l'œil. Ceci constitue un exemple du rôle de la transduction du signal par ce type de récepteur dans le développement embryonnaire.

■ Les récepteurs canaux ioniques ligand-dépendants

Voir « Les transports perméatifs ».

La fixation d'un premier messenger (molécule informative) sur un récepteur GPCR active l'adénylcyclase (molécule transductrice) qui intervient alors dans la synthèse d'un second messenger qui déclenchera l'action. Les récepteurs-enzymes sont soit des enzymes, soit associés à des enzymes : leur activation induit une action enzymatique.

■ Membrane plasmique et adhérence cellulaire

Mise en évidence et importance des phénomènes d'adhérence

L'adhérence cellule/cellule et cellule/matrice est un phénomène qui apparaît avec les Métazoaires. Les assemblages de cellules se réalisent dès le début du développement embryonnaire. Les molécules d'adhésivité assurent l'adhérence entre les cellules ou entre les cellules et un substrat. Ces molécules sont des récepteurs capables de se combiner avec des ligands qui leur sont spécifiques. Les cellules hépatiques, isolées les unes des autres, mises en suspension, se regroupent en agrégats. Mais elles ne peuvent former des agrégats avec des cellules provenant d'un autre organe. Ces expériences mettent en évidence un phénomène important, le lien entre la reconnaissance et l'adhérence. Elles ont permis également d'isoler toute une série de substances adhésives.

Classification des molécules d'adhésivité

Les molécules d'adhésivité se classent en CAMs (cell adhesion molecules; molécules d'adhésivité cellulaire) et en SAMs (substrate adhesion molecules; molécules d'adhésivité au substrat).

■ Les CAMs

Les CAMs sont des immunoglobulines, des cadhérines ou des sélectines.

La superfamille des immunoglobulines

Une immunoglobuline est un anticorps dont la molécule, constituée par une double chaîne protéique, est symétrique. Les molécules qui appartiennent à la superfamille des immunoglobulines contiennent des domaines extracellulaires très comparables à ceux des immunoglobulines. Cependant, elles ne possèdent pas de double chaîne protéique. Ces molécules interviennent dans les adhérences intercellulaires *homophiles* (liaisons avec des molécules du même type) et *hétérophiles* (liaisons avec des molécules d'un type différent).

Cette superfamille regroupe plus d'une trentaine de molécules adhésives qui sont identifiées ainsi que leurs ligands :

– Les *N-CAMs* (neural cell adhesion molecules; molécules d'adhésivité des cellules nerveuses) : elles furent les premières à être découvertes. Elles reconnaissent les ligands *N-CAMs*. Les molécules de la famille *N-CAM* sont abondantes dans le système nerveux mais aussi dans de très nombreux tissus. Leur interaction est homophile, indépendante du calcium : cependant elles peuvent se lier d'une manière hétérophile avec d'autres molécules. La délétion de *N-CAM* et de toutes ses isoformes chez la Souris provoque des anomalies du développement du système nerveux central et particulièrement du bulbe olfactif. *N-CAM* inhibe la multiplication des astrocytes en culture.

– *I-CAM-1, I-CAM-2* (intercellular-cell adhesion molecule; molécule d'adhésivité intercellulaire) : ces molécules, élaborées par des cellules hématopoïétiques, des kératinocytes et des cellules endothéliales, reconnaissent LEA-1 (lymphocyte function-associated antigen; antigène associé aux fonctions lymphocytaires), un récepteur faisant partie de la famille des intégrines.

– *MAG* (myelin associated glycoprotein; glycoprotéine associée à la myéline) : dans la fibre myélinisée, MAG interagit avec une sialoglycoprotéine axonale et stabilise à la fois la myéline et l'axone. MAG agit alors à la fois comme un récepteur et un ligand. MAG intervient dans la myélinisation. Au moment de l'initiation de la myélinisation, MAG (exprimée soit par une cellule de Schwann, soit par un oligodendrocyte) interagit avec un composant de l'axone (probablement une sialoglycoprotéine).

– *Ng-CAM/L1* (neuroglial cell adhesion molecule; molécule liant les neurones à la névroglie) : c'est une molécule dite secondaire, qui apparaît au moment de la neurogenèse. Cette protéine est exprimée par les neurones et les cellules de Schwann mais pas par les astrocytes. Elle est plus abondante à la surface des corps cellulaires et des axones au cours de la formation des nerfs. L'expression de Ng-CAM est considérablement augmentée par une lésion nerveuse. Les anticorps anti-Ng-CAMs inhibent la migration des cellules nerveuses. Son ligand n'a pas encore été identifié.

– *La contactine/F1* : c'est un récepteur du type protéine tyrosine phosphatase β exprimé dans le système nerveux en cours de développement, dont la molécule contient une séquence répétitive identique à celle de la fibronectine type III. Son ligand n'a pas encore été identifié.

Les cadhérines

Les cadhérines sont des glycoprotéines calcium-dépendantes. Elles sont impliquées dans des liaisons homophiles. Le site de liaison du Ca^{++} se fait sur le site aminoterminal. Les cadhérines apparaissent au cours de l'embryogenèse.

Il existe une cadhérine spécifique pour chaque type de tissus. La liste suivante ne fait mention que des cadhérines les mieux connues :

– la *L-CAM* (liver cell adhesion molecule; molécule d'adhésivité des cellules hépatiques) : elle existe dans d'autres organes que le foie; elle est aussi élaborée par les cellules de l'endoderme et les structures qui en dérivent comme la thyroïde et les poumons;

– la *cadhérine E* (E : épithélial) ou uvomoruline, qui participe aux phénomènes de compaction dans l'embryon de Souris au stade de 8 cellules; elle est exprimée ultérieurement par les cellules épithéliales;

– la *cadhérine N* (N : neurone);

– la *cadhérine P* (P : placenta);

– la *cadhérine K* (K : kidney; rein);

– la *cadhérine OB* (OB : ostéoblastes).

Elles interviennent dans les liaisons intercellulaires (desmosomes, etc.).

Les sélectines

Les sélectines sont calcium-dépendantes, impliquées dans la reconnaissance entre leucocytes et cellules endothéliales. Les sélectines sont impliquées dans des liaisons hétérophiles. Ce sont des récepteurs qui reconnaissent les parties glycaniques des glycoprotéines (ces parties glycaniques jouent un rôle très actif et spécifique comme signaux de reconnaissance). Elles sont aussi désignées par l'acronyme LEC-CAM

(L pour lectine, car l'extrémité carboxy-terminale du domaine extracellulaire de la molécule possède 15 acides aminés communs aux lectines; E pour EGF [epithelial growth factor; facteur de croissance épithéliale] en raison de l'analogie de structure d'un domaine extracellulaire de la molécule avec EGF; C pour complément).

La sélectine P est localisée à la surface des plaquettes, la sélectine E dans les endothéliums vasculaires, la sélectine L dans les lymphocytes.

Les sélectines interviennent dans des types de liaisons brèves de très haute spécificité : elles sont très rapidement lysées. Elles n'existent donc pas en permanence à la surface de la cellule, contrairement à toutes les autres molécules intervenant dans l'adhérence.

Ainsi, la thrombine et l'histamine provoquent, en quelques minutes, l'expression transitoire de la sélectine P à la surface des plaquettes, qui peuvent alors interagir avec les neutrophiles et les monocytes. La sélectine P disparaît par endocytose par les monocytes ou les neutrophiles, au maximum une heure après le stimulus.

Les sélectines interviennent aussi dans les inhibitions de contact en émettant un signal intercellulaire réciproque. Des cellules arrivant à confluence et occupant toute la surface du milieu de culture de la boîte de Pétri ne se divisent plus. Cette inhibition de contact intéresse toutes les cellules. Ce signal d'arrêt des divisions cellulaires est transmis par l'intermédiaire de ces protéines d'adhérence, qui constituent un réseau extrêmement efficace pour la transmission des signaux régulant la croissance et la différenciation. La cellule cancéreuse ne possède plus l'inhibition de contact : elle passe outre ce système de contrôle par adhésivité intercellulaire.

■ Les SAMs

Les SAMs regroupent les intégrines et les SAMs non-intégrines.

Les intégrines

Les intégrines sont des molécules glycoprotéiques multifonctionnelles. Elles interviennent non seulement dans l'adhérence des cellules (en présence de calcium), mais aussi dans leur migration, l'organisation du cytosquelette d'actine et la transduction de signaux extracellulaires.

Les membres de la famille des intégrines comprennent :

- les récepteurs de la fibronectine (VLA-5 : very late activation; activation très tardive) qui existent dans la majorité des cellules;
- les récepteurs de la laminine, localisés essentiellement dans la membrane des cellules épithéliales; la laminine permet l'ancrage des cellules, en particulier sur les lames basales;
- VLA-1, 2, 3, 4, récepteurs situés dans la membrane des lymphocytes T et d'autres cellules, qui interviennent dans l'adhérence cellulaire par fixation de la fibronectine ou de la laminine;
- les récepteurs de la vitronectine;
- la glycoprotéine IIb/IIIa élaborée par les plaquettes, dont les ligands connus sont la fibronectine, le fibrinogène, la vitronectine, le facteur de Willebrand; ce récepteur intervient dans l'adhérence et l'agrégation des plaquettes et la formation du caillot;
- Mac-1 (macrophage) élaboré par les monocytes, les macrophages, les cellules lymphoïdes; son ligand est le protomère C3bi (protomère de complément C3);
- LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen; antigène associé aux fonctions lymphocytaires) élaboré par les monocytes, les macrophages, les lymphocytes. Son ligand est l'adressine. Il intervient dans l'adhérence des leucocytes.

Les SAMs non intégrines

Elles regroupent diverses molécules, des protéoglycanes et des glycoprotéines (fibronectine, laminine, etc.).

L'adhérence cellule/matrice

L'adhérence entre la membrane plasmique et la matrice se fait grâce à des récepteurs membranaires des protéoglycanes et des glycosaminoglycanes extramembranaires, et grâce à des molécules mieux connues comme la fibronectine, la laminine, le collagène IV.

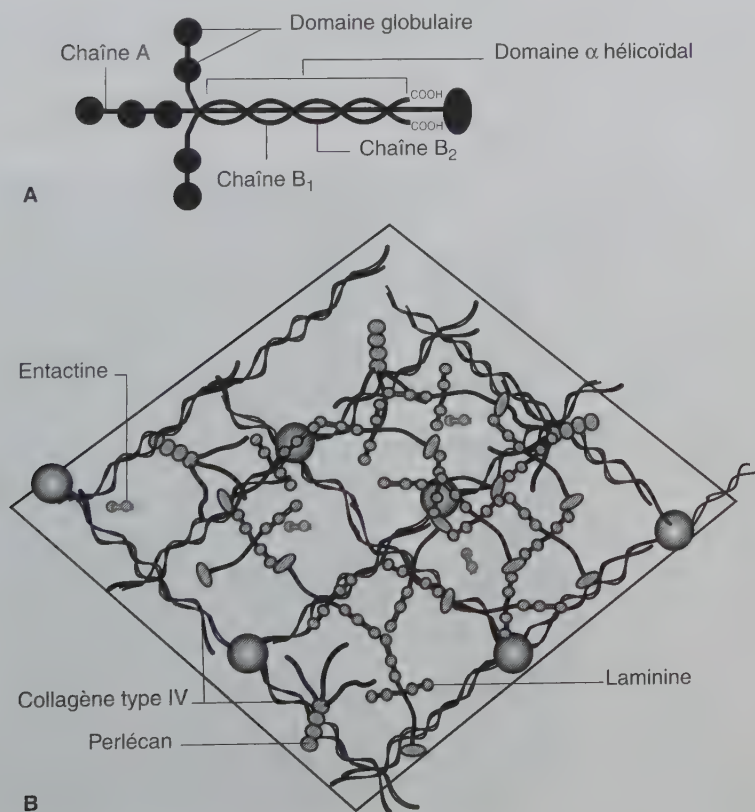
■ La fibronectine

La fibronectine est une glycoprotéine (dimère de 100 nm de longueur et de 220 kDa) synthétisée par la cellule, qui possède deux sites de fixation pour le collagène, deux pour l'héparane sulfate protéoglycane et deux pour l'intégrine. Elle se lie au domaine extracellulaire d'une protéine réceptrice, l'intégrine. Le domaine intracellulaire de l'intégrine s'associe à la taline qui se fixe à son tour à la vinculine : cette dernière s'amarre aux microfilaments d'actine. De nombreuses cellules établissent de tels types d'adhérence (point de contact focal) avec la matrice extracellulaire.

■ La laminine

Cette glycoprotéine, qui appartient aux SAMs, présente uniquement dans les lames basales, est l'une des premières à être synthétisée au cours du développement

Fig. 2.45
Laminine et lame basale.
A. Molécule de laminine.
B. La lame basale contient des protéoglycanes (le perlécan par exemple), des glycoprotéines (la laminine et l'entactine).



embryonnaire. Elle est constituée par trois chaînes polypeptidiques (fig. 2.45). Elle possède un site de liaison avec les intégrines, un site de liaison avec les protéoglycannes et deux sites de liaison avec le collagène type IV.

Les molécules d'adhérence sont soit des CAMs qui regroupent des immunoglobulines (anticorps), des cadhérines (glycoprotéines) et des sélectines (lectines), soit des SAMs qui comprennent les intégrines (molécules glycoprotéiques multifonctionnelles) et divers protéoglycannes et glycoprotéines (fibronectine, laminine) qui interviennent dans l'adhérence des cellules avec la matrice extracellulaire.

Les jonctions intercellulaires

Les jonctions intercellulaires sont des régions différenciées de la membrane plasmique, qui assurent l'adhérence des cellules entre elles ou avec une lame basale et qui interagissent avec le cytosquelette.

Les jonctions intercellulaires contiennent de nombreuses molécules responsables de la transmission de signaux.

Elles jouent un rôle de centre organisateur : elles contrôlent des voies de transmissions spécifiques de signaux intercellulaires, essentiels au cours du développement embryonnaire. Elles sont très souvent profondément modifiées au cours de la formation de tumeur.

Les jonctions intercellulaires sont des structures dynamiques capables de se modifier au cours du développement, d'événements normaux (cicatrisation), ou de phénomènes pathologiques (métastases).

Les jonctions intercellulaires interviennent dans le maintien de la différenciation épithéliale : leur déstabilisation permet aux cellules d'envahir les tissus voisins et au cancer d'évoluer défavorablement.

Les jonctions intercellulaires diffèrent par leur forme, par leur structure et par leur fonction :

- le type *zonula* (jonction serrée, jonction intermédiaire) s'applique aux jonctions qui encerclent complètement la cellule; elles s'observent essentiellement dans les épithéliums et en particulier dans la partie apicale des épithéliums prismatiques simples (par exemple l'épithélium intestinal) (fig. 2.46);
- le type *fascia* s'applique aux jonctions plus ou moins étendues, à contour irrégulier;
- le type *macula* (ou maculaire) décrit des jonctions circulaires ou ovalaires (desmosome).

Les jonctions serrées

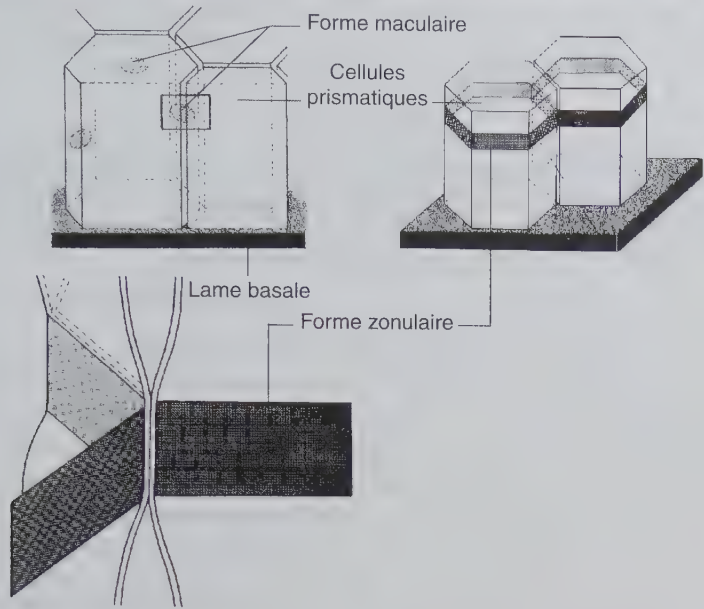
Les jonctions serrées (tight junctions, jonctions étanches ou imperméables) sont des régions spécialisées de la membrane, qui ceinturent la cellule à son pôle apical : les feuillettes externes de la membrane plasmique établissent un contact si étroit (sans toutefois fusionner l'un avec l'autre) qu'ils obturent complètement l'espace intercellulaire et empêchent le passage de toute substance.

■ Localisation

Ce type de jonction est spécifique des cellules endothéliales et des cellules épithéliales polarisées comme les entérocytes (au pôle apical) et les cellules hépatiques au voisinage du canalicule biliaire qu'elles bordent.

Fig. 2.46

Forme des jonctions intercellulaires. Cellules d'un épithélium prismatic simple.



■ Structure

Sur une coupe perpendiculaire à leur plan (fig. 2.47), les jonctions serrées montrent cinq feuillets, trois osmiophiles, deux osmiophobes :

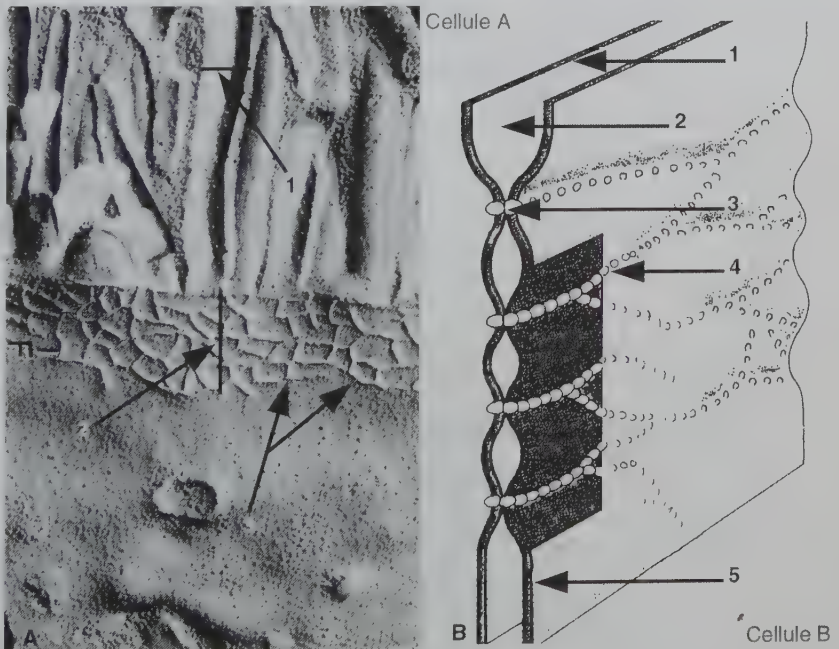
- deux *feuillets sombres*, les plus externes, correspondent chacun aux feuillets internes des membranes cellulaires qui s'affrontent : ils constituent les faces cytoplasmiques ;
- deux *feuillets clairs* sont disposés de part et d'autre d'un feuillet médian résultant de l'apposition des deux feuillets externes ;

Fig. 2.47

Jonction serrée.

A. Photomicrographie (cryodécoupage) d'une jonction serrée unissant la membrane plasmique du pôle apical de deux entérocytes. 1. Microvillosité. 2. Jonction serrée. 3. Chaîne de protéines formant la jonction étanche.

B. Représentation schématisée tridimensionnelle d'une jonction serrée : 1. Membrane plasmique de la cellule A. 2. Espace intercellulaire. 3. Protéine intramembranaire adhérent à une protéine identique située sur l'autre membrane. 4. Chaîne de protéines formant la jonction serrée. 5. Membrane plasmique des cellules B.



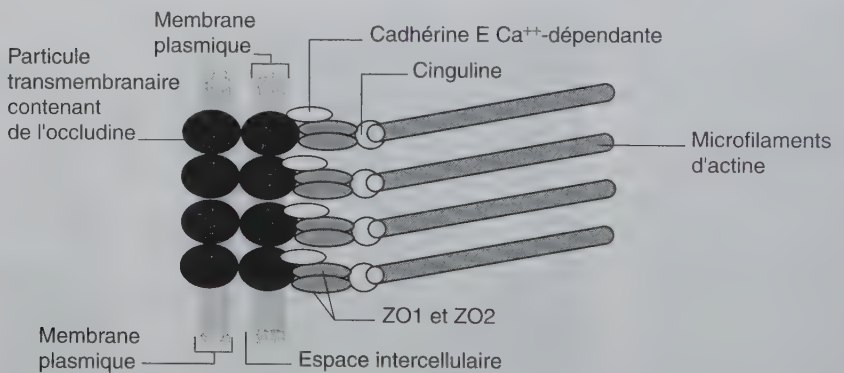
– le *feuillet médian* correspond à l'étroite association des feuillets externes des membranes adjacentes. Des rangs ininterrompus de protéines de jonction transmembranaires (constituant un véritable réseau), qui se joignent à travers l'espace intercellulaire, maintiennent les membranes adjacentes associées. Ces particules protéiques alignées irrégulièrement forment une image. Elles contiennent de l'*occludine*. On pensait que l'*occludine* était indispensable à la formation des jonctions serrées. Or, si on supprime l'expression du gène de l'*occludine*, les jonctions se mettent, malgré tout, en place.

■ Composition protéique

Les jonctions serrées contiennent (fig. 2.48) :

- des molécules protéiques, dont la nature est encore très mal connue, localisées dans les jonctions serrées des cellules endothéliales et épithéliales (protéine très voisine de la connexine des jonctions communicants); cette protéine transmembranaire associe les membranes des deux cellules adjacentes.
- des *cadhérines E Ca⁺⁺-dépendantes* (ou *uvomoruline*) : les cadhérines constituent une famille qui regroupe la *desmoglérine*, une glycoprotéine riche en cystéine, et des *desmocollines*, glycoprotéines moins riches en cystéine, plus courtes que la *desmoglérine*. Ces molécules possèdent un domaine intramembranaire, un domaine cytoplasmique et un domaine extracellulaire. Elles sont associées à des protéines de jonction dénommées ZO1 et ZO2 (initiales de *zonula occludens*), qui appartiennent à la famille des protéines Dlg (discs-large protein; protéine à larges disques); la protéine ZO1 est liée à ZO2. Elles interagissent avec les MFs ou la spectrine par l'intermédiaire de la *cinguline*; le domaine intracellulaire de l'*occludine* s'ancre sur ZO1 et probablement sur ZO2; la phosphorylation de ZO1 par les tyrosine kinases est nécessaire à l'assemblage des jonctions serrées.
- des *guanylates kinases* (récemment mises en évidence) désignées par le sigle MAGUK (membrane-associated guanylate kinase; guanylate kinase associée à la membrane).

Fig. 2.48
Jonction serrée.



■ Fonctions

Ces jonctions sont occlusives. Les échanges se font donc obligatoirement à travers les cellules et non par les espaces intercellulaires. Cependant, ces jonctions peuvent réagir à des stimuli qui les rendent plus ou moins occlusives. Par exemple, en milieu hypotonique ou hypertonique, le réseau moléculaire est moins serré, car il ne doit pas s'opposer au passage de l'eau. Les jonctions serrées interviennent aussi dans la forme de la cellule en raison de leur association avec des microfilaments

d'actine. De plus, la présence de MAGUK permet aux cellules de répondre à des signaux extracellulaires. Les jonctions serrées marquent la polarité cellulaire et maintiennent une différence entre la composition de la membrane plasmique apicale et celle de la membrane plasmique latérale et basale.

Les jonctions serrées possèdent 5 feuilletts (3 osmiophiles et 2 osmiophobes). Elles contiennent de l'occludine, de la cadhérine E calcium-dépendante, des protéines MAGUK, des protéines ZO1 et ZO2 qui interagissent avec la cinguline (qui est associée aux microfilaments d'actine).

Les jonctions intermédiaires

Les jonctions intermédiaires (desmosomes ceinturants, *zonula adherens* ou *adherens*, ceintures d'adhérence ou jonctions d'ancrage intercellulaire de forme zonulaire), observées essentiellement dans les épithéliums prismatiques ou cubiques simples, c'est-à-dire dans les cellules polarisées, sont des jonctions localisées au voisinage du pôle apical, au-dessous de la jonction serrée. Elles font complètement le tour de la partie apicale de la cellule, assurant ainsi une excellente adhérence entre les cellules.

■ Composition protéique

Les jonctions intermédiaires contiennent des cadhérines E et des caténines.

Les *cadhérines E* interagissent d'une manière homotypique calcium-dépendante.

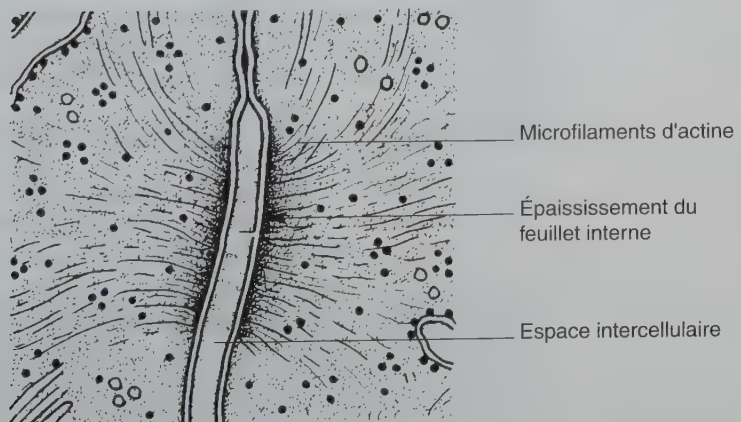
Les *caténines* α et β possèdent une région centrale formée d'un motif protéique (une séquence répétitive d'acides aminés appelée « arm repeat » à cause de sa présence dans la protéine Armadillo). La caténine β (très voisine de la *plakoglobine*) intervient dans la liaison de la cadhérine E à la caténine α qui ne peuvent, seules, s'associer l'une à l'autre.

■ Structure

Ces jonctions intermédiaires comprennent (fig. 2.49) :

- un espace intercellulaire de 15 à 25 nm,
- un feuillet interne (de la membrane plasmique) épaissi sur toute la longueur de la jonction, formant une plaque cytoplasmique qui contient l'extrémité des molécules de *cadhérine E* et des *caténines*.

Fig. 2.49
Jonction d'ancrage (jonction adhérente). Structure en microscopie électronique.



■ La plakoglobine ou caténine γ peut remplacer la **caténine β** . Ainsi dans l'épiderme, les microfilaments intermédiaires de cytokeratine s'ancrent sur la plakoglobine. Les domaines extracellulaires des molécules de cadhérine de chacune des deux cellules s'associent les uns avec les autres. Une telle association est calcium-dépendante. La délétion des sites de fixation des caténines sur les cadhérines inhibe l'agrégation cellulaire. En effet, les cadhérines contrôlent l'adhérence calcium-dépendante, seulement si elles sont associées avec les caténines. La phosphorylation des caténines par la tyrosine kinase Src régule les fonctions de la jonction *adherens*.

Les domaines intracytoplasmiques des molécules de cadhérine sont liés aux caténines α et β , ainsi qu'à une protéine p120 (une caténine récemment découverte chez la Souris) très voisine de la protéine B6P (band 6 polypeptide) des desmosomes.

Les filaments d'actine s'ancrent dans la plaque cytoplasmique (fig. 2.50) sur des caténines α (protéines très proches de la vinculine) qui interagissent avec les **caténines β** , elles-mêmes fixées sur des molécules de cadhérine E.

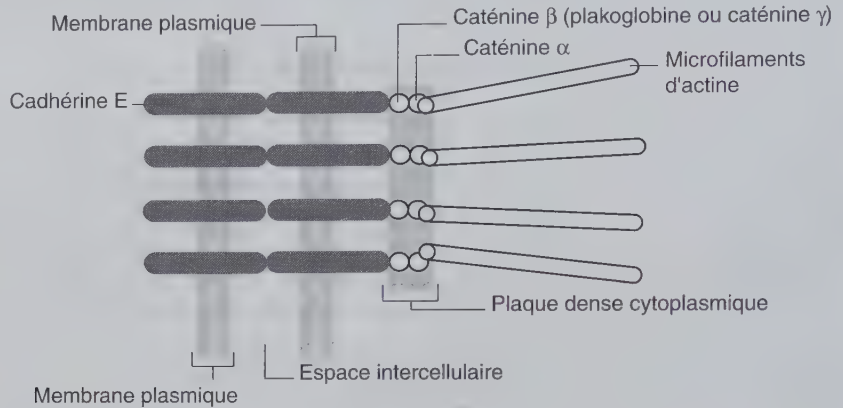


Fig. 2.50
Jonction intermédiaire (organisation moléculaire).

■ Fonctions

En plus de leur fonction d'adhésivité des cellules les unes avec les autres, ces jonctions jouent un rôle essentiellement structural en contribuant, grâce à la cadhérine E et à leurs filaments d'actine, à maintenir la rigidité de l'épithélium.

Ces jonctions interviennent aussi dans les mécanismes fondamentaux de la mise en place des feuilletts embryonnaires et le début de la neurogenèse (différenciation du tube neural). L'apparition de ces jonctions stabilise ces structures.

Ces jonctions intermédiaires ont aussi un rôle de *centre organisateur* pour plusieurs voies de transmission des signaux intercellulaires.

Des kinases peuvent, en agissant sur les protéines de cette jonction, modifier la morphologie des cellules et leur adhérence les unes avec les autres. Ces transformations résultent de la phosphorylation de la caténine β et, à un moindre degré, de celle de la cadhérine E et de la caténine α .

La formation des jonctions serrées dans les cellules épithéliales dépend de la formation des jonctions intermédiaires. La dislocation des jonctions intermédiaires provoque un accroissement de la perméabilité des jonctions serrées (permettant la circulation des molécules dans le milieu intercellulaire).

■ Jonctions intermédiaires et transformation cellulaire

Au cours de la cancérisation, les jonctions intermédiaires disparaissent avant les jonctions communicantes, ce qui souligne l'interdépendance des jonctions intermédiaires et des jonctions communicantes (ou jonctions serrées).

Les jonctions intermédiaires possèdent 6 feuilletts (3 osmiophiles et 3 osmiophobes). Elles contiennent des cadhérines E et des caténines α et β . Elles ont une fonction d'adhésivité intercellulaire, maintiennent la rigidité des épithéliums, transmettent des signaux intercellulaires et règlent la perméabilité des jonctions serrées.

Les desmosomes

Les desmosomes (*macula adherens*) sont des zones d'ancrage des filaments intermédiaires. Ils sont des superstructures adhésives ovalaires, avec un grand diamètre de 400 à 500 nm et un petit diamètre de 190 nm, organisées autour des cadhérines (desmoglénines et desmocollines) transmembranaires.

Ces systèmes de jonctions, à localisation principalement épithéliale (ils existent aussi dans les endothéliums et les mésothéliums), comptent parmi les plus complexes et les plus différenciés : ils se disposent à des intervalles plus ou moins réguliers le long des limites cellulaires des cellules épithéliales et des cellules musculaires. Ils résistent aux habituels agents de dissociation, aux agents chélatants du calcium comme l'urée, le mercaptol.

■ Structure

Les membranes desmosomales n'établissent pas de contact direct (fig. 2.51). La largeur de l'espace intercellulaire est de 20 nm : elle peut atteindre 50 nm dans les desmosomes hautement différenciés. Cet espace contient un matériel peu dense, à l'exception d'une lamelle centrale inconstante, équidistante des membranes cellulaires. Elle peut apparaître soit comme une ligne continue, soit comme une ligne interrompue à des intervalles réguliers.

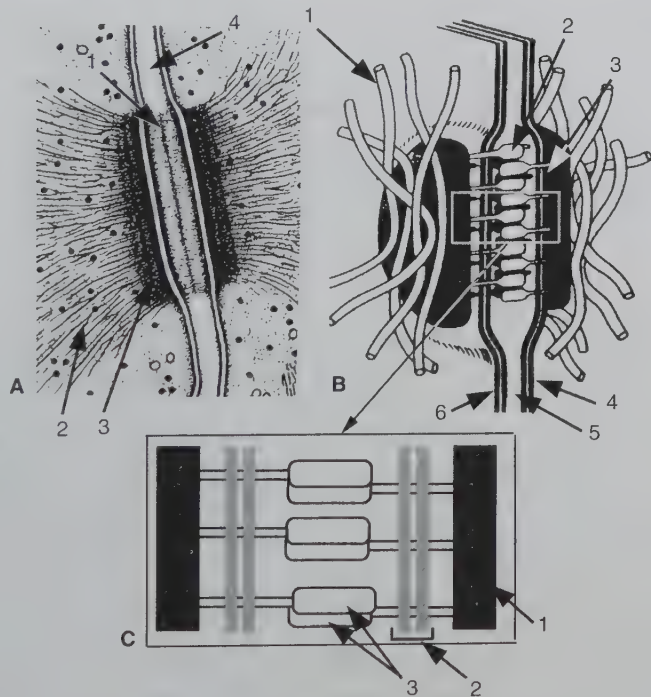
Fig. 2.51

Desmosome.

A. Représentation schématisée d'un desmosome (in : KRSTIC, *Ultrastructure of the mammalian cell*, Springer Verlag, 1976). 1. Ligne dense médiane. 2. Filaments intermédiaires de cytot kératine. 3. Plaque dense cytoplasmique ou plaque desmosomale. 4. Espace intercellulaire.

B. 1. Filaments intermédiaires de cytot kératine. 2. Cadherine. 3. Plaque desmosomale. 4. Membrane plasmique. 5. Espace intercellulaire. 6. Membrane plasmique.

C. 1. Plaque dense cytoplasmique. 2. Membrane plasmique. 3. Cadherine.



Le feuillet interne de chacune des membranes cellulaires qui limitent l'espace intercellulaire est parfois épaissi.

Le cytoplasme de chacune des deux cellules qui s'affrontent contient une *plaque desmosomale* ou *cytoplasmique*, dense et épaisse, séparée de la membrane plasmique

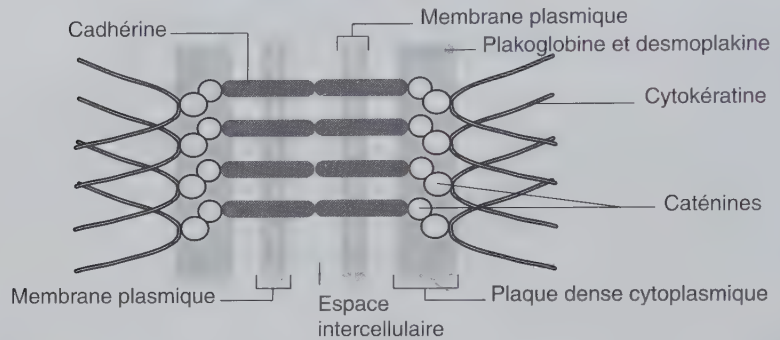
par un espace clair peu important. La plaque desmosomale peut adhérer au feuillet interne. Elle a une structure lamellaire. Les lamelles sont parallèles à la surface cellulaire et associées les unes aux autres dans une matrice homogène.

Des *filaments intermédiaires* (un des composants du cytosquelette), d'un diamètre de 10 nm, s'insèrent sur la plaque desmosomale.

■ Composition protéique

Les desmosomes contiennent des cadhérines, des desmoplakines, des plakoglobines et des filaments intermédiaires (IFs) (fig. 2.52).

Fig. 2.52
Desmosome
(organisation
moléculaire).



Le domaine extracellulaire des cadhérines

L'espace intercellulaire contient les domaines extracellulaires des molécules de cadhérine appartenant à chacune des deux membranes. Les molécules de cadhérine sont associées les unes aux autres, au centre de l'espace intercellulaire, par des ions Ca^{++} . La lamelle centrale, continue ou interrompue, correspond à la région occupée par les terminaisons du domaine extracellulaire des cadhérines et par le calcium.

Les domaines cytoplasmiques des cadhérines

Les domaines cytoplasmiques des cadhérines traversent l'espace compris entre la membrane externe et la plaque dense cytoplasmique. Ils forment des complexes avec les *plakoglobines* qui sont reliées aux *desmoplakines* par des ponts disulfures (liaisons fortes). Les molécules de cadhérine s'associent aussi aux caténines de la même manière que dans les jonctions intermédiaires. La formation de complexes caténine-cadhérine joue un rôle essentiel dans l'adhérence intercellulaire tributaire des cadhérines : les caténines agiraient sur le domaine extracellulaire des cadhérines.

La plaque desmosomale

La plaque desmosomale contient :

- des molécules de desmoplakines I et II et des protéines homologues IFAP (intermediate filament-associated protein; protéine associée au filament intermédiaire) et la plectine,
- des molécules de plakoglobine, homologue de la caténine β (ou de la caténine γ),
- la protéine B6P, protéine non glycosylée, porteuse de charges positives, constituant majeur de la plaque desmosomale dans les épithéliums glandulaires et dans les épithéliums stratifiés.

Mode d'insertion des filaments intermédiaires

Les IFs s'insèrent sur les molécules de desmoplakine.

L'extrémité carboxy-terminale de la molécule de desmoplakine est liée au réseau des IFs, tandis que l'extrémité amino-terminale commande l'association de desmoplakine avec la plaque desmosomale. Ces IFs, en fonction du type cellulaire étudié, sont :

- des microfilaments de *cytokératine* (cellules épidermiques) : dans les cellules épithéliales de l'épiderme, ils servent d'ancrage aux filaments de cytokératine disposés en faisceaux qui relient tous les desmosomes les uns aux autres; une telle disposition renforce la solidité du cytosquelette et permet le maintien de la forme des cellules; ils jouent aussi un rôle de centre organisateur pour plusieurs voies de transmission des signaux intercellulaires; en culture, les IFs de cytokératine purifiés se lient à B6P, une protéine qui intervient dans l'organisation des filaments intermédiaires des cellules épidermiques;
- ou des microfilaments de *desmine* (cellules du muscle cardiaque).

■ Pathologies associées à la désorganisation des desmosomes

La désorganisation des desmosomes provoque ou accompagne des maladies graves.

Les maladies acantholytiques

Les maladies acantholytiques sont des maladies de l'épiderme, dues à une perte de cohésion des kératinocytes soit entre eux, soit avec la lame basale. Ces affections se caractérisent par la formation de « bulles » intra-épithéliales. La disparition des desmosomes épidermiques en est la cause.

Dans la *dermatose bulleuse* la désorganisation des desmosomes est provoquée par la destruction des desmoplakines par des auto-anticorps.

Dans le *pemphigus vulgaire* (maladie mortelle traitée par corticothérapie), des anticorps anti-Dsg1 et anti-Dsg3 (anti-desmoglobine) détruisent les desmosomes.

La cancérogenèse épithéliale

Les desmosomes auraient un rôle suppresseur des tumeurs épithéliales. Dans la majorité des cancers, les cadhérines et les caténines sont en effet modifiées. La mutation d'un seul acide aminé dans les molécules de cadhérine abolit leur liaison à la caténine et modifie l'adhésivité qui dépend de la cadhérine.

De plus, le niveau d'expression de la cadhérine E est souvent réduit dans de nombreux cancers épithéliaux (œsophage, thyroïde, poumon, sein, estomac, foie, rein, pancréas, côlon, vessie, prostate et tractus génital féminin). Il existe une relation entre un taux bas de cadhérine E et la malignité de ces tumeurs. *In vitro*, la restauration d'une concentration normale de cadhérine inhibe la cancérogenèse des cellules épithéliales ainsi que leur aptitude à envahir les tissus voisins. Ces cellules sécrètent moins de protéases.

La diminution de l'expression du gène de la plakoglobine est fréquente dans les cancers pulmonaires. La transfection de la plakoglobine peut supprimer la tumorigénicité des cellules en présence ou en l'absence du complexe cadhérine-caténine. Une baisse de la synthèse des desmoglénines, desmoplakines et desmocollines est associée à une perte de la différenciation et aux métastases dans les cancers de la cavité buccale.

La réduction des divers composants desmosomaux dans des cancers humains indique que les desmosomes ont un rôle suppresseur des tumeurs. Toutefois dans d'autres tumeurs, comme le cancer colo-rectal, l'invasion et les métastases n'impliquent pas une perte de l'expression des desmosomes.

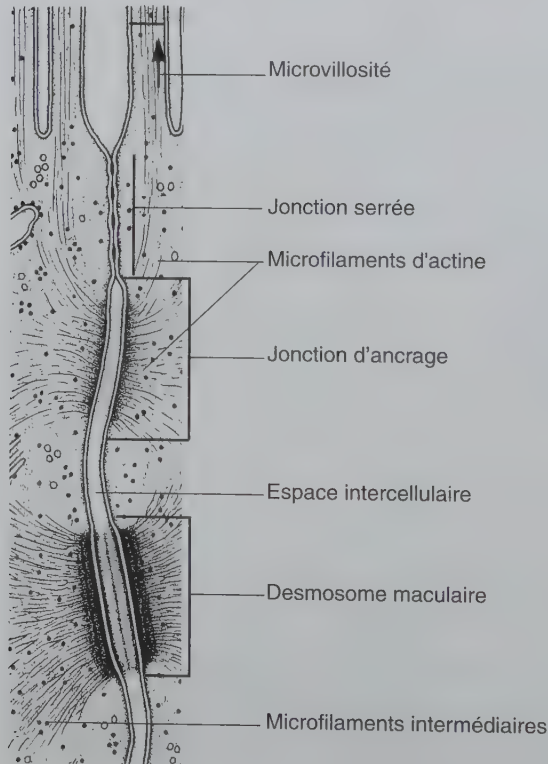
Les desmosomes sont des zones de jonctions maculaires observées dans les épithéliums, les endothéliums et les mésothéliums. L'espace intercellulaire est occupé par des cadhérines qui sont responsables de l'adhésion intercellulaire. Ces cadhérines sont associées à des caténines qui elles-mêmes forment des complexes avec des plakoglobines reliées aux desmoplakines. Les desmosomes servent d'ancrage aux IFs (cytokératine, desmine, etc.). Les lésions desmosomales sont responsables des maladies acantholytiques. Leur disparition est associée à des processus tumoraux.

Les complexes de jonctions

Un complexe de jonctions (par exemple dans l'épithélium intestinal, fig. 2.53) est un ensemble de jonctions constitué par une *jonction serrée*, la plus proche de la lumière intestinale (elle a la structure pentalamellaire précédemment décrite; elle entoure la partie apicale de chaque cellule), une *jonction intermédiaire* qui lui fait suite (l'espace intercellulaire, d'une largeur de 20 nm, est occupé par un matériel peu dense, homogène; il ceinture également la cellule), un *desmosome* qui occupe la partie la plus profonde du complexe de jonctions. L'ensemble jonction serrée/jonction intermédiaire forme le cadre cellulaire visible en microscopie optique.

Ces complexes de jonctions unissent le plus souvent les cellules prismatiques : ils s'observent surtout dans l'épithélium intestinal, mais aussi dans d'autres types d'épithéliums comme les épithéliums glandulaires (foie).

Fig. 2.53
Complexe de jonctions unissant deux entérocytes (In : KRSTIC, *Ultrastructure of the mammalian cell*, Springer Verlag, 1976).



Les jonctions communicantes ou gap junctions

Les jonctions communicantes (gap junctions ou jonctions lacunaires), souvent localisées à proximité des jonctions serrées, sont des régions spécialisées des membranes de deux cellules adjacentes, qui se caractérisent essentiellement par un rapprochement des deux membranes et un espace intercellulaire perméable. Elles assurent le transfert d'informations.

Les jonctions communicantes sont situées sur la face latérale des cellules prismatiques épithéliales (entérocytes par exemple). Entre les neurones, elles constituent des synapses électriques : la transmission de l'influx nerveux ne se fait pas comme dans les synapses chimiques dans lesquelles la membrane présynaptique libère un neurotransmetteur.

■ Structure

Elles sont formées de 7 feuilletts (fig. 2.54) et on distingue :

- les 3 feuilletts (2 sombres et 1 clair) de l'une des deux cellules,
- l'espace intercellulaire d'une épaisseur de 2 à 3 nm,
- les 3 feuilletts de la membrane de la cellule voisine.

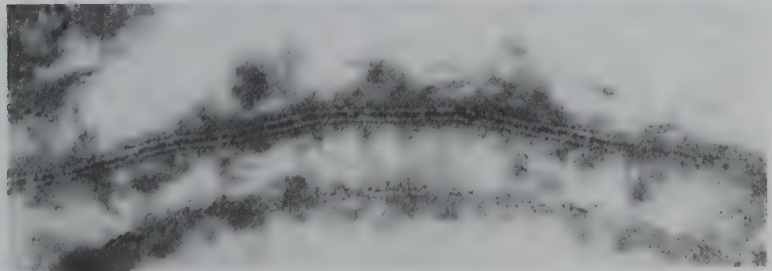
Les jonctions communicantes comprennent donc 4 feuilletts osmiophiles et 3 feuilletts osmiophobes.

Mais très souvent, les deux feuilletts externes sont si rapprochés qu'il n'est pas possible de les distinguer. Il serait possible, dans ces conditions, de confondre une jonction communicante avec une jonction serrée. L'insuffisance de la simple morphologie pour les identifier contraint le biologiste à l'utilisation des traceurs des espaces intercellulaires.

Le *nitrate de lanthane* en solution pénètre dans les plus petits espaces intercellulaires d'un tissu qu'il baigne. Son opacité au rayonnement électronique le rend facilement décelable. Il met en évidence les jonctions serrées grâce à leur imperméabilité au traceur, tandis que les jonctions communicantes le laissent passer par de minuscules espaces situés dans le feuillet médian.

Fig. 2.54

Jonction communicante ($\times 170\,000$). Un espace perméable à un traceur (ici la peroxydase) est coloré intensément en noir. On remarquera que le traceur est disposé sous la forme de petites particules. En réalité, chaque particule est située à l'intérieur d'un très fin canalicule. (Cliché de D.-A. GOODENOUGH et J.-P. REVEL; *J. Cell Biol.*, 50, 1971, 81-91.)



■ La famille des connexines

Chacune des membranes cellulaires contient des protéines transmembranaires qui appartiennent à la famille des connexines.

■ Actuellement nous connaissons 12 gènes codant les **connexines**. Les protéines codées par ces gènes possèdent un très haut degré d'homologie. Les connexines α regroupent les Cx33 (cellules germinales), Cx37 (endothélium, neuroblastes), Cx40 (endothélium, cellules de Purkinje), Cx43 (muscle cardiaque et lisse, astrocytes, fibroblastes, ostéocytes), Cx46 (cellules de Schwann, fibres cristalliniennes), Cx50 (fibres cristalliniennes, épithélium de la cornée.) Les connexines β regroupent les Cx26 (hépatocytes, acini pancréatiques, kératinocytes, pinnéocytes), Cx30,3 (peau), Cx31 (kératinocytes), Cx31,1 (épithélium pavimenteux stratifié), Cx32 (hépatocytes, cellules de Schwann des gaines de myéline, oligodendrocytes, tubules proximaux du rein, neurones), Cx45 (poumon, cerveau embryonnaire, rein, peau).

Diversité des connexines

La famille des connexines regroupe des **connexines différentes** désignées par leur PM (exprimé en kDa) et localisées dans des cellules très diverses.

Le connexon

Les molécules de connexine s'associent en connexons (hexamères de connexine) (fig. 2.55). Chaque connexon d'une membrane se connecte, dans l'espace extracellulaire, à un connexon de la membrane adjacente. Ces connexons, disposés selon un réseau à mailles hexagonales, ont un diamètre de 6 nm et un canal central de 2 nm, susceptible de s'ouvrir ou de se fermer par modification de la forme des molécules de connexine.

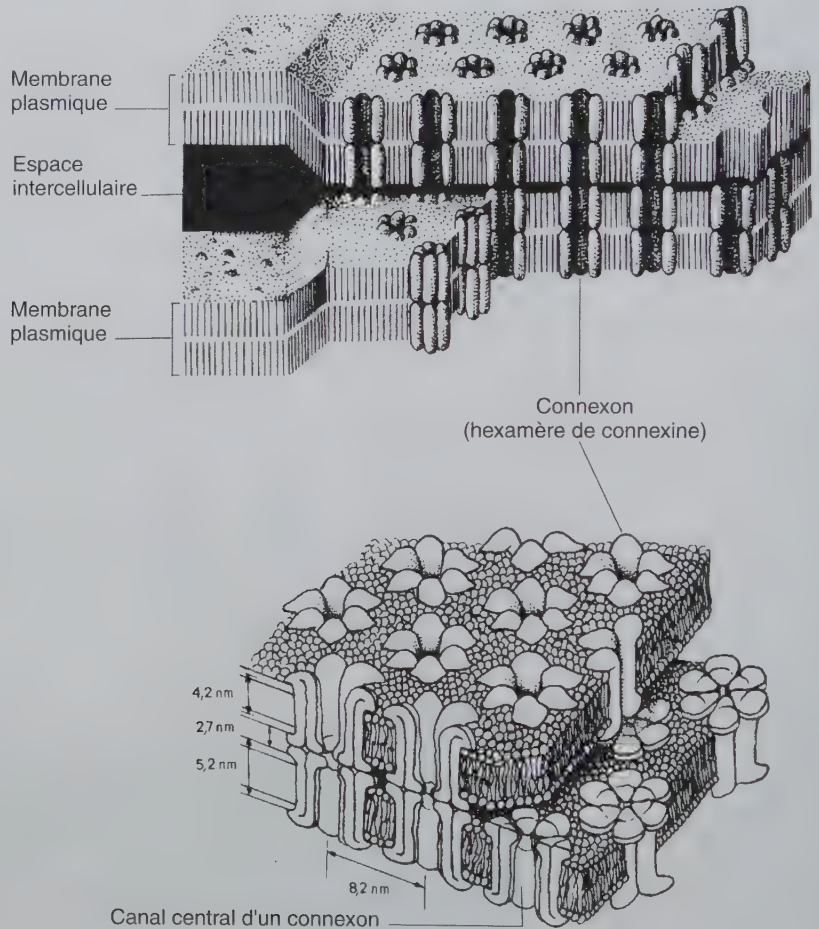


Fig. 2.55

Organisation moléculaire d'une jonction communicante. Les jonctions communicantes sont caractérisées par les connexons (hexamère d'une molécule protéique, la connexine) qui occupent l'épaisseur de chaque membrane jonctionnelle. (D'après MAKOWSKI et coll., et D. GROS, Laboratoire du Pr SCHREVEL, Poitiers.)

■ Rôle dans le passage intercellulaire de l'information

Ces jonctions assurent le passage d'ions ainsi que celui de petites molécules, des métabolites intracellulaires (1 à 1,5 kDa ou d'un diamètre de 0,8 à 1,4 nm), d'une cellule à l'autre et dans les deux sens en fonction du gradient électrostatique.

■ La diversité des connexines explique également que les connexons peuvent intervenir dans le passage des molécules. Les connexons, formés par la polymérisation de l'une de ces connexines Cx26, Cx37, Cx40, Cx43 ou Cx45, assurent le transfert, d'une cellule à l'autre, d'iodure de propidium (414 Da) et de DAPI (4,6 diamino-2-phénylindole, 314 Da), tandis que ceux formés par Cx31 ou Cx32 ne permettent que le passage de DAPI.

La connaissance des différentes connexines permet de comprendre pourquoi certaines cellules voisines ne forment pas de canaux actifs entre elles; ainsi les Cx40 et les Cx43 n'interagissent pas alors qu'elles peuvent former des canaux actifs avec d'autres connexines. La membrane plasmique des fibres de Purkinje contient des Cx40, tandis que le tissu musculaire cardiaque qui les entoure exprime Cx43. L'incompatibilité Cx40/Cx43 contraint les fibres de Purkinje (système de conduction cardiaque) à ne se coupler qu'entre elles, assurant ainsi la permanence de la conduction. Ainsi, les connexines diffèrent dans leur aptitude à former des jonctions communicantes hétérotypiques chez l'Homme.

■ Rôle dans la coopération métabolique intercellulaire

Les jonctions communicantes établissent une coopération métabolique intercellulaire. Ces jonctions permettent le passage :

- d'ions entre les cellules en fonction du gradient électrophysiologique;
- de molécules informatives (porteuses d'information) dont le PM est inférieur à 1,5 kDa;
- de calcium, d'AMPc;
- d'enzymes (PM < 1,5 kDa) : par exemple, des cellules mutantes peuvent ne pas posséder de thymidine kinase. Cette absence rend les cellules incapables d'incorporer la thymidine dans leur molécule d'ADN, car elles ne peuvent pas effectuer l'étape initiale, c'est-à-dire la transformation de la thymidine en thymidine-phosphate. Mais, si ces cellules mutantes sont cultivées en même temps que des cellules dotées de cette enzyme et si ces deux groupes cellulaires établissent des jonctions communicantes, les cellules mutantes sont très rapidement capables d'incorporer la thymidine dans leur ADN.

■ Régulation de la perméabilité des jonctions communicantes

Un signal transmis à travers les jonctions communicantes peut être modulé par de nombreuses molécules et par de nombreuses conditions physiologiques. Cette transmission dépend des variations de la concentration en calcium, de la phosphorylation, du voltage intercellulaire (de 15 à 90 mV), de la calmoduline et de la présence de nucléotides cycliques, des neurotransmetteurs et des hormones (isoprotérénol, dopamine, acétylcholine, acide aminobutyrique, œstrogènes).

Les molécules de connexine possèdent un site récepteur de la *calmoduline* (un protomère faisant partie des ATPases de la membrane plasmique), protéine de régulation, capable de fixer 4 atomes de Ca^{++} .

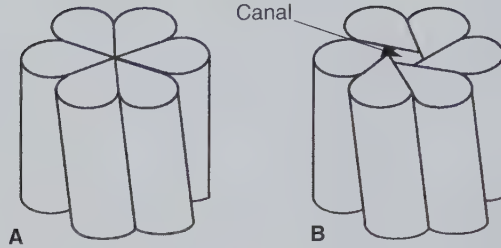
La baisse du pH, l'augmentation de la concentration du Ca^{++} cytoplasmique, la phosphorylation des molécules de connexine diminuent la perméabilité des jonctions communicantes. Cette situation est réversible. La fermeture se fait par rotation et glissement des sous-unités (fig. 2.56).

Le *glucagon*, dans les cellules hépatiques, stimule la dégradation du glycogène des cellules hépatiques et la libération du glucose dans le sang. Il augmente la perméabilité des jonctions communicantes et facilite ainsi le passage de l'AMP cyclique d'une cellule à l'autre. Très rapidement la glycogénolyse se déroule dans toutes les cellules unies par des connexons, ce qui accroît l'excrétion du glucose dans des délais très brefs.

Il existe une proportionnalité entre la quantité de molécules passant d'une cellule à une autre et le nombre de jonctions communicantes. Au repos, leur nombre

Fig. 2.56

Modèle d'ouverture et de fermeture d'un connexon par rotation et glissement des sous-unités. Redessiné d'après L. STRYER.
A. Connexon fermé.
B. Formation d'un canal par glissement des sous-unités.



diminue. Elles sont détruites par autophagie. Le renouvellement des jonctions communicantes (synthèse et dégradation) est rapide : la demi-vie d'une jonction communicante est de 24 heures.

■ Modulation du nombre de jonctions communicantes

Le nombre des jonctions communicantes dépend de l'état physiologique du tissu auquel elles appartiennent. Les jonctions communicantes couplent par exemple les cellules musculaires lisses du myomètre (ensemble des couches musculaires de la paroi utérine). Peu de temps avant l'accouchement, le nombre des jonctions communicantes augmente considérablement, grâce à une augmentation des Cx43 qui constituent les jonctions communicantes du myomètre. Les connexons, plus nombreux, assurent une bonne coordination de la contraction des cellules musculaires lisses au moment de l'accouchement.

■ Pathologies associées aux altérations ou à l'absence de connexine

Les altérations ou l'absence de connexine entraînent des comportements cellulaires pathologiques.

Maladies génétiques

Les mutations de gènes codant les connexines induisent des maladies génétiques. La première maladie génétique connue, provoquée par une mutation d'une connexine, est une neuropathie humaine héréditaire : il s'agit d'une forme de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT), caractérisée par une atrophie musculaire, une perte des réflexes tendineux. Elle atteint 1 enfant sur 2 500. Une mutation de Cx32 provoque cette maladie. La plupart des formes de CMT correspondent à des syndromes de démyélinisation associés à des lésions de la gaine de Schwann. Le locus CMT pour Cx32 est situé sur le chromosome X. Une mutation de Cx43 provoque des malformations cardiaques (hétérotaxie viscéro-atriale).

Tumorigénèse

L'inhibition de contact est cette propriété, que possèdent les cellules normales, d'interrompre tout mouvement membranaire et toute mitose lorsque, dans une culture, elles entrent en contact les unes avec les autres.

Les cellules cancéreuses en culture demeurent indépendantes les unes des autres et continuent à se multiplier et à migrer. Elles ne possèdent plus cette propriété d'inhibition de contact. Cette autonomie des cellules cancéreuses dépend de

l'absence d'échange d'information intercellulaire, car de telles cellules ne possèdent pas de jonctions communicantes. Cependant, il est possible de rétablir temporairement (pendant 24 heures) des jonctions communicantes en introduisant dans une culture de cellules cancéreuses, appartenant à la lignée K, des liposomes contenant un ARNm porteur des informations nécessaires à la biosynthèse de la connexine : l'inhibition de contact réapparaît pendant 24 heures.

Les jonctions communicantes (septalamellaires) assurent des échanges intercellulaires de molécules informatives, établissent une coopération fonctionnelle et métabolique par l'intermédiaire des connexons dont la perméabilité est contrôlée (pH, concentration en calcium, phosphorylation des molécules de connexine). L'altération de ces jonctions par mutation des connexines est à l'origine de la maladie de Charcot-Marie-Tooth ou de malformations cardiaques. Leur disparition conditionne l'absence d'inhibition de contact.

Les hémidesmosomes

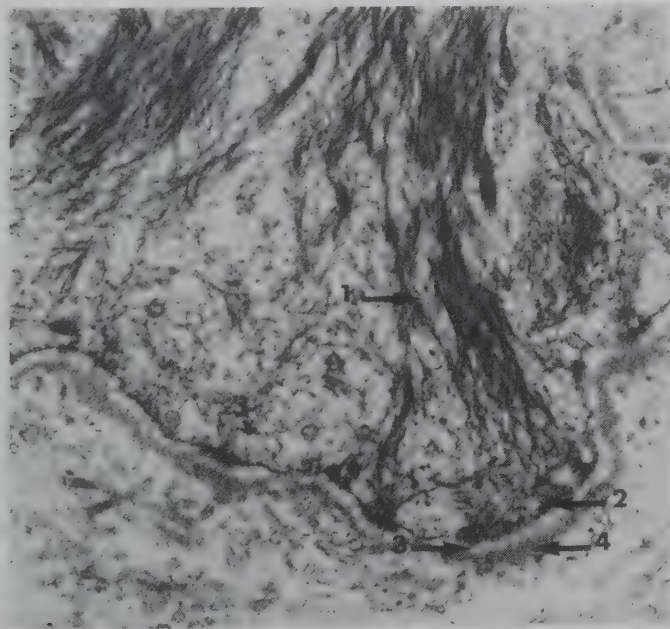
Un hémidesmosome (HD) (desmosome monocellulaire) est un petit complexe multiprotéique ovalaire spécialisé, de 0,1 à 0,5 μm de diamètre, qui possède une plaque cytoplasmique distincte sur laquelle s'ancrent les filaments intermédiaires (IFs). Les HDs assurent l'adhérence des cellules épithéliales à la lame basale et relient les IFs du cytosquelette à la lame basale.

■ Structure

Un hémidesmosome est une zone de jonction asymétrique non intercellulaire (fig. 2.57). La structure des hémidesmosomes est variable selon le type d'épithélium considéré, mais quel qu'il soit, on peut, comme pour les desmosomes, distinguer des composants cellulaires et des composants extracellulaires.

Fig. 2.57

Hémidesmosome. Photomicrographie en microscopie électronique ($\times 60\,000$) : 1. filaments de cytokeratine, 2. plaque cytoplasmique, 3. zone sous-membranaire parcourue par de nombreux filaments qui s'ancrent sur la lame basale, 4. lame basale. (Cliché du Service de Microscopie électronique, Département de Biologie humaine Directeur : Pr Marc MAILLET, Tours.)



La partie cellulaire contient :

- des *filaments intermédiaires de cytokeratine*,
- la *plaque dense desmosomale* (plaque de fixation ou d'ancrage des filaments), dont l'épaisseur est de 30 nm et qui adhère ou non à la membrane plasmique. Sa structure est lamellaire.

Les filaments intermédiaires qui se connectent à la plaque cytoplasmique de l'hémidesmosome s'associent également aux autres desmosomes de la cellule. Ils constituent ainsi une sorte de réseau dont la fonction est l'ancrage de la cellule sur la lame basale. Ce dispositif permet à la cellule de conserver sa forme. Ainsi, dans le corps muqueux de Malpighi, toutes les cellules sont associées les unes aux autres par de tels réseaux. Une telle configuration crée une inter-réaction mécanique entre l'ensemble des cellules associées.

La partie extracellulaire comprend à partir de la membrane :

- une zone claire de 10 nm de large, occupée en son milieu par une *ligne dense* (M) reliée à la membrane par un matériel filamenteux;
- une zone dense de 6 nm d'épaisseur;
- une zone claire de 25 à 30 nm d'épaisseur, parcourue par de nombreux filaments (microfibrilles de laminine) qui viennent de la lame basale : les molécules de laminine localisées sur la face épithéliale de la lame basale, dans la *lamina lucida*, possèdent une région qui se lie avec les récepteurs membranaires de la membrane plasmique des cellules basales; les molécules de laminine se lient également, grâce à l'existence de deux sites différents, aux fibres collagènes de type IV et aux protéoglycanes de type héparane sulfate; les molécules de laminine constituent donc une solide liaison entre les cellules basales et la lame basale;
- la lame basale de 40 nm d'épaisseur, qui contient de très nombreuses fibrilles prolongeant celles des faisceaux venus du chorion. Ces faisceaux sont formés par des fibrilles d'ancrage (anchoring fibrilles) de 3 nm de diamètre.

■ Les protéines **IFAP 300**, **BP230** sont localisées sur la face cytoplasmique de la plaque des hémidesmosomes, là où sont insérés les IFs de cytokeratine. De plus, *in vitro*, il est possible de montrer une interaction directe entre IFAP 300 et la plectine avec les IFs. La protéine BP230 est aussi liée aux IFs : elle possède des séquences homologues avec certaines séquences de la plectine et de la desmoplakine. BP180, dont l'assemblage dans les hémidesmosomes est probablement facilité par son association à la sous-unité α_6 de l'intégrine, intervient aussi dans l'adhésion cellulaire grâce à son domaine extracellulaire.

■ Les protéines **BP230** et **180** sont apparentées à la plectine : elles possèdent des séquences homologues. Ces constituants, d'un très grand intérêt physiologique, s'avèrent être de précieux critères diagnostiques quand on peut déceler des anticorps qui leur correspondent dans les maladies auto-immunes bulleuses.

■ Composition protéique

Diverses techniques, et en particulier l'immunohistochimie pratiquée sur les hémidesmosomes, révèlent la présence de protéines localisées dans la *plaque cytoplasmique hémidesmosomale*. Il s'agit :

- de la plectine ou HD1 (hemidesmosomal protein 1; protéine 1 des hémidesmosomes);
 - des molécules d'IFAP 300;
 - d'une protéine p200 reconnue par les anticorps monoclonaux;
 - des antigènes de la pemphigoïde bulleuse : **BP230** (ou BPAG1 : bullous pemphigoid antigen 1; antigène 1 de la pemphigoïde bulleuse) et **BP180** (ou BPAG2 : bullous pemphigoid antigen 2; antigène 2 de la pemphigoïde bulleuse).
- L'hémidesmosome contient des protéines transmembranaires :
- une intégrine (protéine d'adhésivité cellulaire) $\alpha_6\beta_4$, transmembranaire, spécifique des épithéliums, qui se lie à la *lamina lucida* de la lame basale : elle s'unirait à la nicéine/épiligrine de la *lamina lucida* de la lame basale;
 - une intégrine $\alpha_3\beta_1$ qui serait reconnue par l'épiligrine.

Liaison des IFs de cytokeratine au chorion

Les protéines **IFAP 300**, **BP230** ainsi que la plectine sont liées aux IFs.

L'intégrine $\alpha_6\beta_4$ est indispensable à l'assemblage et à la formation des hémidesmosomes : son absence provoque une fragilité cellulaire et un clivage de l'épiderme au niveau de la jonction dermo-épidermique. Les souris dont l'intégrine est dépourvue de la sous-unité β_4 sont atteintes de lésions bulleuses généralisées et meurent immédiatement après la naissance. Il n'y a pas d'HDs : il existe un clivage dermo-épidermique situé entre les cellules basales et la *lamina lucida*. Il en est de même pour les souris dépourvues de la sous-unité α_6 de l'intégrine. De nombreux signaux venus du milieu extracellulaire sont transmis au milieu intracellulaire par l'intermédiaire des intégrines. Par exemple, la liaison des cellules aux laminines influence profondément leur phénotype. Ainsi, la laminine 5, extraite d'un carcinome de l'épithélium vésical de Rat, provoque l'assemblage des hémidesmosomes, l'adhésion des cellules et leur migration. En l'absence de BP230, les HDs sont pratiquement normaux mis à part l'absence d'ancrage des IFs du cytosquelette et de la plaque cytoplasmique. La croissance épithéliale est normale : mais l'intégrité mécanique est compromise. Récemment, une nouvelle protéine associée à la membrane a été isolée. Cette protéine est spécifiquement phosphorylée au niveau d'un résidu tyrosine après détachement des kératinocytes de la laminine 5. De plus, l'inhibition de la déphosphorylation prévient l'ancrage dépendant de l'intégrine $\alpha_6\beta_4$ sur la laminine 5.

La *plectine* et les protéines apparentées interagissent avec un grand domaine de la sous-unité β_4 de l'intégrine.

L'intégrine $\alpha_6\beta_4$, une protéine transmembranaire des hémidesmosomes, associe les IFs et la membrane plasmique basale à la lame basale sous-jacente en se liant à la laminine 5, un constituant de la *lamina lucida*.

Fibres en boucles et plaques d'ancrage

La lame basale des hémidesmosomes est ancrée sur le chorion par des fibres en boucles et des plaques d'ancrage. Le réseau de *laminines* et de collagène de type IV, qui forme l'échafaudage de la lame basale, est relié au stroma sous-jacent par deux types de fibres d'ancrage :

- des fibres de collagène VII disséminées le long de la lame basale ; leurs deux extrémités s'insèrent sur la lame basale ; elles forment des boucles autour des fibres collagènes sous-jacentes ;
- des fibres de collagène VII qui s'insèrent par une extrémité sur la lame basale et par l'autre sur des structures appelées plaques d'ancrage (elles ressemblent à la lame basale) : de telles fibres fournissent un attachement solide de l'épiderme sur le derme.

■ Rôle des protéines hémidesmosomales

Des protéines hémidesmosomales (l'intégrine $\alpha_6\beta_4$, la BP230, la p80) interviennent dans la différenciation des HDs et dans la transmission d'informations.

■ Pathologie liée aux hémidesmosomes

L'*épidermolyse bulleuse* acquise est provoquée par la disparition des hémidesmosomes (les bulles se forment par décollement de l'épithélium de la lame basale).

Le *pemphigus* est une maladie auto-immune très grave, caractérisée cliniquement par des bulles qui se forment par clivage dans le corps muqueux de Malpighi. Ces bulles donnent naissance à des érosions confluentes. Elle est provoquée par la sécrétion d'auto-anticorps anti-desmoglérine.

Les hémidesmosomes, jonctions asymétriques, unissent les cellules à la lame basale. Ils possèdent une plaque dense desmosomale (sur laquelle s'ancrent des faisceaux de filaments de cytokératine), constituée par des molécules de plectine, d'IFAP 300, de BP230 et 180. Une intégrine transmembranaire unit la membrane plasmique à la lame basale. La lame basale s'ancre sur le chorion par l'intermédiaire de fibres de collagène de type VII. Diverses protéines (intégrine $\alpha_6\beta_4$, BP230, p80) interviennent dans la différenciation des hémidesmosomes. La destruction des hémidesmosomes par des auto-anticorps provoque l'épidermolyse bulleuse.

La membrane plasmique des cellules tumorales

Les modifications structurales de la membrane plasmique des cellules tumorales intéressent essentiellement l'organisation moléculaire. Elles se traduisent par des modifications des propriétés de la membrane plasmique.

Fluidité membranaire

La fluidité membranaire peut augmenter. Elle dépend d'une augmentation de l'insaturation des phospholipides et d'une baisse de la quantité du cholestérol membranaire.

Charge de surface

Les charges négatives peuvent s'accroître. Ceci dépend de l'augmentation de la quantité d'acide sialique. Cette augmentation n'est pas constante. Le cell coat des cellules de Hamster et d'embryon de Poulet, transformées par des virus oncogènes, est plus épais que celui des cellules normales. Il en est de même pour certaines cellules cancéreuses humaines (fig. 2.58).

Cet accroissement des charges négatives de surface entraîne une augmentation de la vitesse de migration électrophorétique.

Fig. 2.58

Cell coat d'un lymphocyte
($\times 80\,000$).

A. Normal.

B. Leucémique. (Cliché de
M. PAINTRAUD et C. ROSENFELD;
C. R. Acad. Sci. Paris, **274**,
1972, 415-417.)



Adhérence

Les jonctions intercellulaires, comme les desmosomes, se déstabilisent : l'adhésivité intercellulaire diminue et disparaît. Il en est de même pour l'adhésivité cellule/matrice, car les intégrines subissent d'importantes modifications. Les cellules cancéreuses ne peuvent former des points de contact focaux ; leur ancrage devient impossible. Les cellules cancéreuses deviennent mobiles : elles ne se déplacent pas grâce à des mouvements amiboïdes mais grâce à des membranes ondulantes. Cette mobilisation dépend du TGF- α (transforming growth factor ; facteur de transformation cellulaire) qui appartient aux crinopectines II. Ce facteur embryonnaire physiologique peut être produit de façon tout à fait inhabituelle par les cellules adultes malignes. Il a alors la faculté de se fixer sur le récepteur de l'EGF (epithelial growth factor ; facteur de croissance épithélial).

Antigénicité

L'antigénicité se modifie. Cette modification découle des changements de l'organisation moléculaire du cell coat. L'identité antigénique de la cellule est modifiée par l'apparition de nouveaux antigènes (en particulier d'antigènes qui, normalement, n'existent que pendant la vie embryonnaire), alors que d'autres antigènes disparaissent ou ne s'expriment plus. Les cellules néoplasiques deviennent alors des cellules étrangères (du non soi) à l'organisme, qui met en jeu des mécanismes immunologiques de rejet, bien souvent non couronnés de succès.

Inhibition de contact

Les cellules cancéreuses ayant perdu l'inhibition de contact et leur adhésivité se propagent dans l'organisme et créent des métastases. Mais ces métastases ne se produisent pas dans n'importe quelle région de l'organisme. Les cellules tumorales auraient des sites privilégiés de métastases. Par exemple, le cancer du sein donne fréquemment des métastases à localisation osseuse.

Les molécules d'adhésion interviennent dans le cancer et dans sa dissémination. Un type de cellules cancéreuses se fixe sélectivement sur la sélectine E, ce qui explique les localisations privilégiées des métastases. Certaines cellules cancéreuses forment des métastases en modifiant la fonction des molécules d'adhésion, dont la fonction habituelle est la défense de l'organisme.

La localisation des métastases dépend du type des lectines portées par la surface de la cellule cancéreuse. Ainsi, les récepteurs de la L-sélectine de la membrane plasmique des cellules endothéliales sont beaucoup plus nombreux dans les veinules de sujets atteints de lymphome cutané : la L-sélectine est peut-être impliquée dans la diffusion de ces lymphomes.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

5-HT	5-HydroxyTryptamine
5-HTR	5-HydroxyTryptamine Receptor; récepteur de la 5-hydroxytryptamine
AMPc	Adénosine 3'-5' MonoPhosphate cyclique
ATP	Adénosine TriPhosphate
AQP	AQuaPorine
B6P	Band 6 Polypeptide; polypeptide bande 6
BFP	Bundle-Forming Pili; pili formant un faisceau
BP	Bullous Pemphigoid; pemphigoïde bulleuse
BPAG	Bullous Pemphigoid AntiGen; antigène de la pemphigoïde bulleuse
CAM	Cell Adhesion Molecule; molécule d'adhésion cellulaire
CNG	Cyclic Nucleotides Gated; dépendant des nucléotides cycliques
CHIP	CHannel-forming Integral Protein; protéine intrinsèque formant canal
CLIP	Cytoplasmic LIinker Protein; protéine cytoplasmique de liaison
CMT	maladie de Charcot-Marie-Tooth
COP	COat Protein; protéine de revêtement
COX	Cyclo-OXYgénase
Cx	Connexine
DAG	DiAcylGlycérol

DIG	Detergent-Insoluble Glycolipid-enriched domain; domaine enrichi en glycolipide insoluble dans les détergents
Dsg	Desmogl��ine
ECV	Endosomal Carrier Vesicle; vésicule endosomale de transport
EGF	Epithelial Growth Factor; facteur de croissance épithélial
EPEC	EnteroPathogenic <i>Escherichia Coli</i> ; <i>Escherichia coli</i> entéropathogène
Fc	Fragment complément
FcR	Fragment complement Receptor; récepteur du fragment complément
FRAP	Fluorescence Recovery After Photobleaching; restauration de la fluorescence après photoblanchiment
GDP	Guanosine DiPhosphate
GLUT	GLUcose Transporter; transporteur de glucose
GMI	Ganglioside Monosialyl�� ou monosialoganglioside 1
GMP	Guanosine MonoPhosphate
GMPc	Guanosine MonoPhosphate cyclique
gp	glycoprotéine
GPCR	G Protein-Coupled Receptor; récepteur couplé à la protéine G
GPI	GlycoPhosphatidylInositol
Grb	Growth factor receptor-band protein; protéine liée à un récepteur de facteur de croissance
GTP	Guanosine TriPhosphate
HD	HémiDesmosome
HD1	H��miDesmosomal protein 1; protéine 1 des h��midosomes
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
I-CAM	Intercellular-Cell Adhesion Molecule; molécule d'adhésion intercellulaire
IF	Intermediate Filament; filament intermédiaire
IFAP	Intermediate Filament-Associated Protein; protéine associée au filament intermédiaire
IgA	Immunoglobuline A
IgG	Immunoglobuline G
IP3	Inositol triPhosphate
L-CAM	Liver-Cell Adhesion Molecule; molécule d'adhésion des cellules hépatiques
LEC-CAM	LEC pour LECtine, CAM pour Cell Adhesion Molecule; molécule d'adhésion cellulaire
LDL	Low Density Lipid; lipide de faible densité
LFA	Lymphocyte Function-associated Antigen; antigène associé aux fonctions lymphocytaires
Mac-1	Macrophage-1
MAG	Myelin-Associated Glycoprotein; glycoprotéine associée à la myéline
MAGUK	Membrane-Associated GUanylate Kinase; guanylate kinase associée à la membrane
MAP	Microtubule Associated-Protein; protéine associée au microtubule
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney; rein de chien Madin-Darby
MF	MicroFilament

MIWC	Mercurial-Insensitive Water Channel; canal aqueux insensible au mercure
MT	MicroTubule
MVC	MultiVesicular Carrier; transport multivésiculaire
N-CAM	Neural-Cell Adhesion Molecule; molécule d'adhésion des cellules nerveuses
Ng-CAM	Neuroglial-Cell Adhesion Molecule; molécule liant les neurones à la glie
NGF	Nerve Growth Factor; facteur de croissance nerveux
NHE	Na ⁺ /H ⁺ Exchanger; échangeur Na ⁺ /H ⁺
PACAP	Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide; polypeptide activant l'adénylate cyclase pituitaire
PC	PhosphatidylCholine
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor; facteur de croissance d'origine plaquettaire
pIg-R	polymeric Immunoglobulin Receptor; récepteur polymérique de l'immunoglobuline
PKA	PhosphoKinase A
PKC	PhosphoKinase C
PLA2	PhosphoLipase A2
PLC	PhosphoLipase C
Raf	Ras activating factor; facteur d'activation de Ras
Ras	Rat sarcoma; sarcome du Rat
RE	Réticulum Endoplasmique
REG	Réticulum Endoplasmique Granulaire
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
SAM	Substrate Adhesion Molecule; molécule d'adhésion au substrat
SH	Src-Homology domain; domaine homologue à Src
SNC	Système Nerveux Central
Sos	Son of sevenless (voir explication p. 83)
SPT	Single Particle Tracking; suivi d'une seule particule
Src	Rous Sarcoma; sarcome de Rous
TAP	Transcytosis-Associated Protein; protéine associée à la transcytose
TGF	Transforming Growth Factor; facteur de transformation cellulaire
TSH	ThyreoStimulin Hormon; hormone thyroïdienne
VIP	Vesicular Integral-membrane Protein; protéine intrinsèque de la membrane des vésicules
VLA	Very Late Activation; activation très tardive
Vmax	Vitesse maximum
ZO	Zonula Occludens

■ 1. La membrane plasmique :

- ☐ 1. est une enveloppe discontinue.
- ☐ 2. possède une structure trilamellaire symétrique.
- ☐ 3. a une composition chimique invariable.
- ☐ 4. établit une continuité transitoire avec le système endomembranaire.
- ☐ 5. maintient la différence de composition entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire.

■ 2. Les lipides de la membrane plasmique :

- ☐ 1. possèdent un groupement polaire qui occupe le feuillet médian.
- ☐ 2. possèdent des chaînes aliphatiques qui cheminent quelquefois parallèlement à la surface de la membrane plasmique.
- ☐ 3. servent de point de fixation des microfilaments d'actine.
- ☐ 4. forment une double couche continue.
- ☐ 5. sont osmiophiles.

■ 3. La fluidité de la membrane plasmique dépend :

- ☐ 1. de la forme des protéines.
- ☐ 2. du degré d'insaturation des phospholipides.
- ☐ 3. du cholestérol.
- ☐ 4. de la chaleur : une hausse de la température augmente la fluidité.
- ☐ 5. de l'organisation du cell coat.

■ 4. Les lipides forment une bicouche asymétrique parce que :

- ☐ 1. les sphingosines sont plus abondantes dans le feuillet externe.
- ☐ 2. les galactolipides sont plus abondants dans le feuillet interne.

- ☐ 3. les glycolipides sont plus abondants dans le feuillet interne.
- ☐ 4. les phosphatidyléthanolamines sont plus abondantes dans le feuillet interne.
- ☐ 5. les sphingolipides sont plus abondants dans le feuillet interne.

■ 5. Dans la membrane plasmique :

- ☐ 1. les protéines et les lipides se distribuent au hasard.
- ☐ 2. il existe des microdomaines, les DIGs.
- ☐ 3. les DIGs contiennent des glycolipides solubles dans les détergents.
- ☐ 4. les DIGs sont des microdomaines indépendants qui ne fusionnent jamais.
- ☐ 5. les DIGs servent de plate-forme de fixation des protéines.

■ 6. La fibronectine :

- ☐ 1. est un dimère.
- ☐ 2. intervient dans la cicatrisation, la phagocytose et la coagulation sanguine.
- ☐ 3. assure la cohésion des cellules tumorales avec la matrice conjonctive extracellulaire.
- ☐ 4. est synthétisée uniquement par les fibroblastes.
- ☐ 5. existe aussi dans le plasma sanguin.

■ 7. Le cell coat :

- ☐ 1. est formé par les chaînes glucidiques des polysaccharides intramembranaires.
- ☐ 2. se distribue essentiellement sur la face externe de la membrane plasmique.
- ☐ 3. est constitué exclusivement par des glycophorines.
- ☐ 4. possède parfois une activité maltasique.
- ☐ 5. détermine la charge négative de la surface cellulaire.

■ **8. La migration des protéines antigéniques de la membrane plasmique du lymphocyte :**

- ☐ 1. se produit lorsque la cellule adhère au substrat.
- ☐ 2. dépend du cytosquelette.
- ☐ 3. dépend du bon fonctionnement des mitochondries.
- ☐ 4. se fait en direction du pôle antérieur de la cellule.
- ☐ 5. se termine par une endocytose.

■ **9. Les canaux ioniques :**

- ☐ 1. sont des perméases.
- ☐ 2. maintiennent des différences de concentration ionique entre le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire.
- ☐ 3. sont constitués par des lipoprotéines transmembranaires.
- ☐ 4. sont tous ligand-dépendants.
- ☐ 5. s'ouvrent tous en réponse à une dépolymérisation de la membrane plasmique.

■ **10. Le transport actif :**

- ☐ 1. peut s'effectuer dans le sens du gradient de concentration.
- ☐ 2. est parfois couplé à un transport passif.
- ☐ 3. dépend de l'activité ATPasique du transporteur.
- ☐ 4. dépend de perméases transmembranaires ATP-dépendantes.
- ☐ 5. fait traverser la membrane plasmique uniquement par des molécules d'origine extracellulaire.

■ **11. La pompe à sodium :**

- ☐ 1. est une GTPase.
- ☐ 2. échange 3 ions sodium extracellulaires contre 2 ions potassium intracellulaires.
- ☐ 3. fonctionne grâce à la dégradation de l'ATP.
- ☐ 4. catalyse la déphosphorylation de l'ATP qui s'accompagne de la libération de 3 ions sodium dans le milieu extracellulaire.
- ☐ 5. possède un site de fixation de l'ouabaine : la formation du complexe ouabaine-pompe à sodium bloque le transport du potassium.

■ **12. Les vésicules à manteau de clathrine :**

- ☐ 1. se forment à partir de puits recouverts.
- ☐ 2. sont limitées par une membrane qui contient des récepteurs adaptine-dépendants.
- ☐ 3. s'internalisent grâce aux forces développées par l'assemblage des molécules de clathrine et d'autres molécules situées sur la face cytosolique.
- ☐ 4. sont en relation avec une ATPase, la dynamine, qui assure la fermeture des vésicules.
- ☐ 5. perdent leur revêtement juste au moment de leur fusion avec les endosomes précoces.

■ **13. Les vésicules d'endocytose :**

- ☐ 1. se déplacent grâce aux microtubules.
- ☐ 2. migrent grâce à la présence de CLIP170 (cytoplasmic linker protein) qui relie la vésicule aux microtubules.
- ☐ 3. fusionnent avec les lysosomes primaires.
- ☐ 4. s'associent pour former les endosomes précoces.
- ☐ 5. perdent uniquement leur récepteur avant de s'associer avec les lysosomes primaires.

■ **14. Le transporteur LDL :**

- ☐ 1. assure le transport des molécules solubles de cholestérol.
- ☐ 2. est formé par des phospholipides.
- ☐ 3. contient une apo-B-protéine.
- ☐ 4. perd spontanément, après endocytose, son revêtement.
- ☐ 5. libère, dans la cellule, du cholestérol qui est immédiatement incorporé dans la membrane des endosomes.

■ **15. Les récepteurs LDL :**

- ☐ 1. La synthèse des récepteurs LDL est contrôlée par le taux sanguin des phospholipides.
- ☐ 2. Le nombre des récepteurs dépend des besoins cellulaires en cholestérol.
- ☐ 3. Un taux élevé de cholestérol sanguin déclenche un mécanisme de défense : le nombre des récepteurs LDL augmente.

- ☐ 4. Une mutation fréquente (1 pour 500) génère des récepteurs de LDL défectueux, ce qui diminue l'absorption du cholestérol par les cellules.
- ☐ 5. Les récepteurs fixent les LDLs, uniquement en présence de clathrine.

■ 16. Les cavéoles :

- ☐ 1. Leur forme est modifiée par des molécules qui se lient au cholestérol de leur membrane.
- ☐ 2. Leurs fonctions sont modifiées par la fixation de molécules sur le cholestérol de leur membrane.
- ☐ 3. Leur internalisation est bloquée par la cytochalasine D.
- ☐ 4. Leur internalisation est bloquée par l'acide okadaïque.
- ☐ 5. La capture de l' α_2 -macroglobuline est facilitée par la fixation de la filipine sur le cholestérol de la membrane des cavéoles.

■ 17. La transcytose :

- ☐ 1. intéresse l'endocytose non spécifique.
- ☐ 2. aboutit à la formation de vésicules d'endocytose dont la membrane est porteuse d'un marqueur (une protéine de 108 kDa).
- ☐ 3. peut être déclenchée par la phosphorylation du récepteur de l'immunoglobuline.
- ☐ 4. dépend de l'intégrité des microtubules.
- ☐ 5. dépend des TAPs qui sont indispensables pour la fusion de la vésicule avec la membrane cellulaire.

■ 18. L'excrétion discontinue :

- ☐ 1. est contrôlée.
- ☐ 2. n'intéresse que les produits de sécrétion.
- ☐ 3. peut être induite par une baisse de potentiel de la membrane plasmique.
- ☐ 4. implique des vésicules recouvertes de COPs.
- ☐ 5. dépend de la libération du calcium à partir de l'appareil de Golgi.

■ 19. L'excrétion continue :

- ☐ 1. est dite constitutive.
- ☐ 2. achemine des constituants destinés à la membrane plasmique.

- ☐ 3. achemine des glycoprotéines destinées à la membrane plasmique.
- ☐ 4. achemine des substances solubles destinées au milieu extracellulaire.
- ☐ 5. se fait grâce à des vésicules recouvertes de COPs qui sont recyclés en direction de la membrane plasmique.

■ 20. À propos des microvillosités groupées :

- ☐ 1. Elles recouvrent le pôle apical des cellules absorbantes.
- ☐ 2. Elles contiennent des microfilaments d'actine associés à l' α -actinine.
- ☐ 3. La fimbrine, en présence d'un faible taux de calcium, intervient dans la polymérisation des microfilaments.
- ☐ 4. Une ATPase filamenteuse, appartenant à la classe de la myosine I, réunit le faisceau de microfilaments à la membrane de la microvillosité.
- ☐ 5. Le pôle négatif des microfilaments d'actine est englobé à l'apex des microvillosités par une substance amorphe.

■ 21. Les signaux autocrines :

- ☐ 1. sont des médiateurs chimiques synthétisés par une cellule et agissant sur une cellule appartenant au même type.
- ☐ 2. sont élaborés par la cellule réceptrice elle-même.
- ☐ 3. sont des médiateurs chimiques locaux.
- ☐ 4. regroupent des substances comme des facteurs de croissance, des eicosanoïdes.
- ☐ 5. sont sécrétés uniquement chez l'adulte.

■ 22. Les N-CAMs :

- ☐ 1. sont des molécules d'adhérence localisée, spécifiques du tissu nerveux.
- ☐ 2. existent dans presque tous les tissus.
- ☐ 3. possèdent une interaction homophile.
- ☐ 4. peuvent se lier d'une manière hétérophile avec d'autres molécules.
- ☐ 5. sont calcium-dépendantes.

■ 23. Les cadhérines :

- ☐ 1. sont des glycoprotéines calcium indépendantes.
- ☐ 2. sont des glycolipides calcium-dépendants.
- ☐ 3. forment une famille : chaque cadhérine est spécifique d'un tissu.
- ☐ 4. ne possèdent aucune spécificité cellulaire.
- ☐ 5. apparaissent au cours de l'embryogenèse.

■ 24. La superfamille des immunoglobulines :

- ☐ 1. regroupe des molécules d'adhérence possédant une double chaîne protéique comparable aux immunoglobulines.
- ☐ 2. fait partie des CAMs au même titre que les intégrines.
- ☐ 3. intervient dans l'adhérence intercellulaire homophile et hétérophile.
- ☐ 4. apparaît au cours du développement embryonnaire.
- ☐ 5. peut posséder des activités enzymatiques.

■ 25. Les jonctions intercellulaires :

- ☐ 1. interagissent avec le cytosquelette.
- ☐ 2. transmettent des signaux spécifiques intercellulaires.
- ☐ 3. possèdent une structure incapable de se modifier dans les organismes adultes.
- ☐ 4. permettent le maintien de la différenciation épithéliale.
- ☐ 5. sont indispensables au développement embryonnaire.

■ 26. Les jonctions serrées :

- ☐ 1. occupent le pôle apical des cellules épithéliales polarisées.
- ☐ 2. obturent plus ou moins complètement les espaces intercellulaires, en fonction de l'osmolarité du milieu intercellulaire.
- ☐ 3. contiennent, dans les membranes qui s'affrontent, des molécules d'occludine non spécifiques de ce type de jonction.
- ☐ 4. ne jouent aucun rôle morphologique.
- ☐ 5. permettent à la cellule de répondre, grâce à la présence de MAGUK, à des signaux intracellulaires.

■ 27. Les desmosomes :

- ☐ 1. sont les jonctions les plus différenciées.
- ☐ 2. maintiennent un espace entre les deux membranes desmosomales.
- ☐ 3. établissent des relations directes avec des microfilaments d'actine.
- ☐ 4. possèdent des plaques desmosomales adhérentes ou non au feuillet interne de chacune des deux membranes plasmiques.
- ☐ 5. possèdent toujours une lamelle centrale.

■ 28. Les complexes de jonctions :

- ☐ 1. contiennent une jonction serrée et une jonction intermédiaire, toutes deux de type zonulaire.
- ☐ 2. contiennent une jonction serrée et un desmosome zonulaire.
- ☐ 3. regroupent une jonction serrée, une jonction intermédiaire et un desmosome.
- ☐ 4. dessinent un cadre cellulaire formé essentiellement par le desmosome.
- ☐ 5. s'observent surtout dans l'épithélium intestinal mais aussi dans les épithéliums glandulaires.

■ 29. La perméabilité des connexons :

- ☐ 1. diminue avec la baisse du pH.
- ☐ 2. augmente avec la hausse du pH.
- ☐ 3. augmente avec l'augmentation de la concentration du calcium cytoplasmique.
- ☐ 4. augmente sous l'influence du glucagon.
- ☐ 5. baisse avec la phosphorylation des molécules de connexine.

■ 30. Les hémidesmosomes :

- ☐ 1. sont des jonctions asymétriques intercellulaires.
- ☐ 2. sont des complexes ovalaires multiprotéiques.
- ☐ 3. possèdent une plaque dense desmosomale adhérent toujours à la membrane plasmique.
- ☐ 4. relie les filaments intermédiaires du cytosquelette à la lame basale.
- ☐ 5. sont constitués par le même type de protéines que celles contenues dans les desmosomes.

1.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. La membrane est une structure continue.

2. La répartition des lipides est asymétrique : ainsi les sphingolipides, les phosphatidylcholines et les glycolipides sont plus abondants dans le feuillet externe de la bicouche, les phosphatidyléthanolamines dans le feuillet interne.

3. La composition chimique dépend des fonctions de la cellule.

2.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	V

1. Les groupements polaires sont situés sur la face cytosolique ou sur la face en rapport avec le milieu extracellulaire.

2. Les chaînes aliphatiques sont toujours perpendiculaires à la membrane plasmique : les mouvements de rotation des lipides ne se font qu'autour de leur grand axe.

3. Les microfilaments d'actine s'insèrent sur des protéines de la membrane plasmique.

4. La double couche lipidique est interrompue par places par les protéines intramembranaires.

3.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. La forme des protéines qui se déplacent dans la bicouche lipidique n'agit pas sur la fluidité de la membrane plasmique.

4. La baisse de la température augmente le nombre de doubles liaisons des chaînes aliphatiques et donc la fluidité de la membrane.

5. Le cell coat est en dehors de la couche lipidique externe : il n'a aucune action sur la fluidité.

4.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	F

2. Comme certains glucolipides ont une activité antigénique ou fixent des toxines bactériennes, il est normal qu'ils soient situés à la surface cellulaire : c'est le cas pour les galactolipides.

3. Les glycolipides sont situés dans le feuillet externe.

5. Les sphingolipides, les phosphatidylcholines et les glycolipides sont plus abondants dans le feuillet externe de la bicouche, les phosphatidyléthanolamines dans le feuillet interne.

5.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	V

1. Les études de la structure membranaire montrent que les lipides et les protéines ne se distribuent pas au hasard.

3. Le sigle DIG signifie « detergent insoluble glycolipid-enriched domain ».

4. Les DIGs peuvent fusionner les uns avec les autres.

6.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	V

3. Les cellules néoplasiques ne sont plus capables de retenir la fibronectine à leur surface par absence de son récepteur.

4. La fibronectine est élaborée par la plupart des cellules.

7.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. Les chaînes glucidiques du cell coat appartiennent soit à des protéines, soit à des lipides (glycolipides).

3. Bien qu'étymologiquement le terme glycophorine signifie « qui porte le sucre », les glycophorines définissent une classe particulière de glycoprotéines n'existant que dans la membrane des hématies.

8.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. L'adhérence à un substrat, qui modifie l'organisation et le fonctionnement du cytosquelette, inhibe la migration des molécules antigéniques.

4. La migration se fait vers le pôle postérieur (déterminé par le sens du déplacement du lymphocyte).

9.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Les canaux ioniques sont constitués par des protéines à passages multiples.

4. 5. Le fonctionnement des canaux ioniques dépend soit du voltage de la membrane plasmique, soit d'un ligand, soit d'un nucléotide cyclique, soit de force mécanique.

10.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Le transport actif dépense de l'énergie (fournie par l'hydrolyse de l'ATP) : il s'effectue contre le gradient de concentration.

5. Le transport actif intéresse aussi bien les molécules extracellulaires que les molécules intracellulaires.

11.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	F

1. La pompe à sodium est une ATPase.

2. Elle importe 2 ions potassium pour exporter 3 ions sodium.

5. L'ouabaïne est une molécule cardiotonique qui inhibe le fonctionnement de la pompe à sodium, ce qui augmente sa concentration dans le milieu extracellulaire.

12.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	F

2. Les récepteurs contenus dans la membrane des vésicules à clathrine sont clathrine-dépendants.

4. La fermeture de ces vésicules dépend d'une GTPase.

5. Les vésicules à clathrine perdent leur revêtement avant leur fusion avec les endosomes.

13.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. Les vésicules d'endocytose ne fusionnent pas avec les lysosomes, primaires ou non. Elles s'associent pour former les endosomes précoces ou fusionnent avec les endosomes précoces. Cette fusion nécessite la disparition du revêtement (complexe adaptine-clathrine).

5. Les récepteurs demeurent dans la membrane des endosomes précoces et sont rapidement recyclés vers la membrane plasmique.

14.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Le cholestérol est transporté sous la forme d'ester dans les transporteurs LDL.

4. Ces transporteurs perdent leur revêtement grâce à l'action des Hsp (heat shock protein).

15.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Le taux sanguin en lipides n'agit pas sur la synthèse du récepteur du LDL : seule la quantité de cholestérol intervient.

3. L'augmentation du taux sanguin de cholestérol bloque la synthèse des récepteurs du LDL.

5. Ces récepteurs fixent d'abord le cholestérol puis migrent vers les puits recouverts de clathrine.

16.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. L'acide okadaïque, un inhibiteur des phosphatases alcalines, stimule l'internalisation des cavéoles.

5. La filipine, qui se lie spécifiquement au cholestérol, bloque la capture de l' α_2 -macroglobuline.

17.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Les microtubules ne jouent aucun rôle dans la transcytose. Leur destruction par des agents chimiques n'inhibe pas la transcytose.

18.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. Les vésicules de l'excrétion discontinue sont des vésicules recouvertes de clathrine.

5. Le calcium joue un rôle dans cette forme d'exocytose, mais il est libéré à partir du RE.

19.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Les constituants des COPs se détachent de la membrane vésiculaire avant la fusion avec la membrane plasmique et forment un pool cytoplasmique.

20.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	F

2. Les faisceaux d'actine qui occupent l'axe des microvillosités ne sont pas contractiles : ils ne contiennent donc pas d' α -actinine.

3. La polymérisation des microfilaments d'actine dépend de l'action de la villine en présence de calcium.

5. C'est le pôle positif des microfilaments d'actine qui se localise dans une substance amorphe dans l'apex des microvillosités.

21.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Les signaux autocrines sont élaborés par la cellule réceptrice elle-même,

5. aussi bien chez l'embryon que chez l'adulte.

22.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Les N-CAMs existent dans presque tous les tissus.

5. Leurs interactions sont indépendantes du calcium.

23.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	V

1. 2. Les cadhérines sont des glycoprotéines calcium-dépendantes.

4. Chacun des types de cadhérines est spécifique d'un tissu (cadhérine N, P, etc.).

24.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	F

1. La superfamille des immunoglobulines regroupe des molécules possédant une seule chaîne protéique dont les extrémités sont semblables aux Ig.

2. Elles font partie des CAMs au même titre que les cadhérines, les sélectines.

5. Les immunoglobulines ne possèdent pas d'activité enzymatique.

25.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. Les jonctions intercellulaires sont des structures dynamiques susceptibles de se modifier au cours de l'embryogenèse ou de phénomènes pathologiques.

26.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Les molécules d'occludine sont spécifiques des jonctions serrées.

4. Ces jonctions, à cause de leur association avec les filaments d'actine, jouent un rôle dans la morphologie cellulaire,

5. de plus, ces jonctions reçoivent et transmettent des signaux extracellulaires.

27.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. Les desmosomes possèdent des plaques desmosomales sur lesquelles s'insèrent les filaments intermédiaires.

5. La lamelle centrale est inconstante.

28.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. 4. Les complexes de jonctions comprennent une jonction serrée et une jonction intermédiaire, toutes les deux zonulaires (l'ensemble de ces deux jonctions constitue le cadre cellulaire). La jonction intermédiaire est associée à un desmosome.

29.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. La baisse du pH diminue la perméabilité des jonctions communicantes.

3. L'augmentation de la concentration du Ca^{++} cytoplasmique diminue la perméabilité des jonctions communicantes.

30.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Les hémidesmosomes unissent les cellules basales à la lame basale et au chorion.

3. La plaque dense desmosomale n'adhère pas obligatoirement à la membrane plasmique.

5. Les hémidesmosomes contiennent des protéines différentes de celles observées dans les desmosomes.

- **1.** Les fonctions biologiques de la membrane ne dépendent-elles directement que des protéines (glycoprotéines, protéoglycanes) et des glycolipides? Expliquez votre réponse.
- **2.** Citez un caractère commun aux protéines intrinsèques et aux phospholipides.
- **3.** Quel est le principal caractère morphologique de la membrane plasmique?
- **4.** Les protéines membranaires sont amphiphiles. De quoi dépend cette amphiphilie?
- **5.** Sur quel type de cellule a-t-on étudié la structure de la membrane plasmique et pourquoi?
- **6.** Quelle est, en pourcentage, la composition de la membrane plasmique?
- **7.** Citez les principaux types de lipides membranaires et leur proportion?
- **8.** Après avoir recueilli un culot pur d'hématies, quelle est la première opération qu'elles subissent afin de pouvoir étudier leur constitution membranaire?
- **9.** La cellule dépense-t-elle de l'énergie pour maintenir en place la double couche lipidique? Expliquez votre réponse.
- **10.** Pourquoi les glycolipides ne se rencontrent-ils jamais dans le feuillet externe de la membrane plasmique?
- **11.** Quelle est la couche la plus fluide de la bicouche lipidique? Pourquoi?
- **12.** Une des couches de la bicouche lipidique est moins fluide que l'autre. Laquelle? La répartition du cholestérol en est-elle la cause? Expliquez votre réponse.
- **13.** À quel groupe appartiennent les molécules qui contrôlent l'accès de l'hormone thyroïdienne à ses récepteurs?
- **14.** Citez une famille de molécules responsable de l'antigénicité de surface.
- **15.** Quelles modifications subiraient la membrane plasmique si les chaînes hydrocarbonées étaient beaucoup plus courtes que celles qui occupent habituellement la bicouche?
- **16.** Que se produirait-il si toutes les chaînes hydrocarbonées de la membrane plasmique étaient saturées?
- **17.** Comment le cholestérol augmente-t-il la stabilité de la membrane plasmique?
- **18.** Certaines membranes plasmiques ne contiennent pas de cholestérol : citez un exemple.
- **19.** Le cholestérol est-il une molécule amphiphile?
- **20.** Les analyses de la composition de la membrane plasmique en protéines, cholestérol et phospholipides indiquent un rapport pondéral de 2:1:1. Sachant que le PM moyen des protéines est de 50 000, celui des phospholipides de 800 et celui du cholestérol de 386, calculez le nombre de molécules de lipide pour une molécule protéique.
- **21.** Citez une propriété commune à chacune des extrémités d'une protéine intramembranaire.
- **22.** La membrane plasmique est un assemblage de protéines et de lipides. Quel est le principal type de liaison qui en assure la cohérence?
- **23.** Pourquoi les régions transmembranaires des protéines ont-elles une structure α -hélicoïdale?
- **24.** Quel est le mode d'ancrage des protéines intrinsèques?
- **25.** Quel est le rôle du GPI?
- **26.** Quel est le caractère des liaisons des protéines périphériques avec les molécules de la membrane plasmique?

- **27.** Citez quatre acides aminés hydrophobes rencontrés le plus souvent dans les domaines protéiques transmembranaires.
- **28.** Pourquoi la tension superficielle de la membrane plasmique est-elle inférieure à celle de l'interface lipide/eau ?
- **29.** Quelles sont les propriétés des acides aminés qui constituent les boucles unissant les hélices α ?
- **30.** Décrire l'organisation moléculaire de la portion intramembranaire des protéines intrinsèques de la membrane plasmique.
- **31.** Sous quelles formes les chaînes glucidiques du cell coat existent-elles ?
- **32.** Quelles fonctions assume le complexe glycophorine/protéine 4.1 ?
- **33.** À quel groupe de molécules appartiennent les sucres du cell coat ?
- **34.** Quelle glycoprotéine extrinsèque joue un rôle équivalent à celui de la fibronectine ?
- **35.** Quelles sont les enzymes capables de lyser le cell coat ?
- **36.** Toute neutralisation d'un composant membranaire par un anticorps spécifique bloque l'adhérence cellulaire. Cette affirmation est-elle exacte ? Expliquez votre réponse.
- **37.** Comment se produisent les mouvements de flip-flop (passage d'une couche à l'autre) des lipides ?
- **38.** Quelle serait la principale modification physiologique de la membrane plasmique si toutes les chaînes aliphatiques des acides gras étaient beaucoup plus courtes ?
- **39.** Quel est le mouvement de déplacement le plus lent pour une molécule lipidique ?
- **40.** Décrire schématiquement les mouvements des molécules lipidiques.
- **41.** Particularités du déplacement des protéines membranaires.
- **42.** Citez une technique permettant d'étudier la mobilité latérale des protéines.
- **43.** La migration des IgG dépend de plusieurs facteurs. Lesquels ?
- **44.** Fonctions de la glycophorine et de la protéine 4.1.
- **45.** Quel est le mode d'ancrage des protéines transmembranaires ?
- **46.** Énumérez les facteurs qui limitent le déplacement des protéines de la membrane plasmique. Expliquez votre réponse.
- **47.** Qu'est-ce que la diffusion canalisée ?
- **48.** Citez une structure susceptible d'arrêter la diffusion latérale des lipides.
- **49.** Le passage de l'eau à travers la membrane plasmique produit des modifications de la bicouche lipidique. Lesquelles ?
- **50.** Décrire une structure artificielle susceptible de s'incorporer à la membrane cellulaire. Expliquez votre réponse.
- **51.** Citez deux particularités qui différencient les transports perméatifs des transports actifs.
- **52.** Dans le cas des protéines porteuses, où se fixent les inhibiteurs non compétitifs ?
- **53.** Comment est régulé le nombre des GLUT1 ?
- **54.** Quelle est la principale caractéristique morphologique des canaux ioniques ?
- **55.** Quel est le déterminisme du fonctionnement des canaux ioniques ?
- **56.** Quelles sont les molécules perdues par les ions lors de leur traversée d'un canal ionique ?
- **57.** Citez deux facteurs modifiant l'activité des canaux ioniques CGN-dépendants.

- **58.** Quel est le résultat du fonctionnement de l'ATPase Na^+/K^+ -dépendante?
- **59.** L'ATPase Na^+/K^+ transporte les ions sodium hors des cellules eucaryotes. Comment cette activité participe-t-elle au transport actif du glucose à l'intérieur de la cellule?
- **60.** Que provoque immédiatement le blocage de l'ATPase Na^+/K^+ ?
- **61.** Les canaux ioniques à Na^+ et l'ATPase Na^+/K^+ transportent le sodium à travers la membrane plasmique : quel est, de ces deux systèmes, celui qui les transporte le plus rapidement?
- **62.** Quel est le transporteur qui permet le fonctionnement des canaux voltage-dépendants?
- **63.** Énumérez sans les décrire les divers types de transports cytotiques.
- **64.** Expliquez la différence entre la pinocytose et la phagocytose.
- **65.** Quel est le mécanisme qui permet à la membrane plasmique de maintenir sa surface à peu près constante?
- **66.** Quels sont les rôle et fonction de la β -adaptine?
- **67.** Supposons que nous puissions détruire toutes les molécules d'adaptine, que se passe-t-il?
- **68.** Donnez la définition de la dynamine.
- **69.** Quelles sont les deux molécules nécessaires à la fermeture des vésicules à clathrine?
- **70.** Comment les vésicules de clathrine deviennent-elles des vésicules lisses?
- **71.** Quelle est la composition de la face externe des LDLs?
- **72.** Sous quelle forme le cholestérol est-il capturé par les cellules?
- **73.** Énumérez sans les décrire les divers types de vésicules qui se forment par pinocytose.
- **74.** Qu'est-ce qu'une cavéole?
- **75.** Énumérez les molécules susceptibles de former un manteau autour des vésicules.
- **76.** Au cours de la phagocytose, quel est le rôle de l'opsonisation?
- **77.** Énumérez les diverses étapes de la phagocytose.
- **78.** Citez les molécules qui interviennent dans l'endocytose induite.
- **79.** Quelle est la molécule qui intervient dans la fermeture des vésicules à clathrine?
- **80.** Énumérez les spécialisations morphologiques de la membrane plasmique.
- **81.** Décrivez schématiquement le mécanisme d'action de *E. coli* entéropathogène sur les microvillosités.
- **82.** Citez un cas de transmission d'information pour lequel il existe toujours un second messager.
- **83.** La voie IP_3 -diacylglycérol intervient dans la libération d'un ion lors des mouvements amœboïdes. Lequel?
- **84.** Les protéines membranaires peuvent-elles avoir une activité enzymatique? Expliquez votre réponse.
- **85.** Qu'est-ce qu'une liaison homophile?
- **86.** Citez deux CAMs dont la reconnaissance est homophile.
- **87.** Nommez les molécules directement responsables, chez les Vertébrés, de l'adhérence Ca^{++} -dépendante.
- **88.** Quelle est la localisation du site de liaison du calcium sur les cadhérines?
- **89.** Dans la transmission de l'information d'une hormone polypeptidique, trois molécules interviennent pour former le second messager. Citez ces molécules.

■ **90.** Citez une famille de molécules capables de reconnaître les glycoprotéines.

■ **91.** Citez le nom d'un groupe de molécules capables de reconnaître les résidus glucidiques?

■ **92.** Quelles sont les molécules qui participent à l'organisation des jonctions serrées (tight junctions)?

■ **93.** Quels sont les molécules reliées les unes aux autres par les jonctions adhérentes?

■ **94.** À quelles molécules appartiennent les domaines situés dans l'espace intercellulaire des jonctions intermédiaires?

■ **95.** Quels sont les IFs qui s'insèrent sur les plaques desmosomales?

■ **96.** Donnez un exemple de jonction où l'adhérence cellule/cellule est homophile.

■ **97.** En dehors de leur organisation moléculaire, citez une différence fondamentale entre les jonctions

communicantes (gap junctions) et les jonctions serrées (tight junctions).

■ **98.** Citez une molécule capable de passer d'une cellule à l'autre pour informer l'ensemble d'un tissu.

■ **99.** Quel est le rôle des connexons?

■ **100.** Les cellules K ne sont pas associées les unes aux autres par des jonctions communicantes (gap). Décrire l'expérience qui permet, en culture, de les rétablir temporairement.

■ **101.** Dans l'hémidesmosome, énumérez l'ordre des molécules qui unissent les filaments de cytokératine au collagène IV.

■ **102.** Donnez un exemple de maladies induites par une mutation des connexines.

■ **103.** L'intégrine : décrivez sa nature et son rôle.

■ **1.** Oui, car les lipides déterminent seulement la structure de base : ils créent une phase liquide bidimensionnelle, dans laquelle naviguent les protéines et les glycolipides dont dépendent les fonctions de la membrane plasmique.

■ **2.** L'amphiphilie.

■ **3.** La membrane plasmique est une structure trilamellaire lipoprotéique asymétrique, qui possède un feutrage glucidique externe, le cell coat.

■ **4.** Elle dépend des acides aminés, dont certains sont hydrophiles et d'autres hydrophobes.

■ **5.** Sur l'hématie, parce que cette cellule, dépourvue de noyau chez les Vertébrés supérieurs, ne contient aucun organe et que les culots de

centrifugation ne contiennent pratiquement que la membrane plasmique.

■ **6.** Protéines : 52 % ; lipides : 40 % ; glucides : 8 %.

■ **7.** Phospholipides : 55 % ; cholestérol : 25 % ; glycolipides : 20 %.

■ **8.** Une hémolyse.

■ **9.** Non. Une bicouche maintient sa structure sans dépense d'énergie. Par contre, la mise en place des lipides dans une bicouche lipidique consomme de l'énergie.

■ **10.** Les glycolipides sont synthétisés dans la lumière des citernes golgiennes et ne peuvent pas

passer dans la couche cytosolique de la membrane golgienne. Au moment de l'exocytose et de l'intégration de la membrane de la vacuole dans la membrane plasmique, ils seront donc situés sur la face de la membrane plasmique en rapport avec le milieu extracellulaire.

11. La couche interne, car les acides gras qui la constituent sont moins saturés que ceux de la couche externe.

12. La couche interne est la plus fluide. Le cholestérol se répartit uniformément entre les deux couches mais les acides gras qui constituent la couche interne sont moins saturés que ceux de la couche externe.

13. Aux gangliosides.

14. Les glycolipides.

15. Les forces qui permettent la formation de la bicouche seraient réduites de manière très importante à cause de la baisse de l'hydrophobie. La membrane serait donc moins stable.

16. La fluidité membranaire disparaîtrait.

17. En intercalant son noyau stéroïde dans la zone des chaînes aliphatiques.

18. Dans la membrane plasmique des cellules procaryotes (bactéries).

19. Oui, car il possède un groupement polaire hydrophile et une chaîne hydrophobe.

20. Il y a environ 100 molécules lipidiques (cholestérol + phospholipides) pour une molécule protéique $2 \times 50\,000$ / $(386 + 800)$.

21. Les extrémités d'une protéine, amino-terminale ou carboxy-terminale, sont toutes deux hydrophiles.

22. Des liaisons non covalentes.

23. La structure en hélice permet aux fonctions CO et NH des peptides de former des liaisons hydrogènes les unes avec les autres, neutralisant ainsi le caractère polaire des liaisons peptidiques.

24. Pour la majorité des protéines, des liaisons non covalentes de forte énergie les lient aux lipides par l'intermédiaire d'un domaine riche en aminoacides

hydrophobes, comme la leucine, la phénylalanine, le tryptophane, la valine.

25. Le glycosylphosphatidylinositol ancre, par des liaisons covalentes, une protéine membranaire située en dehors de la bicouche à une chaîne d'acide gras du feuillet externe de la bicouche lipidique.

26. Il s'agit de liaisons non covalentes, plus faibles que les liaisons entre protéines transmembranaires et bicouche lipidique.

27. La leucine, la phénylalanine, le tryptophane, la valine.

28. L'interface lipide/eau a une tension superficielle de 15 dynes/cm^2 . Celle de la membrane plasmique est de $0,2$ à 3 dynes/cm^2 à cause de la présence de molécules protéiques dans la phase lipidique.

29. Les boucles contiennent surtout des acides aminés hydrophobes.

30. La portion intramembranaire des protéines transmembranaires est une région α -hélicoïdale, formée de 20 à 25 acides aminés non polaires.

31. Sous la forme de chaînes oligosaccharidiques et polysaccharidiques liées de façon covalente aux protéines membranaires ou sous la forme de chaînes oligosaccharidiques liées de façon covalente aux lipides.

32. Dans l'hématie, ce complexe stabilise et maintient les propriétés mécaniques de la membrane.

33. Ils appartiennent à des protéines (glycoprotéines et protéoglycanes) et à des lipides (glycolipides).

34. La laminine.

35. La hyaluronidase et la neuraminidase.

36. Non. Seuls les anticorps dirigés contre les glycoprotéines intervenant dans l'adhérence bloquent cette adhérence.

37. Les mouvements de flip-flop dépendent d'une enzyme, la flippase.

38. La fluidité de la membrane serait considérablement augmentée.

39. Les mouvements de flip-flop (100 fois plus lents que les mouvements de diffusion).
40. Les mouvements des molécules lipidiques sont des mouvements de diffusion latérale, de rotation autour de leur axe longitudinal, de bascule (flip-flop). Ce mouvement de bascule, très lent, ne peut se faire qu'en présence de la flippase.
41. Les protéines de la membrane plasmique se déplacent facilement dans des compartiments membranaires. Le passage d'un compartiment à un autre est relativement plus lent. La vitesse de diffusion latérale des protéines est déterminée par leur taille et la fréquence des sauts ou passages entre les compartiments.
42. La technique de récupération de la fluorescence après photoblanchiment (FRAP : fluorescence recovery after photobleaching) ou la technique SPT (single particle tracking; suivie d'une seule particule).
43. La migration des IgG dépend des microfilaments d'actine, de l'énergie libérée à partir de l'ATP et du flux cortical provoqué par le cytosquelette.
44. La glycophorine et la protéine 4.1 interviennent dans la stabilité de la membrane plasmique.
45. La majorité des protéines transmembranaires sont liées aux lipides de la bicouche par des liaisons non covalentes, de forte énergie (par l'intermédiaire d'un domaine riche en acides aminés hydrophobes : la leucine, la phénylalanine, le tryptophane, la valine).
46. Le cytosquelette : les protéines membranaires se déplacent entre deux filaments du cytosquelette ou entre 2 MTs (diffusion canalisée); les protéines se lient au cytosquelette. La matrice extracellulaire : les protéines qui interagissent avec la matrice (par exemple les SAMs) ne peuvent plus se déplacer.
47. Dans la diffusion canalisée, les protéines se déplacent entre 2 MFs ou entre 2 MTs.
48. Les jonctions serrées (tight junctions).
49. Dislocation de la bicouche. Les phospholipides se disposent localement en micelles. Les protéines se rapprochent les unes des autres (interaction protéique avec formation de pores) pour former des canaux hydrophiles.
50. Les liposomes qui sont des microsphères limitées par une bicouche exclusivement lipidique et qui peuvent, pour cette raison, s'incorporer facilement dans la bicouche lipidique de la membrane plasmique.
51. L'énergie est fournie par le gradient de concentration pour les transports perméatifs, par la cellule (ATP) pour les transports actifs. Le transport s'effectue dans le sens du gradient de concentration pour les transports passifs et contre le gradient de concentration dans les transports actifs.
52. Ils se fixent en dehors du site de fixation de la protéine à transporter et modifient la forme de la protéine porteuse.
53. La baisse du glucose sanguin provoque une augmentation du nombre de molécules de GLUT1.
54. Les canaux ioniques sont des protéines à passages multiples, qui possèdent une spécificité importante pour un ligand et permettent un passage dans les deux sens.
55. Le gradient de concentration. L'ouverture du canal peut être déclenchée par un facteur mécanique, électrique ou par la fixation d'un neurotransmetteur sur un site récepteur du canal ionique.
56. Les molécules d'eau.
57. La calmoduline en présence de calcium et le calcium endogène.
58. L'ATPase Na^+/K^+ -dépendante, ou pompe à sodium, assure le passage simultané de 3 ions Na^+ dans le sens cytosol $\rightarrow$ milieu extracellulaire et de 2 ions K^+ dans le sens milieu extracellulaire $\rightarrow$ cytosol.
59. Les ions sodium retournent dans la cellule grâce à un symport Na^+ -glucose. C'est l'énergie fournie par le gradient de concentration du sodium qui permet la diffusion facilitée du glucose.
60. Le blocage de l'ATPase Na^+/K^+ provoque l'augmentation du Na^+ intracellulaire, ce qui entraîne une élévation du calcium intracellulaire et renforce la contraction du muscle cardiaque.
61. Les canaux ioniques à Na^+ .
62. L'ATPase Na^+/K^+ .

- 63.** La pinocytose, la phagocytose, la potocytose.
- 64.** La pinocytose permet l'intériorisation de solutés par invagination de la membrane, tandis que la phagocytose capture des débris cellulaires en projetant des pseudopodes qui, en fusionnant, finissent par former un phagosome.
- 65.** L'exocytose qui compense les pertes de membrane par endocytose.
- 66.** Elle intervient dans la formation des vésicules à clathrine (endocytose induite ou contrôlée) en s'assemblant aux molécules de clathrine et à la séquence FRXY des récepteurs membranaires.
- 67.** L'endocytose déclenchée par la fixation d'un ligand sur les récepteurs membranaires est inhibée, car la clathrine ne peut plus se fixer sur la membrane.
- 68.** La dynamine est une GTPase qui forme un complexe avec le GTP et qui assure la formation des vésicules à clathrine, par exemple, dans l'endocytose spécifique.
- 69.** La dynamine et GTP.
- 70.** Par désassemblage de la clathrine par Hsp70 (une chaperonine de déshabillage).
- 71.** La face externe des LDLs se compose d'une couche de phospholipides et de cholestérol : elle contient aussi une apo-B-protéine.
- 72.** Sous la forme de cholestérol estérifié contenu dans un transporteur appelé LDL.
- 73.** Des vésicules dites lisses, des vésicules à coatomères, des vésicules à clathrine.
- 74.** Une spécialisation membranaire qui se forme par potocytose et qui est constituée par un DIG.
- 75.** Clathrine, adaptine, coatomère, cavéoline.
- 76.** L'opsonisation est principalement responsable de l'adhérence de la bactérie ou du matériel opsonisé à la membrane du macrophage.
- 77.** Opsonisation (des IgG recouvrent les éléments étrangers). Migration par chimiotactisme en direction des éléments à phagocyter. Contact, activation des phagocytes, adhésion puis phase rhéologique.
- 78.** Des récepteurs membranaires adaptine-dépendants, l'adaptine, la clathrine, la dynamine et le GTP.
- 79.** La dynamine.
- 80.** Les microvillosités isolées ou groupées, les stéréocils, les cils vibratiles, les jonctions intercellulaires, les replis de la membrane plasmique.
- 81.** Ces bactéries sécrètent l'intimine libérée par le pôle qui adhère à la surface des entérocytes. Cette protéine provoque la formation, à la surface de l'entérocyte, d'une colonne qui fait disparaître les microvillosités, ce qui provoque une malabsorption.
- 82.** Transmission d'information portée par les hormones polypeptidiques.
- 83.** Le calcium.
- 84.** Oui. Par exemple, les protéines impliquées dans la transmission de signaux ont une activité enzymatique. Ainsi, l'adénylcyclase, une protéine intramembranaire, est activée par la protéine G trimérique lorsqu'un récepteur membranaire fixe son ligand.
- 85.** Une liaison homophile est une liaison réalisée entre deux molécules appartenant au même type. Elle concerne des glycoprotéines calcium-dépendantes dont le domaine carboxy-terminal extracellulaire possède 15 acides aminés communs aux lectines.
- 86.** N-CAM et L-CAM.
- 87.** Les cadhérines.
- 88.** Ce site est localisé à l'extrémité aminotermine dans le milieu extracellulaire.
- 89.** Le récepteur, la protéine G trimérique, l'adénylcyclase.
- 90.** Les lectines qui reconnaissent certaines chaînes latérales oligosaccharidiques et s'unissent à elles (par exemple la ricine qui unit les galactoses).
- 91.** Les sélectines.
- 92.** L'actine F, la cinguline, ZO1, ZO2, l'occludine, la cadhérine E calcium-dépendante, MAGUK.

93. Les jonctions adhérentes intercellulaires relient les MFs des cellules voisines.

94. Aux cadhérines.

95. Les IFs de cytokeratine dans les cellules épidermiques, les IFs de desmine dans le muscle strié.

96. Les desmosomes ponctuels.

97. Les tight junctions obturent complètement l'espace intercellulaire. Les gap junctions ne l'obturent pas et assurent le passage d'informations d'une cellule à l'autre.

98. L'AMPc.

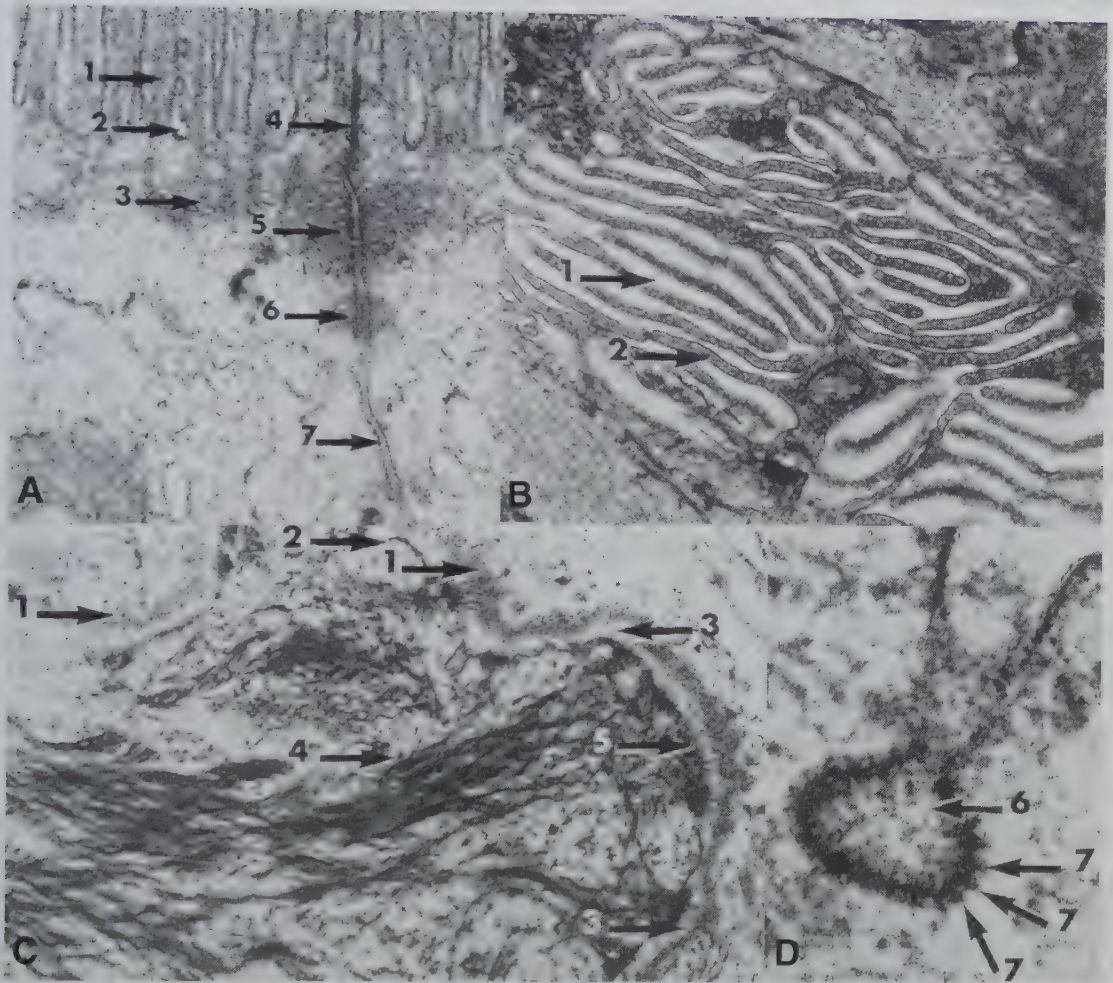
99. Les connexons assurent le passage de petits peptides (PM inférieur à 1 500 Da) et la transmission d'informations (par exemple dans le tissu cardiaque ou dans le muscle lisse du myomètre).

100. Insertion dans des liposomes de l'ARNm Cx43. Ces liposomes sont déposés dans une culture de CK. Des connexons se différencient et disparaissent après 24 heures.

101. Cytokératine, desmoplakine, intégrine, laminine, collagène IV.

102. La mutation de Cx32 induit une neuropathie héréditaire, la maladie de Charcot-Marie-Tooth (atrophie musculaire avec perte des réflexes tendineux) qui est due à une démyélinisation des fibres nerveuses. La mutation de Cx43 provoque des malformations cardiaques.

103. L'intégrine est une glycoprotéine trans-membranaire intervenant dans l'adhérence cellule/matrice. Son activité dépend du magnésium et du calcium. Son extrémité carboxy-terminale cytosolique se lie aux protéines de liaison taline/vinculine. L'extrémité extracellulaire reconnaît le motif RGDS (contenu dans la fibronectine, par exemple).



■ Cliché A :

Proposition :

Le cliché A représente deux cellules ciliées.
Seule la base des tiges est visible.

Flèche 1 : axonème.

Flèche 2 : espace séparant la base des cils.

Flèche 3 : terminal web.

Flèche 4 : jonction serrée.

Flèche 5 : desmosome zonulaire.

Flèche 6 : desmosome.

Flèche 7 : membrane plasmique et espace intercellulaire.

■ Cliché B :

Flèche 1 : microvillosités.

Flèche 2 : espace intermicrovillositaire.

■ Cliché C :

Flèche 1 : lame basale.

Flèche 2 : lame basale.

Flèche 3 : espace sous-épithélial.

Flèche 4 : MFs.

Flèche 5 : plaque cytoplasmique d'ancrage.

■ Cliché D :

Flèche 1 : cavité d'une vésicule à manteau de clathrine.

Flèche 2 : COPs.

■ Cliché A :

F : pôle apical de deux entérocytes avec la base des microvillosités.

Flèche 1. *F : faisceaux d'actine.*

Flèche 2. *F : espace intermicrovillositaire.*

Flèche 3. *V.*

Flèche 4. *V.*

Flèche 5. *V.*

Flèche 6. *V.*

Flèche 7. *V.*

■ Cliché C :

Flèche 1. *V.*

Flèche 2. *F : membrane plasmique.*

Flèche 3. *V.*

Flèche 4. *V.*

Flèche 5. *V.*

■ Cliché D :

Flèche 1. *V.*

Flèche 2. *F : revêtement de clathrine.*

■ Cliché B :

Flèche 1. *F : interdigitation.*

Flèche 2. *F : espace intercellulaire.*

Les microfilaments d'actine

Les filaments intermédiaires

Les microtubules

La mobilité cellulaire, les mouvements de certains organites dans la cellule ont trouvé leur explication lorsque furent isolées, en 1965 par Wolfe, des structures cylindriques creuses (baptisées microtubules en 1963, par Slautterback) qui avaient été observées pour la première fois dans le fuseau mitotique par De Harven et Bernhard en 1956. Peu après, les protéines motrices ou non qui leur sont associées furent découvertes, ainsi que les microfilaments non contractiles (les filaments intermédiaires), les protéines contractiles universelles, l'actine et la myosine (isolées en 1966) et les protéines associées.

Le cytosquelette est une structure constituée par des *filaments non spécifiques* (communs à toutes les cellules), des *microfilaments d'actine*, des *filaments intermédiaires* spécifiques de certaines cellules (GFAP, glial fibrillary acidic protein; protéine acide des cellules gliales, cytokératine des tissus épithéliaux, neurofilaments des tissus nerveux), et des *microtubules* formés de *tubuline α* et β .

Tous ces éléments n'ont pas uniquement un rôle de squelette : en association avec d'autres protéines, ils assument d'autres fonctions, telles que des mouvements de déplacement, et ils possèdent des facultés très importantes d'adaptation.

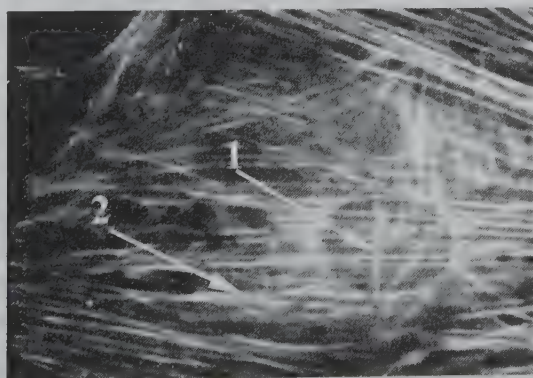
Les microfilaments d'actine

Les microfilaments d'actine (MFs), d'un diamètre compris entre 6 et 8 nm, sont des polymères de l'actine. Ils sont ubiquitaires chez les Eucaryotes. Ils représentent 5 % des protéines dans les cellules non musculaires et 20 % dans les cellules musculaires. Les techniques de coloration par des anticorps fluorescents anti-actine mettent facilement en évidence des faisceaux de microfilaments dans le cytoplasme (fig. 3.1).

Fig. 3.1

Faisceaux de MFs.
Fibroblastes en culture. Mise en évidence par anticorps anti-actine marqués par un colorant fluorescent. (E. LAZARIDES et K. WEBER).

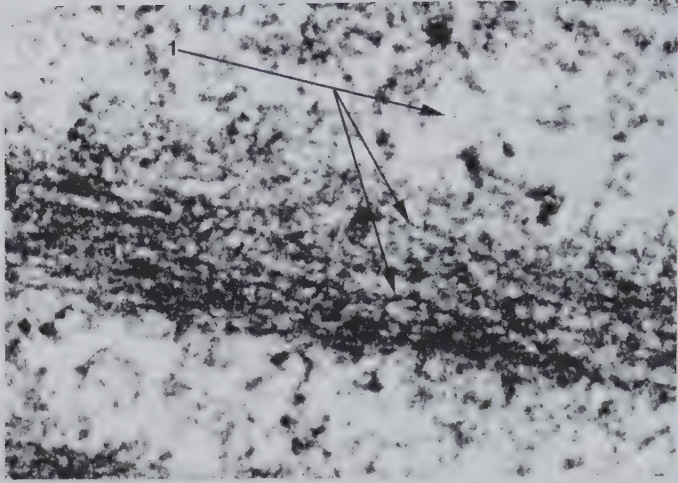
- 1. Emplacement du noyau.
- 2. Microfilaments d'actine.



Les éléments qui constituent ces faisceaux sont visibles en microscopie électronique (fig. 3.2).

Fig. 3.2

Faisceau de MFs.
Photomicrographie électronique à transmission ($\times 60\,000$). Il correspond à une seule structure linéaire fluorescente de la figure 3.1
1. Microfilament d'actine (R. GOLMAN, Exp. Cell Res.).



Les trois classes d'actine

Trois classes d'actine sont actuellement connues. L'*actine α* est présente essentiellement dans les fibres musculaires striées et dans les cellules musculaires lisses, l'*actine β* et l'*actine γ* dans les cellules non musculaires.

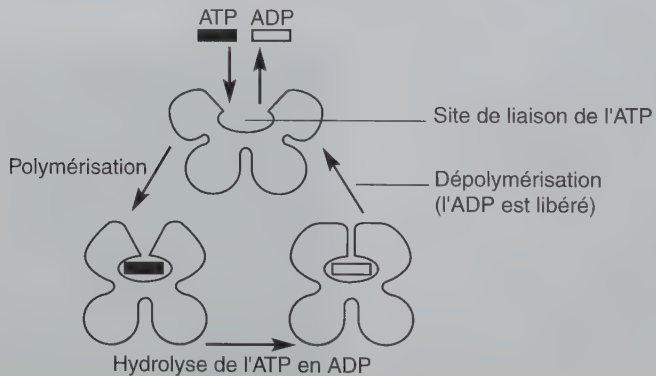
L'actine existe dans toutes les cellules (y compris les hématies) sous deux formes : la forme globulaire ou *actine G* et la forme fibrillaire ou *actine F*.

■ La forme G, forme de stockage

La forme G est la forme de stockage (fig. 3.3). Cette protéine, d'un poids moléculaire de 42 kDa, est caractérisée par un acide aminé rare, la 3-méthyl-histidine. Elle a une forme bivalve; elle possède en effet deux domaines à concavité interne tournés vers le site de liaison de l'ATP.

Fig. 3.3

Forme de l'actine G. Structure en bivalve pouvant s'ouvrir pour fixer l'ATP dans un site de liaison.



■ La forme F, polymère d'actine G

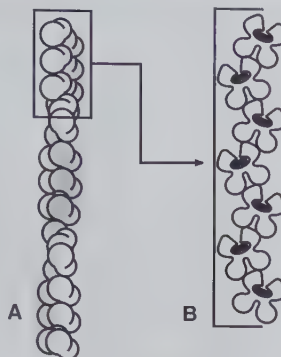
L'actine F provient de la polymérisation de l'actine G (fig. 3.4). Elle a la forme d'un filament d'un diamètre de 7 nm.

Fig. 3.4

Actine F.

A. Les monomères d'actine sont disposés de manière à former un polymère hélicoïdal.

B. Disposition des monomères; chaque monomère contient une molécule d'ATP.



Polymérisation et dépolymérisation de l'actine F dans les cellules non musculaires

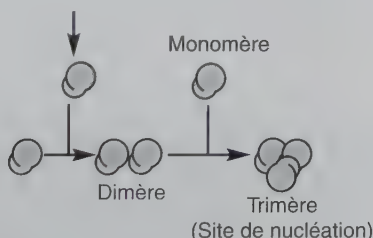
La polymérisation et la dépolymérisation de l'actine sont nécessaires à l'activité des cellules non musculaires. Une telle alternance d'assemblage et de désassemblage ne se produit en revanche pas dans le tissu musculaire.

■ La nucléation

La polymérisation dépend de la présence et de la concentration de Mg^{++} , K^+ , d'ATP et d'actine G. Elle débute, après un temps de latence, par la *phase de nucléation* (fig. 3.5). Pendant cette phase, trois molécules d'actine s'assemblent pour former un trimère qui agit comme un site de nucléation. Les sites de nucléation sont souvent liés aux régions de la membrane cellulaire sur lesquelles s'ancore l'extrémité positive des MFs.

Fig. 3.5

Nucléation. La formation de l'actine F, polymère hélicoïdal de l'actine G, commence par la phase de nucléation, au cours de laquelle les molécules d'actine G forment un dimère, puis un trimère qui agit comme un site de nucléation.



■ La polymérisation

Cette phase est suivie par une phase au cours de laquelle les molécules d'actine G s'associent les unes aux autres rapidement. Elle est réversible. Elle se déroule jusqu'à une phase critique, qui correspond à une diminution de la concentration de l'actine G du pool cellulaire : les monomères se lient alors au filament à la même vitesse qu'ils se dissocient.

Diverses protéines de liaison à l'actine déterminent la nucléation et la polymérisation et, par voie de conséquence, la position et la longueur des MFs.

La polymérisation se fait en présence d'ATP et de Mg^{++} . Mais il n'y a pas d'hydrolyse de l'ATP pour que la polymérisation se produise. Une molécule d'ATP se fixe sur le site de liaison de chaque molécule d'actine G.

■ Le rôle de la protéine WAS (WASp)

WASp (WAS, Wiskott-Aldrich syndrome) intervient dans la polymérisation et l'organisation des MFs. Une mutation dans le gène WAS porté par le chromosome X provoque une maladie héréditaire très grave, le syndrome de Wiskott-Aldrich. Ce syndrome est caractérisé par une immunodéficience sévère. Les lymphocytes ne contiennent presque plus de faisceaux d'actine, car la polymérisation de l'actine G n'a plus lieu. La membrane plasmique de ces plasmocytes n'émet que de très rares *filopodes* (expansions digitiformes de la membrane plasmique contenant des faisceaux d'actine): ils ne peuvent plus migrer. Les plaquettes sanguines (thrombocytes) mal formées (à cause de l'absence de MFs dans le cortex cellulaire) sont rapidement détruites dans la rate.

Localisation de WASp

WASp se localise dans les régions où l'actine est polymérisée. WASp peut se lier à la membrane plasmique : son extrémité amino-terminale contient une séquence homologue de la pleckstrine. Ces domaines PH (pleckstrine homolog; homologue de la pleckstrine) possèdent une extrémité chargée positivement et s'ancrent sur la membrane plasmique en se liant au PIP2 (phosphatidylinositol biphosphate) ou à l'IP3 (inositol 1,4,5-triphosphate) après activation des récepteurs qui régulent la polymérisation de l'actine.

Régulation de l'activité de WASp.

Son activité est régulée par les stimuli extracellulaires; de petites protéines G de la famille Rho (cdc42 et Rac) interviennent dans le couplage.

Le complexe cdc42/WASp.

WASp peut se combiner à la protéine cdc42. cdc42 est un membre de la superfamille ras des petites protéines G : cdc42, lié au GTP ou au GDP, agit comme un interrupteur sur de nombreuses activités cellulaires. Il ne se forme que lorsque cdc42 transporte GTP, c'est-à-dire lorsque cdc42 a été activé par un stimulus. Il contrôle alors la polymérisation de l'actine : une telle activité induit le remodelage du réseau d'actine, comme par exemple la formation des filopodes qui aide la cellule à se mouvoir en réponse à un stimulus.

■ Les cytochalasines, inhibiteurs de la polymérisation de l'actine G

Les cytochalasines extraites de champignons microscopiques, en se fixant sur l'extrémité positive des MFs, empêchent la fixation de nouvelles molécules d'actine F : elles inhibent la polymérisation de l'actine.

■ Les phalloïdines, inhibiteurs de la dépolymérisation de l'actine F

Les phalloïdines, qui provoquent ces intoxications presque toujours mortelles (intoxication par l'amanite phalloïde), inhibent la dépolymérisation des MFs. Ces molécules, en se fixant sur les côtés des MFs et en adhérant sur chacun des monomères, les réunissent et empêchent ainsi la libération des monomères d'actine.

■ La polarisation des microfilaments

Ils possèdent une extrémité plus (positive) et une extrémité moins (négative) (fig. 3.6). Les monomères d'actine d'un MF sont orientés uniformément. Cette

Fig. 3.6

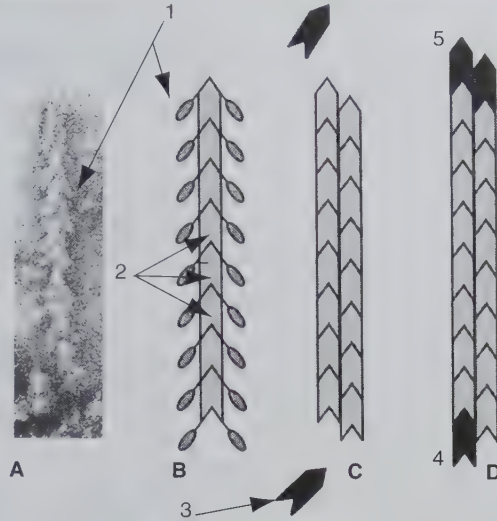
Polarité des microfilaments.

A. Coloration négative montrant des microfilaments exposés à une solution contenant de la méromyosine lourde (S1). S1 se fixe sur les MFs et chaque sous-unité prend l'aspect d'une flèche. L'orientation des segments S1 souligne la polarité des MFs (la combinaison avec la myosine avait permis d'établir la nature des MFs).

B. 1. Segment S1 de la méromyosine. 2. Microfilament d'actine. 3. Monomère d'actine.

C. La polymérisation et la dépolymérisation se déroulent aux deux extrémités, mais la polymérisation est plus rapide que la dépolymérisation au niveau de l'extrémité positive.

D. Il en résulte que le MF s'allonge au niveau de l'extrémité positive. 4. Extrémité négative. 5. Extrémité positive.



orientation peut être mise en évidence en mettant des MFs en présence de segments S1 de la myosine. Il se forme un complexe actine/segment S1 qui dessine des pointes de flèches en direction de l'extrémité plus. La croissance de l'extrémité positive est plus rapide que celle de l'extrémité négative. Une telle différence de la vitesse de croissance dépend du changement de la conformation que la molécule d'actine G doit subir. Les molécules d'actine G doivent modifier leur conformation pour s'associer à l'extrémité négative : ce qui n'est pas le cas pour l'extrémité positive.

Les MFs proviennent de la polymérisation de la forme de stockage de l'actine, l'actine G, dont il existe trois isoformes (actine α pour les muscles, β et γ pour les cellules non musculaires). La polymérisation se déroule après une phase de nucléation : elle est contrôlée par la protéine Was qui joue un rôle de relais entre les récepteurs intramembranaires et les MFs. Elle est inhibée par la cytochalasine et les phalloïdines. Les MFs sont polarisés.

Les microfilaments des cellules non musculaires

L'instabilité dynamique caractérise les MFs des cellules non musculaires. Les MFs possèdent une durée de vie courte : ils se dépolymérisent rapidement. Au moment de la dépolymérisation, une molécule d'ATP se substitue à chaque molécule d'ADP. Cette instabilité dynamique est nécessaire au mouvement de tapis roulant qui se déroule par adjonction de monomères (actine G) à l'extrémité positive du microfilament et par disjonction des monomères à l'extrémité négative (fig. 3.7).

L'actine G passe par des alternances de polymérisation et de dépolymérisation, l'actine F par des états de réticulation et de déréiculation, des états fasciculés et défasciculés.

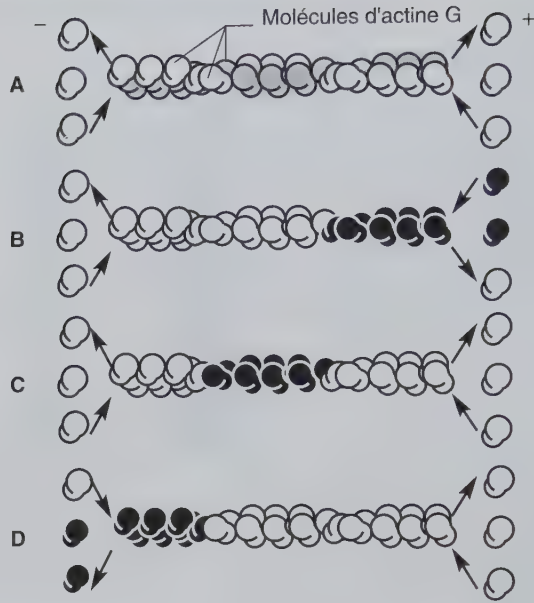
Fig. 3.7

Actine F.

A. Organisation d'un MF. Disposition en une « spirale » monocaténaire des molécules d'actine.

B. La polymérisation et la dépolymérisation se produisent à chaque extrémité, mais la polymérisation est plus rapide que la dépolymérisation à l'extrémité positive (c'est l'inverse à l'extrémité négative). Les molécules d'actine, qui s'incorporent dans le MF à l'instant T, se retrouvent plus loin à l'instant T + 1. Ce mouvement de déplacement des molécules d'actine est décrit sous le nom de mouvement de *tapis roulant*.

C et D. Les molécules d'actine incorporées dans le MF (en B) progressent en direction de l'extrémité. (Les molécules d'actine sont colorées en noir pour montrer leur déplacement dans le MF.)



■ Localisation

Dans les cellules eucaryotes, l'actine est la protéine la plus abondante (5 % des protéines totales). Elle se répartit dans la totalité du cytoplasme : cependant, dans les cellules animales, sa concentration est plus grande dans la région périnucléaire, où elle se dispose en une corbeille.

À la périphérie des cellules animales, sous la membrane plasmique, les MFs se disposent en faisceaux ou en réseaux. C'est le cortex cellulaire. Lorsque le cortex est épais, les MFs se disposent en un réseau tridimensionnel ; lorsqu'il est mince, ils constituent des faisceaux parallèles à la membrane plasmique. Les MFs du cortex jouent un rôle mécanique : la forme de la cellule dépend de la répartition, de la disposition et de l'importance du réseau d'actine qui repousse les organites vers l'endoplasme.

■ Les protéines de liaison de l'actine

Les protéines de liaison ou ABP (actin binding protein ; protéines de liaison de l'actine) sont des protéines qui, en s'associant aux MFs, interviennent dans leur polymérisation et leur dépolymérisation, leur stabilisation, leur organisation en faisceaux, leur organisation en réseaux, leur fragmentation, leur fixation sur la face interne de la membrane plasmique, leur destruction ou leur fragmentation, etc. Elles constituent des assemblages temporaires de type musculaire et, en association avec les MFs, elles constituent un cytosquelette cortical qui contrôle la forme des cellules (par exemple la forme des hématies). En fonction du rôle joué par les MFs dans la cellule, l'actine s'associe à des protéines de liaison différentes.

Classification et fonctions

Les protéines ABP comprennent des protéines associées à l'actine G et des protéines associées aux MFs. Schématiquement les protéines ABP se classent en :

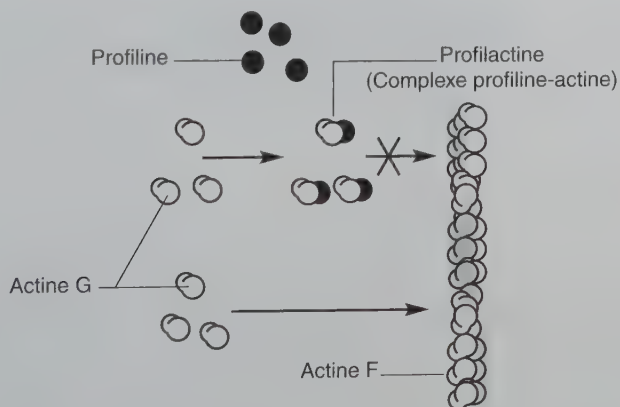
- protéines régulant la dépolymérisation (ADF : actin destabilizing factor; facteur de déstabilisation de l'actine),
- protéines de séquestration des monomères (profiline, thymosine β , dépacine, destrine),
- protéines de blocage des extrémités (α -actinine, cap-Z, protéine de coiffe),
- protéines de stabilisation (tropomyosine),
- protéines d'inhibition de la formation d'actomyosine (caldesmone),
- protéines de réticulation ou de liaison croisée (filamine, gélactine),
- protéines d'empaquetage qui regroupent les MFs en faisceaux contractiles (α -actinine) ou en faisceaux non contractiles (fimbrine, villine),
- protéines de fragmentation des MFs (brévine, gelsoline, séverine, fragmine),
- protéines de liaison aux membranes (dystrophine, vinculine),
- protéines de stabilisation latérale (nébuline).

Les protéines régulant la dépolymérisation. — ADF, par exemple, intervient dans la dépolymérisation de l'actine F en actine G. Ce type de protéines régule le taux de renouvellement des MFs (turn over).

Les protéines de séquestration. — Les protéines de séquestration des monomères régulent la polymérisation de l'actine G. Le cytoplasme contient un pool important d'actine G : la concentration en actine G est supérieure au seuil nécessaire à la polymérisation. Si ces protéines de séquestration n'existaient pas, une polymérisation spontanée de l'actine G en actine F se produirait. La *profiline*, la *thymosine β* et le facteur de dépolymérisation de l'actine (ADF : actin-depolymerizing factor ou cofiline) jouent un rôle essentiel : ils peuvent soit inhiber la polymérisation, soit la promouvoir.

La *profiline* (fig. 3.8) se lie à chaque monomère d'actine, inhibe la nucléation et donc la polymérisation. Elle forme la profilactine qui néanmoins, par action de l'ATP, peut former l'actine F susceptible de se dépolymériser en présence de magnésium et de redonner de la profilactine.

Fig. 3.8
Inhibition de la polymérisation de l'actine par la profiline.



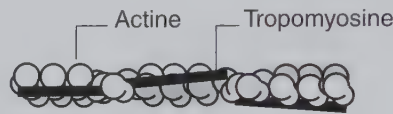
Les *thymosines β* constituent une famille comprenant les plus petites protéines capables de se lier à l'actine. Il s'agit d'isoformes comme la thymosine β 4, β 9, β 10, qui

existent chez de nombreux Vertébrés. La thymosine $\beta 4$ possède une affinité 100 fois plus grande pour l'ATP-actine que pour l'ADP-actine. Elle provoque un blocage de la polymérisation en se fixant sur chaque molécule d'actine G. La thymosine $\beta 4$ existe dans les neutrophiles et les plaquettes à une concentration suffisante pour séquestrer la totalité de l'actine G.

Les protéines de blocage des extrémités (protéines de coiffe). — Elles contrôlent la longueur des MFs. L' α -actinine, cap-Z appartiennent à ce groupe de protéines : en coiffant l'extrémité positive d'un MF, elles provoquent sa dépolymérisation puisque seule l'extrémité négative reste fonctionnelle. Certaines protéines de coiffe peuvent simultanément inhiber la croissance d'un MF tout en provoquant, par nucléation, la formation d'un nouveau MF.

Les protéines de stabilisation (tropomyosine). — Elles maintiennent la structure des MFs. Les cellules non musculaires possèdent de nombreuses isoformes de la *tropomyosine* (TM), une molécule de liaison de l'actine d'abord découverte dans les cellules musculaires. Elle a une forme fibrillaire (fig. 3.9).

Fig. 3.9
Tropomyosine. Cette molécule de stabilisation de l'actine se place dans les gouttières formées par la succession des molécules d'actine G.



La TM possède de très nombreux sites de fixation de l'actine. Sa principale propriété réside donc dans son aptitude à se fixer le long des filaments d'actine. Elle exclut la filamine.

L'activité de la TM est modulée par la *tropomoduline* (40,6 kDa), une protéine de liaison de la TM (extraite pour la première fois du cytosquelette de la membrane des érythrocytes humains); elle se lie à la TM et bloque ainsi l'association tête/queue des molécules de TM le long des MFs.

Protéines d'inhibition de la formation d'actomyosine et protéines inhibant la dépolymérisation. — La caldesmone est une protéine qui existe dans les cellules musculaires et non musculaires. Les isoformes de caldesmone non musculaire (59 à 63 kDa; 89 à 93 kDa pour le tissu musculaire) sont capables de se lier à l'actine, à la tropomyosine, à la calmoduline/ Ca^{++} , à la myosine et aux phospholipides. Toutes les caldesmones interviennent dans la régulation du réseau de MFs et dans la stabilisation de ces MFs en inhibant la dépolymérisation : en effet les caldesmones, en se fixant le long des MFs sur les monomères, empêchent leur libération.

Les protéines de réticulation. — Appelées aussi protéines de liaison croisée (filamine, gélaactine), elles interviennent dans la gélification du cytoplasme. Voir « Réticulation des microfilaments ».

Les protéines d'empaquetage. — Elles organisent les MFs en faisceaux. Ces faisceaux peuvent être contractiles, la protéine d'empaquetage est alors une α -actinine. L' α -actinine peut ancrer l'actine à une très grande variété de structures intracellulaires. Le domaine de liaison de l' α -actinine est constitué par 250 résidus d'acides aminés situés dans la région amino-terminale. Un tel domaine existe aussi dans la spectrine, la fimbrine. Les faisceaux d'actine ne sont pas contractiles lorsque les MFs sont associés par la fimbrine et la villine.

Les protéines de fragmentation. — Ces protéines (gelsoline, brevïne) s'unissent à une région des MFs et la coupent en deux parties. Les fragments ainsi produits peuvent soit favoriser la polymérisation de l'actine G, soit être coiffés par une protéine de coiffe des extrémités.

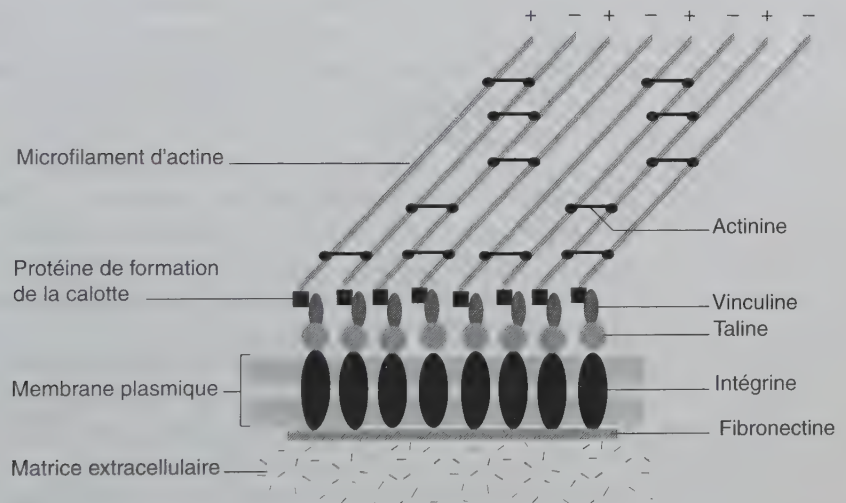
Les protéines de liaison aux membranes. — Elles associent des myofibrilles à la membrane plasmique et à la membrane basale. De telles protéines jouent un rôle important. Les membres de la famille de la dystrophine, par exemple, interagissent dans le tissu musculaire avec l'actine cytosquelettique : la mutation de la dystrophine est à l'origine de très graves myopathies.

Les protéines de stabilisation latérale. — Dans le muscle, la nébuline se dispose sur toute la longueur des MFs.

■ Les faisceaux contractiles

Les faisceaux contractiles ou fibres de tension sont constitués par des MFs associés à des molécules de myosine II. Ces faisceaux contractiles peuvent soit s'insérer sur la membrane plasmique au niveau de *points de contacts focaux* (fig. 3.10), soit constituer des *anneaux contractiles*, soit être associés à des *jonctions intermédiaires* (ceinture d'adhérence). La contraction dépend des mouvements de glissement des MFs les uns par rapport aux autres, mouvements ATP-dépendants et provoqués par la myosine (voir « Mécanisme moléculaire de la contraction musculaire »).

Fig. 3.10
Faisceaux d'actine et points de contact focaux.

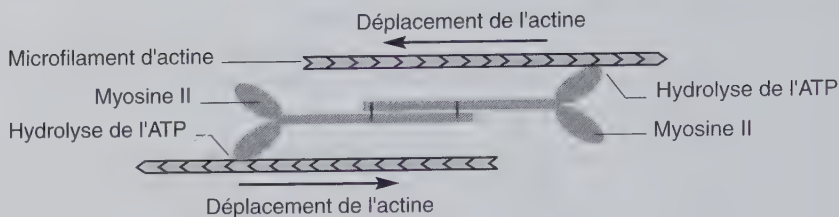


Structure

Dans les faisceaux contractiles, les MFs sont distants de 30 à 60 nm ; l'extrémité positive d'un MF avoisine l'extrémité négative du MF adjacent. Ils contiennent une ABP, l' α -actinine (un homodimère), qui associe les MFs les uns aux autres. Ils contiennent aussi des molécules de myosine II. Cette molécule possède une queue et deux têtes globulaires. En interagissant par l'intermédiaire de ses têtes avec deux filaments d'actine, elle fait glisser les deux MFs l'un par rapport à l'autre et détermine ainsi une contraction, sans modification de la longueur des MFs (fig. 3.11). Ces faisceaux s'insèrent sur des points de contacts focaux.

Fig. 3.11

Myosine II et faisceau contractile. La molécule de myosine II assure le glissement des microfilaments d'actine l'un par rapport à l'autre.



Mécanisme de formation

Il est mal connu. On sait cependant qu'au cours des phénomènes de cicatrisation cutanée, qui impliquent l'intervention et la mobilisation des fibroblastes, la formation des fibres de tension de ces cellules est induite par l'acide lysophosphatidique (LPA) libéré par les plaquettes sanguines. La fixation de LPA sur un récepteur de la membrane des fibroblastes aboutit à l'activation de la petite protéine G Rho qui provoque la formation des fibres de tension.

Interaction avec les points de contact focaux

Les faisceaux contractiles interagissent avec la membrane plasmique au niveau des points de contact focaux.

Les points de contacts focaux (plaques d'adhésion, plaques d'adhérence) sont des zones d'adhérence de la membrane plasmique au substrat.

Les points de contacts focaux contiennent des SAMs comme les *intégrines*. — Les intégrines constituent une famille de glycoprotéines hétérodimériques transmembranaires, capables de se lier et de reconnaître de nombreux composants de la matrice extracellulaire (voir chapitre 2 « La membrane plasmique »).

Les molécules d'intégrine (récepteur d'adhésion) s'attachent par leur extrémité extracellulaire à leur ligand, la *fibronectine*, synthétisée, par exemple, par le fibroblaste. L'extrémité intracellulaire des molécules d'intégrine s'associe à la *taline* qui s'unit, par l'intermédiaire de la *vinculine*, à la protéine de formation de la calotte et à l' α -actinine. Les protéines Rho sont impliquées dans la réorganisation de l'assemblage des contacts focaux et la réorganisation des filaments d'actine des lamellipodes : ces protéines appartiennent à la superfamille des protéines Ras (rat sarcoma; sarcome de rat).

Les interactions membrane/actine, au niveau des contacts focaux, interviennent dans :

- l'ancrage des cellules au substrat;
- la régulation de la locomotion cellulaire : par exemple, les fibroblastes en cours de migration s'attachent au substrat par les points de contacts focaux qui permettent aux filaments d'actine de tirer sur le substrat et de développer la force nécessaire pour la rétraction de l'extrémité postérieure;
- le contrôle de la forme cellulaire;
- la stabilisation des attachements à d'autres cellules;
- les réponses cytoplasmiques aux facteurs de croissance et aux autres stimuli.

Les faisceaux contractiles peuvent s'organiser en anneaux contractiles. — À la fin de la mitose des cellules animales, juste avant la séparation des deux cellules filles, il se forme un anneau sous-membranaire, constitué par des faisceaux contractiles formés par des MFs et de la myosine II. La contraction de cet anneau sépare progressivement la cellule mitotique en deux cellules filles.

Les faisceaux contractiles peuvent s'organiser en ceintures d'adhérence. — Les ceintures d'adhérence sont des zones de jonction situées près de la surface des cellules épithéliales (comme les entérocytes) qui entourent la cellule (voir chapitre 2 « La membrane plasmique »).

■ Les faisceaux serrés

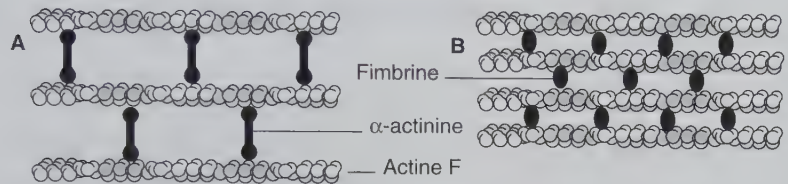
Les faisceaux serrés (fig. 3.12) sont des structures constituées par des MFs parallèles, orientés avec la même polarité, associés les uns avec les autres par des protéines d'association (fimbrine, villine), séparés par un espace de 10 à 20 nm.

Fig. 3.12

Faisceaux d'actine.

A. Faisceau d'actine contractile.

B. Faisceau parallèle (faisceau non contractile).



Composition et fonction

Les faisceaux serrés ne sont pas contractiles. Ils s'observent en particulier dans les filopodes ou les lamellipodes des fibroblastes (expansions filiformes intervenant dans les mouvements de déplacement) en cours de migration et dans les microvillosités.

Les faisceaux serrés maintiennent la structure des microvillosités. — Une extrémité de ces faisceaux s'ancre dans une substance dense située au sommet de la microvillosité, probablement une myosine V, tandis que l'autre s'insère dans le réseau de spectrine qui chemine dans le pôle apical sous les microvillosités. Les parties latérales de chaque faisceau sont reliées à la face interne de la membrane de la microvillosité par des molécules de myosine I. Ces faisceaux serrés maintiennent la structure des microvillosités (voir chapitre 2 « La membrane plasmique »).

Ces faisceaux sont dépourvus de tropomyosine et d' α -actinine. Des molécules, la villine et la fimbrine, unissent les microfilaments. La *villine*, en présence d'un faible taux de calcium, polymérise les microfilaments d'actine dans les microvillosités et les unit en faisceaux. La *fimbrine* (68 kDa), protéine de liaison de l'actine, se lie fortement sur les MFs, à raison de 1 molécule pour 10 monomères d'actine, et les unit en faisceaux particulièrement résistants.

Une ATPase filamentueuse activée par l'actine, formée par un complexe calmoduline-protéine appartenant à la classe des myosines I, réunit le faisceau de microfilaments d'actine à la face interne de la membrane de la microvillosité.

Les faisceaux serrés non contractiles sont responsables des mouvements des lamellipodes. — Dans les lamellipodes des fibroblastes en migration, des faisceaux serrés d'actine se fixent par leur extrémité positive sur la membrane plasmique. Ce point de fixation est le siège de la nucléation des MFs. Ils se polymérisent au contact de la membrane plasmique qui constitue le bord antérieur (par rapport au sens du mouvement) de la cellule (fig. 3.13). Les MFs s'organisent en faisceaux parallèles : leur assemblage serré empêche la myosine d'entrer dans le faisceau. Toutes les fibres de ces faisceaux s'insèrent par leur extrémité positive sur des protéines intramembranaires. Ces faisceaux ne sont pas contractiles. Mais ils sont à l'origine de la *protrusion* de la membrane plasmique : en effet, la polymérisation des MFs de ces faisceaux repousse en avant la membrane plasmique.

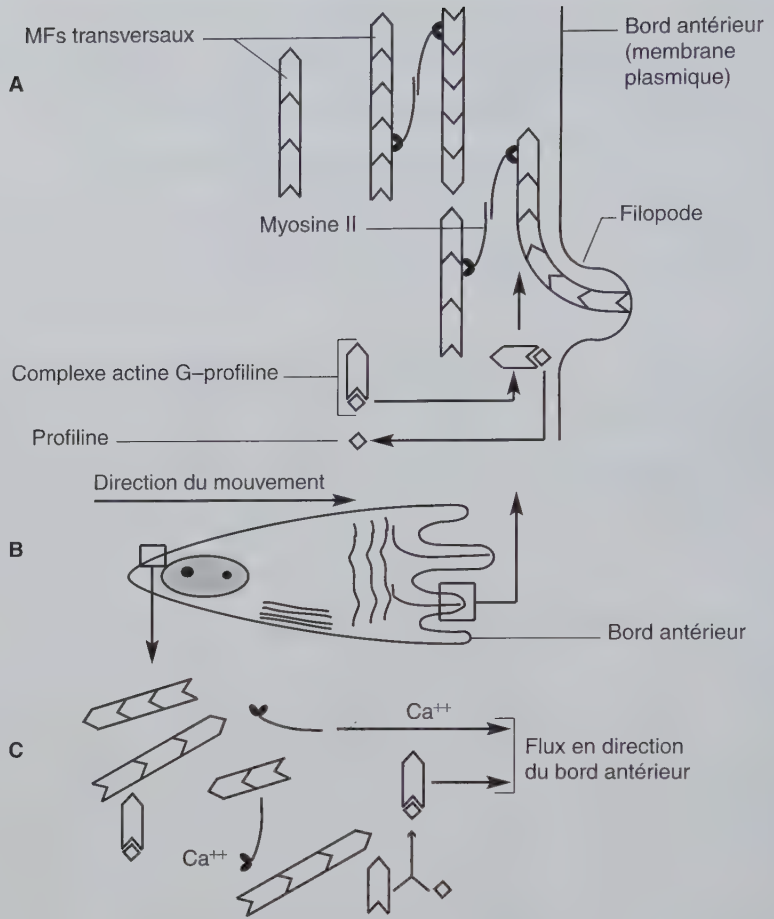
Fig. 3.13

Rôle de l'actine et de la myosine du fibroblaste.

A. Au voisinage du bord antérieur du fibroblaste, le cytoplasme contient peu de Ca^{++} libre, peu de profiline. La polymérisation de l'actine est très active. Les MFs, longitudinaux dans les filopodes, prennent, hors des filopodes, une orientation transversale. Des molécules de myosine II interagissent avec les MFs.

B. Fibroblaste.

C. Cytoplasme de la queue du fibroblaste. La concentration élevée du Ca^{++} libre active la profiline qui dépolymérise les MFs. La myosine II et l'actine constituent un pool. Un flux, en direction du bord antérieur du fibroblaste, transporte les sous-unités d'actine et de myosine.



■ Rôle des microfilaments et de la myosine I dans les déplacements des organites

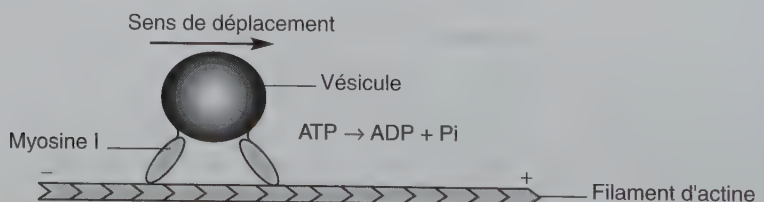
Les MFs et la myosine I assurent les déplacements des organites.

Myosine I et déplacement des organites

La myosine I, qui possède une seule tête et une queue, est responsable des mouvements de déplacement le long des MFs. La myosine se fixe par sa queue sur l'organite à transporter et par sa tête sur un MF qui est ancré sur la membrane plasmique (fig. 3.14). La migration s'effectue de l'extrémité négative à l'extrémité positive du MF, c'est-à-dire en direction de la membrane plasmique.

Fig. 3.14

Mouvement des vésicules. L'hydrolyse de l'ATP est nécessaire au déplacement de la vésicule le long du MF.



Myosine I et glissement des MFs les uns par rapport aux autres

La myosine I est responsable des mouvements de glissement des MFs les uns par rapport aux autres. La myosine I se lie, par sa queue, à un MF fixé à la membrane (MF guide) et par sa tête à un MF libre : elle provoque un déplacement, par glissement, du MF libre en direction de l'extrémité positive du MF guide.

L'hydrolyse de l'ATP par les molécules de myosine I provoque la fixation de la tête de la myosine I sur le MF, tandis que la phosphorylation de l'ADP provoque le détachement.

■ La réticulation des microfilaments

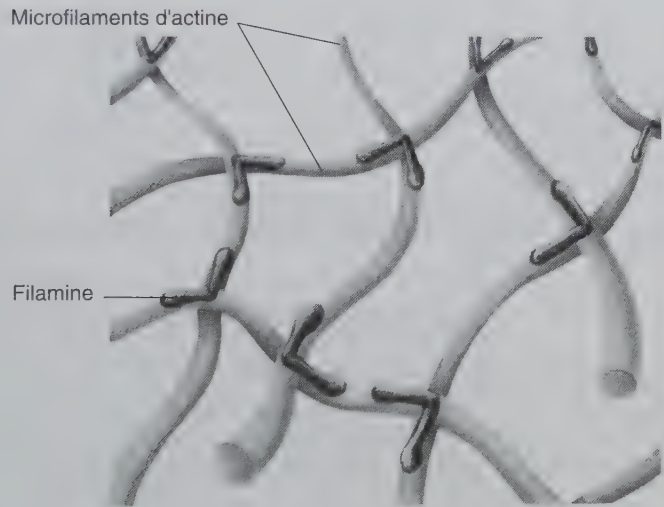
Les MFs contrôlent la viscosité du cytoplasme en s'organisant en réseaux (réticulation).

La filamine, facteur de gélification

La réticulation des MFs par la filamine fige le cytoplasme et le transforme en une substance semi-solide, un gel (fig. 3.15).

La filamine est constituée par un dimère de 2 sous-unités de 270 kDa. Ce facteur de gélification a la forme d'un filament de 3 à 5 nm de diamètre. En se fixant par ses deux extrémités sur les molécules d'actine, la filamine provoque une *réticulation*.

Fig. 3.15
Gélification du cytoplasme
par liaison de la filamine avec
les microfilaments d'actine
(d'après DARNELL).



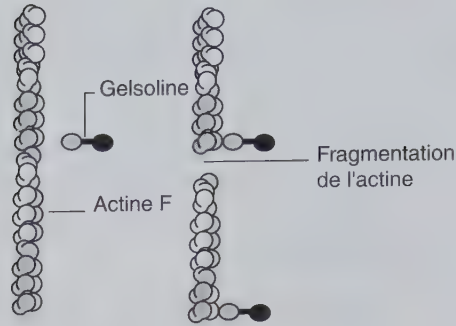
La gelsoline, facteur de fluidification

Certaines protéines, comme la *gelsoline* en présence de calcium (et la villine dans certaines conditions), fragmentent les MFs en se fixant en un point quelconque du microfilament ou en coiffant son extrémité positive. La gelsoline, par fragmentation des MFs et rupture des ponts créés par les facteurs de gélification, transforme un gel cytoplasmique en un sol (fig. 3.16).

Cette fragmentation des MFs joue un rôle fondamental dans l'exocytose. En effet, les MFs réalisent un véritable feutrage sous-membranaire qui s'oppose au passage des grains de sécrétion. Il est nécessaire que les MFs soient localement détruits pour permettre aux grains de sécrétion de gagner la membrane plasmique. La gelsoline et le calcium libéré par le RE assurent une fragmentation des MFs du

Fig. 3.16

Formation d'un sol par rupture de MFs par la gelsoline ou la villine.



cortex cellulaire et libèrent ainsi l'accès à la membrane (fig. 3.17). Par ailleurs, le déplacement des grains de sécrétion en direction de la membrane plasmique dépend de la myosine I et des MFs insérés par leur extrémité positive sur la membrane.

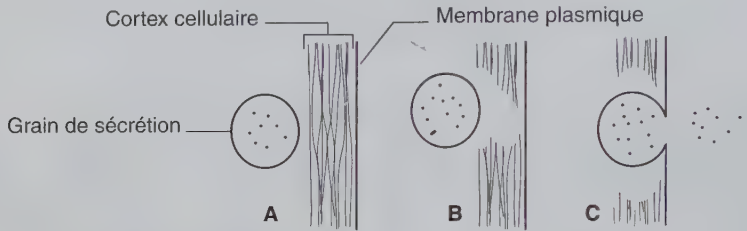
Fig. 3.17

Fragmentation des MFs et exocytose.

A. Les fibres d'actine empêchent le grain de sécrétion d'atteindre la membrane.

B. Désorganisation des filaments d'actine.

C. Exocytose après dépolymérisation locale des MFs du cortex cellulaire.



■ Les microfilaments et la forme cellulaire

Les MFs contrôlent la forme cellulaire : par exemple celle des hématies (fig. 3.18). Les hématies, cellules circulaires, possèdent deux faces biconcaves. Cette forme dépend de l'interaction de la spectrine avec des MFs, des protéines de liaison et des protéines membranaires.

La spectrine est un hétérodimère de deux chaînes, α et β , qui s'associent en tétramères ($265 \text{ kDa} \times 2$ et $260 \text{ kDa} \times 2$). Ces tétramères constituent un réseau situé sous la membrane des hématies. La spectrine intervient dans l'ancrage latéral de filaments à la membrane plasmique.

Les extrémités des tétramères de spectrine forment des complexes de jonction en s'associant soit à de courts MFs et à la bande 4.1, soit à d'autres protéines d'association (par exemple l'adducine). Les filaments de spectrine sont tendus entre ces complexes. La protéine bande 4.1 connecte les complexes de jonction aux domaines transmembranaires des glycophorines.

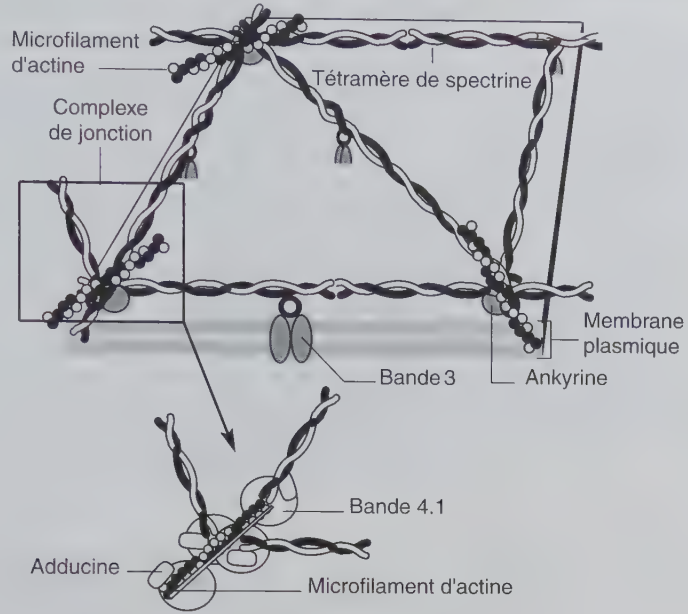
De plus, l'ankyrine, qui est la principale protéine de liaison des érythrocytes, associe les tétramères de spectrine à la protéine transmembranaire bande 3.

■ Les microfilaments et la migration cellulaire

Les cellules animales se déplacent grâce à des mouvements amiboïdes sur un substrat. Ces mouvements dépendent essentiellement de l'actine (voir « Les faisceaux serrés non contractiles sont responsables des mouvements des lamellipodes »).

Fig. 3.18

Organisation du cytosquelette sous-membranaire de l'hématie. Les tétramères de spectrine relient les MFs à la bande 3 par l'intermédiaire de l'ankyrine. Au niveau des complexes de jonction, les extrémités des tétramères s'associent aux MFs et à des protéines du cytosquelette comme la bande 4.1 et l'adducine.



Rôle dans la protrusion et l'allongement des lamellipodes

La polymérisation des faisceaux serrés dans les lamellipodes assure la protrusion et l'allongement des lamellipodes. La membrane plasmique des lamellipodes doit s'allonger et son allongement s'effectue par incorporation de protéines membranaires. Un véritable *flux membranaire* se crée entre la membrane plasmique de la partie postérieure et celle de la partie antérieure du fibroblaste. Dans la partie postérieure, des vésicules limitées par la membrane plasmique se forment par endocytose, gagnent la partie antérieure et s'incorporent dans la membrane par exocytose.

Rôle dans les mouvements des lamellipodes

Les faisceaux de MFs sont disposés longitudinalement dans les lamellipodes. Mais dès que ceux-ci sortent des lamellipodes, ils deviennent transversaux. Les molécules de myosine II interagissent avec les MFs uniquement dans la région où les faisceaux sont devenus transversaux. Ces interactions provoquent ainsi des mouvements de glissement.

L'actine F et la myosine II subissent un cycle : au cours du déplacement de la cellule, elles passent dans la partie postérieure du fibroblaste. Comme la concentration en Ca^{++} libre y est plus élevée, la profiline est activée et dépolymérise les MFs en complexe actine G/profiline. Puis un flux les transporte en direction du bord antérieur. Dans cette région, le taux relativement plus bas de Ca^{++} favorise la libération de la profiline des complexes actine G/profiline et la polymérisation en actine F.

■ Rôle des microfilaments dans le déplacement de bactéries pathogènes intracellulaires

Des bactéries pathogènes utilisent l'actine de la cellule qu'elles ont envahie pour se déplacer. Les biologistes sont très intéressés par le mécanisme de la mobilité de

Listeria monocytogenes : il fournit en effet un modèle simple qui pourrait expliquer la dynamique des MFs dans la protrusion des lamellipodes.

Immédiatement après leur entrée dans la cellule, ces bactéries sont internalisées dans des vacuoles (phagosomes) : la lyse des membranes vacuolaires, après une trentaine de minutes, les libère dans le cytoplasme. Elles se multiplient alors et se recouvrent de MFs. Les MFs se disposent ensuite en une queue qui peut atteindre 40 μm et qui suit la bactérie en mouvement. La longueur de la queue d'actine est proportionnelle à la vitesse de déplacement.

Lorsque les bactéries entrent en contact avec la face interne de la membrane plasmique, elles la poussent vers l'extérieur et provoquent la formation de protubérances qui peuvent atteindre une longueur de 25 μm (chaque protubérance contient une bactérie à son sommet). Ces protubérances sont internalisées par les cellules voisines, ce qui provoque la formation de vacuoles à double membrane. La lyse de la paroi de ces vacuoles permet le départ d'un nouveau cycle d'infection. L'infection se propage ainsi de cellule à cellule.

Mécanisme

Listeria monocytogenes et *Shigella flexneri* se déplacent dans le cytoplasme des cellules hôtes grâce à l'assemblage continu de molécules d'actine G au niveau d'un de leur pôle. L'assemblage continu des monomères à l'extrémité positive et leur libération à l'extrémité négative produisent une force de propulsion. Cette motilité produite par la polymérisation de l'actine requiert la présence des protéines bactériennes.

Rôle des protéines bactériennes ActA et IcsA

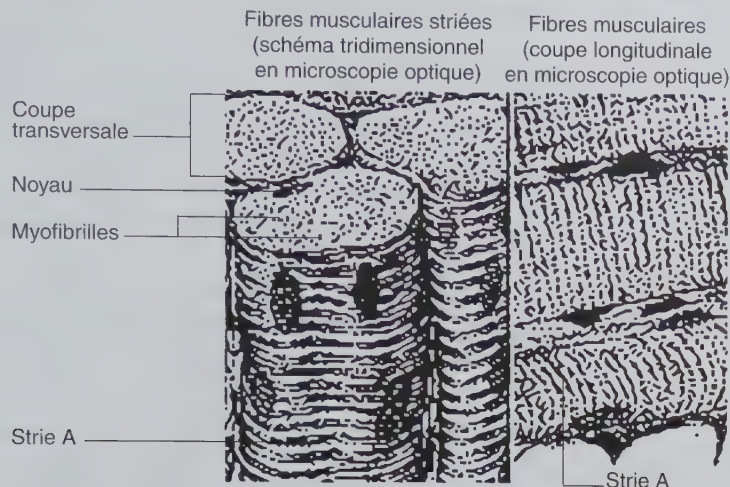
ActA (90 kDa) et IcsA (120 kDa) sont respectivement des protéines de la membrane externe de *L. monocytogenes* et de *S. flexneri*, indispensables à l'interaction de ces bactéries avec l'actine de la cellule hôte, interaction qui génère un mouvement intra et intercellulaire. Ces protéines interviennent dans la polymérisation de l'actine. Chez *L. monocytogenes*, les mutations de ActA inhibent complètement la polymérisation de l'actine G, la formation de la queue et le mouvement. Il en est de même pour IcsA chez *S. flexneri*.

Les MFs des cellules non musculaires sont instables. Ils entrent dans la constitution du cortex cellulaire. Des protéines ABP régulent la polymérisation, la dépolymérisation des MFs, les stabilisent, inhibent la formation d'actomyosine, regroupent les MFs en faisceaux, etc. Les MFs s'associent à la myosine II dans les faisceaux contractiles qui s'ancrent sur la membrane plasmique au niveau des points de contact focal. Les MFs peuvent aussi s'organiser en faisceaux serrés non contractiles (microvillosités) : ces faisceaux non contractiles interviennent cependant dans les mouvements des lamellipodes. Les MFs, en collaboration avec la myosine I, interviennent dans le déplacement d'organites et dans les mouvements de glissement des MFs les uns par rapport aux autres. Les MFs sont responsables de la viscosité du cytoplasme (gel avec la filamine, sol avec la gelsoline), des mouvements et de la forme de la cellule.

Les microfilaments d'actine et les filaments de myosine des fibres musculaires striées

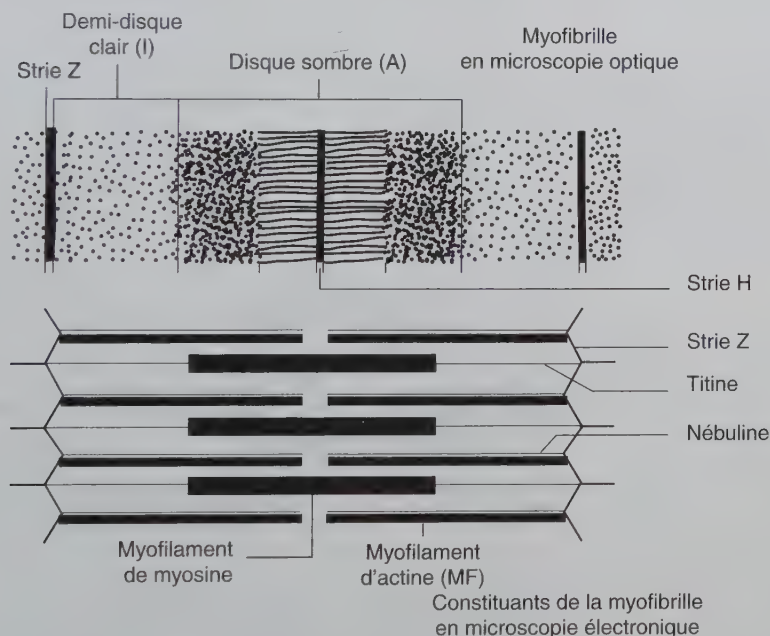
Les myocytes striés (fig. 3.19) contiennent, dans leur cytoplasme (sarcoplasme), des structures permanentes spécialisées dans la contraction : les myofibrilles. Les myofibrilles sont formées par l'association organisée de microfilaments épais, les

Fig. 3.19
Fibres musculaires striées en
microscopie optique.



filaments de myosine, et de filaments plus fins, les microfilaments d'actine (MFs) (fig. 3.20).

Fig. 3.20
Organisation d'une myofi-
brille. En haut myofibrille en
microscopie optique, en bas
en microscopie électronique.



■ Définition

Les myofibrilles sont des structures différenciées, formées par l'association de myofilaments d'actine et de myosine, capables de se raccourcir sous l'influence d'un stimulus, de filaments de titine qui maintiennent les myofilaments de myosine en place et de filaments de nébuline qui régulent l'assemblage des myofilaments d'actine.

■ Les sarcomères

Chaque fibre musculaire renferme plusieurs milliers de myofibrilles d'un diamètre de 1 à 2 μm , qui parcourent longitudinalement la fibre musculaire d'une extrémité à l'autre : une faible quantité de sarcoplasme les sépare les unes des autres. Les myofibrilles constituent la partie essentielle du muscle : on en compte 100 millions par cm^2 de muscle chez l'Homme.

Chaque myofibrille possède une structure hétérogène qui se caractérise par une alternance de zones (ou disques) :

- les *disques A* (Anisotropes en lumière polarisée) sombres, d'une longueur de 1,5 μm : ils sont divisés en deux demi-disques par une *zone claire H* (Hensen) occupée en son milieu par une *ligne sombre*, la *ligne M* (*Mittelmembran*);
- les *disques I* (Isotropes) d'une épaisseur de 0,8 μm , occupés dans leur partie moyenne par une *strie Z* (*Zwischenscheibe*). La strie Z est constituée par des faisceaux de filaments intermédiaires de *desmine*.

Chaque segment de myofibrille compris entre deux stries Z constitue un *sarcomère*. Un sarcomère comprend deux demi-disques I et un disque A. La répétition de ces unités disposées bout à bout constitue une myofibrille. Les sarcomères de toutes les myofibrilles d'une fibre sont situés au même niveau : cette disposition confère au myocyte sa striation.

■ Organisation des myofilaments dans la myofibrille

La ME révèle l'organisation des myofilaments dans la myofibrille (fig. 3.20). Les myofibrilles résultent de l'association de deux types principaux de microfilaments, qui diffèrent par leur constitution biochimique et leur diamètre.

Les filaments de myosine (myosine II) ont un diamètre de 10 nm et une longueur de 1,5 μm . Leurs extrémités sont coniques.

Les MFs ont un diamètre de 5 à 7 nm et environ 1 μm de longueur; ils s'insèrent sur la strie Z.

À ces deux types principaux de myofilaments s'associe la *titine* qui est une des plus volumineuses molécules fibrillaires connues actuellement (3 000 kDa) et des filaments de *nébuline*.

■ Répartition dans le sarcomère et organisation des myofilaments

Les filaments de myosine et les MFs sont parallèles entre eux et longitudinaux. Les filaments de myosine occupent la totalité du disque A. Les MFs de chaque sarcomère vont de la strie Z à la limite du disque H. Il en résulte donc que les demi-disques I de chaque sarcomère ne contiennent que des MFs, tandis que les demi-disques A situés de part et d'autre du disque H contiennent à la fois des MFs et des filaments de myosine. Le disque H est occupé par la partie moyenne du filament de myosine, légèrement renflé en son centre. La ligne M correspond à l'ensemble de ces renflements.

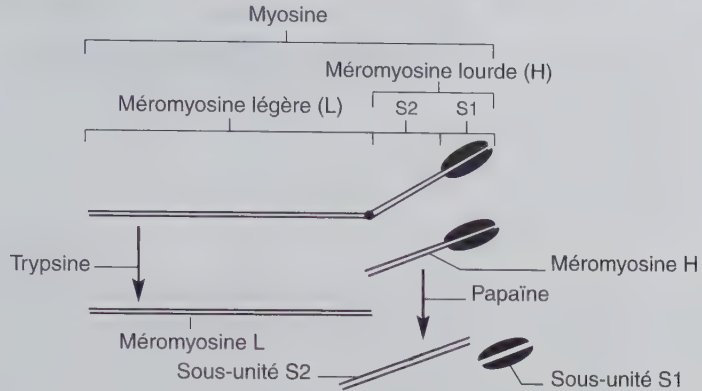
Les filaments de myosine

Les filaments de myosine sont constitués par de la myosine II (fig. 3.21), ils sont bipolaires.

La myosine II est une longue molécule asymétrique. — Son poids moléculaire est de 450 kDa. Chaque molécule contient six chaînes polypeptidiques : deux

Fig. 3.21

Molécule de myosine. La digestion enzymatique isole les différentes parties de la molécule de myosine.



chaînes lourdes identiques et deux paires de chaînes légères. Elle comporte deux têtes globulaires attachées à l'extrémité d'une double chaîne polypeptidique qui a une configuration d'hélice α .

La *papaïne*, enzyme protéolytique, coupe la molécule de myosine en un long segment en hélice appelé *bâtonnet de myosine* (ou queue de myosine) et en deux têtes de myosine globulaires séparées, également appelées *sous-fragments 1* ou *filaments S1*. La queue intervient dans l'assemblage spontané des molécules de myosine en filaments épais et les têtes permettent le déplacement des molécules le long des filaments adjacents d'actine.

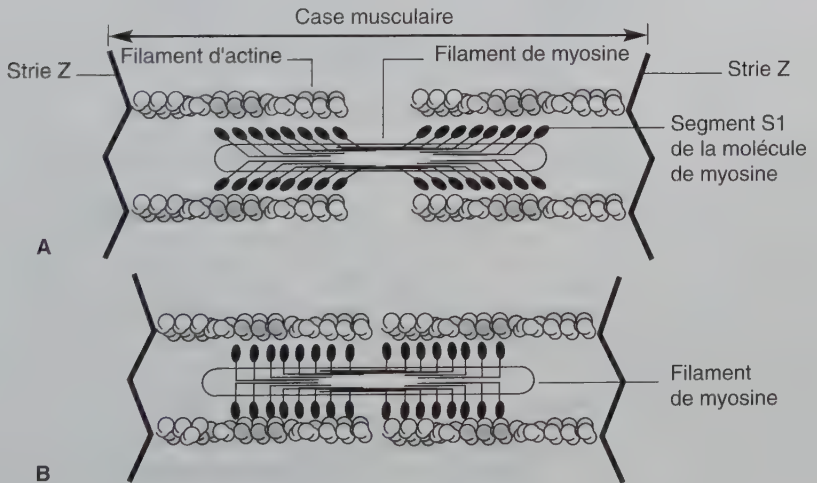
Organisation d'un filament de myosine (fig. 3.22). — Le corps du filament renferme la *méromyosine légère*. Les têtes globulaires (segments S1) sont tournées vers chacune des extrémités du filament de myosine : la myosine II est ainsi organisée en filament bipolaire. Les têtes globulaires forment des ponts tournés vers l'extérieur, disposés en une hélice dont le pas est de 42,9 nm, chaque unité S1 étant séparée de la plus proche par une distance de 14,3 nm.

Fig. 3.22

Organisation moléculaire d'un filament de myosine et contraction musculaire.

A. Les têtes de myosine S1 sont tournées vers les extrémités du filament de myosine. La fixation des têtes de myosine sur l'actine, leur flexion en direction du centre de la case provoquent un glissement des MF en direction du centre de la case musculaire.

B. La case musculaire s'est raccourcie par glissement des MF.

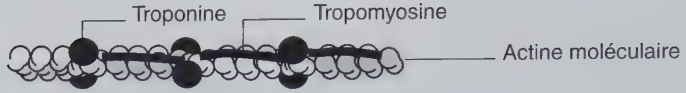


Les microfilaments d'actine

Les MF réunissent trois substances en un complexe : l'actine F, la tropomyosine et la troponine A (fig. 3.23). La tropomyosine est une molécule fibrillaire qui occupe

Fig. 3.23

Organisation d'un filament d'actine du muscle strié. La tropomyosine (protéine fibrillaire) se place dans les deux gouttières de la molécule hélicoïdale d'actine F. À intervalles réguliers se placent, par paires, des molécules de troponine.



la gouttière en spirale des MFs. La troponine (86 kDa) est une protéine globulaire ayant une forte affinité pour le calcium. Les molécules de troponine s'accrochent à l'actine F par paires placées à intervalles réguliers.

■ Mécanisme moléculaire de la contraction

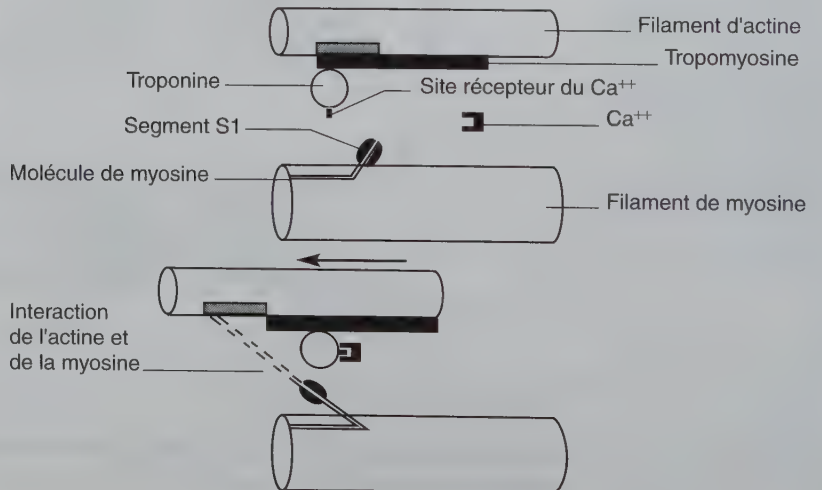
Les mouvements de contraction ou de relaxation se produisent sans modification de longueur des microfilaments : ils résultent du glissement des MFs par rapport aux filaments de myosine (fig. 3.24). Le segment S1 de la méromyosine lourde se fixe sur les sites récepteurs de l'actine pour former un *complexe d'actomyosine*. Cette combinaison implique :

- la fixation de l'ATP par les têtes de la myosine II;
- un démasquage des sites récepteurs de la myosine par le Ca^{++} : le calcium est libéré brusquement du réticulum sarcoplasmique (réticulum endoplasmique musculaire) grâce à des canaux ioniques (canaux de libération du Ca^{++}); le Ca^{++} se fixe sur la troponine et déplace la tropomyosine qui protégeait les sites récepteurs;
- le pivotement de la tête de myosine, qui provoque le glissement des MFs : il est provoqué par l'hydrolyse de l'ATP fixé sur le site catalytique de la myosine;
- que le segment S1 de la myosine ne se détache de l'actine que si une nouvelle molécule d'ATP s'y fixe.

La relaxation se produit lorsque le Ca^{++} abandonne la troponine : la tropomyosine se déplace et masque à nouveau les sites d'attachement de l'actine située sur la myosine.

Fig. 3.24

Mécanisme de la contraction. Le Ca^{++} libéré (dans la fibre musculaire striée) par le RE se fixe sur la troponine. La troponine démasque alors le site de fixation du segment S1 de la myosine. Le segment S1 se combine au site de fixation et, en fléchissant, entraîne le filament d'actine.



■ La titine

Les molécules de *titine* partent de la strie M, longent les myofilaments de myosine, traversent le demi-disque A pour s'achever sur la strie Z. Une telle disposition permet de comprendre que les filaments de titine retiennent les myofilaments de myosine dans la partie centrale de la case musculaire. La titine est responsable de la tension produite par un muscle décontracté.

■ La nébuline

Des filaments de *nébuline* s'associent aux MFs sur toute leur longueur, depuis la strie Z jusqu'à leur extrémité située au centre du sarcomère. Leur rôle est assez mal connu. La nébuline interviendrait dans la régulation de l'assemblage des filaments d'actine en agissant comme des règles qui déterminent leur longueur.

■ La dystrophine

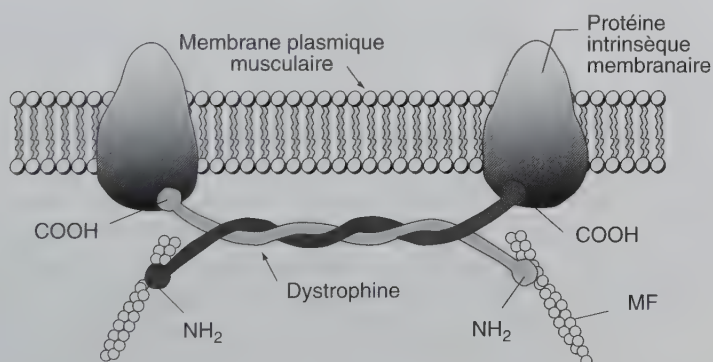
Les MFs sont associés aux molécules de laminine de la lame basale par des molécules de dystrophine.

Rôle dans la liaison des microfilaments à la lame basale

Une lame basale entoure chaque fibre musculaire striée. Les MFs sont associés aux molécules de laminine de la lame basale par des molécules de dystrophine (fig. 3.25).

Fig. 3.25

Molécule de dystrophine. Cette molécule relie, par ses extrémités carboxy- et amino-terminales, deux MFs à deux molécules intrinsèques membranaires.



Organisation moléculaire

Actuellement, trois dystrophines ont été mises en évidence : la *dystrophine M* (musculaire), la *dystrophine P* (cellule de Purkinje) et la *dystrophine C* (cortex cérébral et hippocampe).

La *dystrophine M* est un homodimère protéique de 427 kDa qui possède de nombreuses similarités avec la spectrine. Elle comprend deux chaînes enroulées sur elles-mêmes. L'extrémité amino-terminale d'une chaîne est voisine de l'extrémité carboxy-terminale de l'autre chaîne.

Une molécule de dystrophine est disposée de la manière suivante. Les extrémités amino-terminale et carboxy-terminale d'un des deux monomères se fixent chacune sur un complexe glycoprotéique transmembranaire de la membrane plasmique, tandis que chacune des extrémités de l'autre monomère se lie à un MF. Il y a donc

deux complexes glycoprotéiques transmembranaires pour une molécule de dystrophine. Chaque complexe glycoprotéique traverse la membrane plasmique pour s'unir à une molécule de laminine de la matrice extracellulaire.

Pathologies associées à l'absence ou l'altération de la dystrophine

Les mutations des gènes codant la dystrophine M sont la cause de myopathies très graves qui conduisent à la destruction du tissu musculaire (maladie de Duchenne). La conduction cardiaque est profondément affectée par l'absence de dystrophine P au voisinage des membranes.

Dans les fibres musculaires squelettiques, les MFs et la myosine II sont organisés en myofibrilles qui montrent, en microscopie optique, une striation transversale. Les myofibrilles sont constituées par une succession de cases musculaires limitées par la strie Z : chaque case comprend un disque sombre (disque A) central et deux demi-disques clairs. Le disque A contient les myofilaments de myosine II et les MFs. Les demi-disques clairs contiennent uniquement les MFs. Les MFs sont formés par l'actine F, la tropomyosine (rôle stabilisateur) et la troponine (fixation du calcium). La contraction musculaire est le résultat du glissement des MFs par rapport aux myofilaments de myosine. Les MFs s'associent à la lame basale qui entoure chaque fibre musculaire striée par l'intermédiaire de la dystrophine M.

Les filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires (FIs ou IFs : intermediate filaments) sont des molécules fibrillaires stables d'un diamètre de 8 à 10 nm, intermédiaire entre celui de l'actine et celui des microtubules, qui existent dans le nucléoplasme et le cytoplasme de toutes les cellules animales. Ils n'existent pas chez les Eucaryotes unicellulaires.

Localisation

Dans les cellules épithéliales, les IFs se disposent autour du noyau, qu'ils entourent à la manière d'une corbeille, et sous la membrane plasmique. Ils s'insèrent sur des protéines intramembranaires par l'intermédiaire de protéines extrinsèques cytoplasmiques. Ils s'étendent depuis la région périnucléaire jusqu'à la périphérie cellulaire. Dans les cellules épithéliales, ils se fixent sur les plaques cytoplasmiques des desmosomes (IFs de cytokératine) et jouent un rôle mécanique en renforçant la solidité.

Dans les axones des cellules nerveuses, ils forment une sorte d'armature.

Dans les cellules musculaires striées squelettiques, les IFs (desmine) unissent la face interne de la membrane aux myofibrilles et interviennent dans la transmission des forces développées au cours de la contraction ou de la relaxation.

Leur nombre augmente dans les cellules soumises à des contraintes mécaniques.

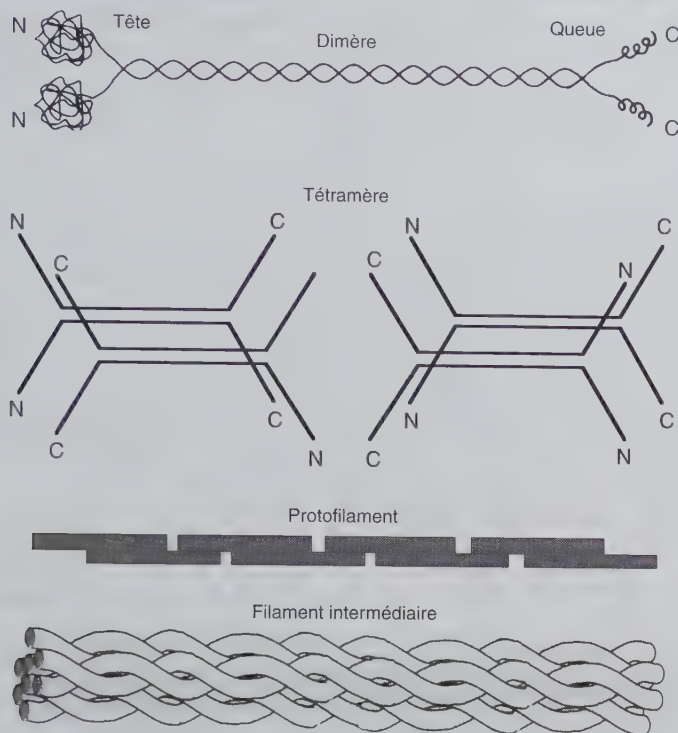
Dans le noyau, des IFs, les filaments de lamine localisés contre la membrane interne de l'enveloppe nucléaire, constituent le *nucléosquelette* (voir chapitre 4 « Le noyau »). Cette fixation dépend de récepteurs spécifiques.

Composition

Les IFs sont des polymères stables (fig. 3.26). Ils sont :

- des homopolymères, qui regroupent les protéines suivantes : vimentine, desmine, GFA ou GFAP, périphérine,

Fig. 3.26
Organisation générale des
filaments intermédiaires.



— ou des hétéropolymères, parmi lesquels on distingue la cytokératine, les neurofilaments.

L'unité de base des IFs est un monomère qui possède une partie centrale (identique pour les divers types) et deux extrémités carboxy- et amino-terminales. La partie centrale comprend 310 résidus d'acides aminés disposés en une double hélice, interrompue par trois régions dans lesquelles la disposition des résidus n'est pas hélicoïdale. Les régions hélicoïdales sont identiques pour les quatre types. Les monomères s'enroulent l'un autour de l'autre pour constituer des dimères. Les dimères s'associent parallèlement pour former un *protofilament* (un tétramère de deux dimères surenroulés). Les IFs sont formés par 8 protofilaments.

Classification

■ Le type I et le type II, les kératines

Ils regroupent les kératines. Le type I, famille des kératines acides, regroupe 16 isoformes (K9 à K20, Ha1 à Ha4, Hax, kératine des trichocytes). Le type II, famille des kératines neutres et basiques, comprend 13 isoformes K1 à K8, Hb1 à Hb4, Hbx.

Les cytokératines

Les filaments de cytokératine sont des protéines fibrillaires élaborées par les kératinocytes, présents dans le cytoplasme de ces cellules (par opposition aux kératines devenues extracellulaires comme les ongles ou les cheveux).

■ Certains auteurs utilisent une autre classification : type I, les lamines, type II, les cytokératines, type III, la vimentine, la desmine, type IV, les neurofilaments.

Diversité et localisation. — Les cytokératines constituent, dans les kératinocytes, des faisceaux dont les extrémités sont ancrées dans les plaques denses desmosomales. Les kératinocytes des épithéliums malpighiens subissent une évolution qui transforme les kératinocytes basaux (cubiques ou prismatiques) en kératinocytes pavimenteux anucléés situés à la surface de l'épithélium. Les cytokératines diffèrent en fonction du degré d'évolution du kératinocyte. Les kératines K5 et K14 existent dans la couche basale, K1, K6, K10, K16 dans le corps muqueux de Malpighi, K9 dans la couche granuleuse.

Assemblage. — L'analyse des séquences d'acides aminés montre des segments répétitifs constitués par sept acides aminés, dont le premier et le quatrième sont hydrophobes, le cinquième et le septième hydrophiles. Les sept acides aminés représentent deux tours de l'hélice α , ce qui signifie que les premiers et les quatrièmes acides aminés hydrophobes se disposent suivant une génératrice susceptible d'interagir avec d'autres génératrices polypeptidiques pour former des structures superhélicoïdales très résistantes. Les filaments de cytokératine sont en effet plus résistants que tous les autres IFs.

Rôle mécanique et protecteur. — Dans les cellules épidermiques, les IFs de cytokératine réunissent les desmosomes les uns avec les autres : ils augmentent ainsi la résistance et la solidité de ces cellules épithéliales. Il en est de même dans d'autres cellules épithéliales comme les entérocytes.

En effet, les IFs de cytokératine s'insèrent sur des molécules de plakoglobine, qui s'associent en une plaque dense voisine et parallèle à la membrane plasmique. Les molécules de plakoglobine s'accrochent à leur tour à des cadhérines desmosomales transmembranaires, dont les extrémités entrent en contact avec les molécules de cadhérine de la cellule voisine (voir chapitre 2 « La membrane plasmique »).

■ Le type III

Le type III comprend la vimentine, la desmine, la protéine acide fibrillaire de la névroglie, la périphérine.

La vimentine

La vimentine (54 kDa) est une molécule filamenteuse intermédiaire, caractéristique des cellules d'origine mésenchymateuse.

La vimentine est localisée principalement :

- dans les cellules d'origine mésenchymateuse qui recouvrent, à la manière d'un épithélium, les séreuses pleurale, péricardique, péritonéale;
- dans les cellules endothéliales vasculaires;
- dans les fibroblastes, les fibrocytes, les chondrocytes, etc.

Mais elle existe aussi dans quelques épithéliums. Il faut signaler que, très tôt au cours de l'embryogenèse, les *neuroblastes* (neurones immatures) contiennent de la vimentine qui est rapidement remplacée par des neurofilaments courts après les dernières mitoses des neurones immatures.

Ces filaments sont souvent en rapport avec la membrane plasmique, les desmosomes ceinturants.

L'absence de vimentine dans le cytosquelette de cellules de souche *vim* (abréviation de vimentine) modifie la morphologie du noyau. Son enveloppe s'invagine en plusieurs points. Au cours de la mitose, les filaments de vimentine s'associent avec les vésicules mitotiques qui transportent la lamine B. La vimentine sert de site temporaire d'arrimage pour les vésicules de la membrane nucléaire interne. Dans les adipocytes, les

filaments intermédiaires de vimentine forment une sorte de cage autour de la graisse (ces réserves lipidiques ne sont pas limitées par une cytomembrane), ce qui évite aux différentes gouttelettes lipidiques de s'agglutiner. Les IFs de vimentine maintiendraient donc en place le noyau et l'ensemble des autres organites cellulaires.

La desmine

La desmine (53 kDa) est une molécule filamenteuse intermédiaire, caractéristique des cellules musculaires (lisses ou striées), où elle relie les myofibrilles à la membrane plasmique et aux jonctions neuromusculaires.

Les fibres musculaires striées, au cours de la myogenèse ou au cours de la régénération, contiennent une grande quantité de desmine : elle est exprimée en même temps que la vimentine. Dans les fibres musculaires squelettiques adultes, les IFs de desmine unissent les stries Z voisines les unes aux autres et à la membrane plasmique, de telle façon que les disques A et les disques I des différentes myofibrilles sont situés au même niveau.

De nombreuses *myopathies familiales* se caractérisent par une accumulation de desmine et d'ubiquitine dans des corps sphéroïdes ou granulo-filamenteux.

Les GFAPs

Les GFAPs (glial fibrillary acid proteins, protéines fibrillaires acides des cellules gliales) (50 kDa) sont des molécules filamenteuses intermédiaires, caractéristiques des cellules d'origine neurectodermique, qui constituent la névroglie du système nerveux central (*astrocytes* et *microglie*) et du système nerveux périphérique (*cellules de Schwann* des fibres amyéliniques).

La périphérine

C'est une molécule filamenteuse intermédiaire (57 kDa), caractéristique des neurones au cours du développement embryonnaire et de leur régénération. Elle existe aussi dans les tissus adultes, mais en très faible quantité.

Elle n'est pas classée avec les neurofilaments car elle présente de très nombreuses homologies structurales avec les IFs de type III.

Au cours du développement embryonnaire, elle est localisée dans les neurones du système nerveux central et périphérique. Elle est cependant plus abondante dans les cellules nerveuses en contact avec les tissus périphériques. Chez l'adulte, sa synthèse est accrue dans les neurones en cours de régénération.

Le NGF active la périphérine. — Au cours de la régénérescence d'un axone, la quantité de NGF (nerve growth factor; facteur de croissance nerveux) élaboré augmente. La stimulation du neurone par le NGF provoque d'une part une phosphorylation de la périphérine et, d'autre part, l'activation transcriptionnelle de son gène. Cette phosphoprotéine devient alors la protéine majeure du cytosquelette des neurones.

La périphérine intervient dans la régénérescence des neurones. — La périphérine, au même titre que l'actine et la tubuline, est indispensable à la régénérescence des neurones. Elle pourrait jouer un rôle dans la reconnaissance du chemin axonal par l'intermédiaire des protéines membranaires qui transmettraient des informations.

■ Le type IV, les neurofilaments

Le type IV regroupe les neurofilaments (NFs).

Les NFs sont des filaments intermédiaires, localisés dans les neurones, qui s'associent à des microtubules de l'axone. Il existe 3 isoformes : NF-L (light; léger), NF-M (medium; moyen), NF-H (heavy; lourd).

Ils représentent 25 % des protéines de l'axone. Ils interviennent, avec les neurotubules, dans les transports intra-axonaux (flux axonal).

Les neurofilaments et le transport axonal

Ils interviennent dans la rigidité et la résistance des axones et également dans le transport axonal de molécules depuis le péricaryon jusqu'à l'extrémité de l'axone. Ils déterminent le diamètre de l'axone. En effet, la phosphorylation de NF-H et de NF-M ajoute à ces microfilaments des groupements phosphate, donc des charges négatives. Les forces répulsives, générées par augmentation des charges négatives, assurent la constance du diamètre axonal. Ainsi, les NFs des fibres nerveuses myélinisées d'une souche de Souris (trembler mice; Souris tremblante) sont moins phosphorylés que dans l'espèce sauvage. Les NFs apparaissent également moins espacés. Un espace minimum de 25 nm favorise l'action des forces répulsives.

Pathologies associées à l'accumulation des neurofilaments

L'accumulation excessive de NFs, provoquée essentiellement par un ralentissement du flux neuronal dans le péricaryon et dans la partie proximale de l'axone, conduit à un dysfonctionnement et à une dégénérescence neuronale. Une mutation de la superoxyde dismutase (cette enzyme enlève l'ion superoxyde O_2^- toxique, généré pendant le métabolisme aérobie) provoque une accumulation de NFs : cette mutation est responsable de 20 % des scléroses latérales amyotrophiques familiales.

■ Le type V, les lamines nucléaires

Le type V regroupe les lamines nucléaires.

Les lamines sont des filaments intermédiaires qui constituent le cytosquelette du noyau. Il existe 4 isoformes : les lamines de type A (lamines A et C), les lamines de type B (lamines B1, B2).

Ces IFs dessinent un réseau tridimensionnel qui recouvre complètement la face interne de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire, à l'exception des pores.

Ces IFs maintiennent la forme du noyau et servent d'ancrage aux extrémités monocaténares des molécules d'ADN (les lamines A et C interviendraient dans cet ancrage). La lamine B ne possède aucune affinité pour les nucléotides.

Ils interviennent dans la mitose (la déphosphorylation des résidus tyrosine des lamines, au moment de la prophase, provoque leur dépolymérisation et la fragmentation de l'enveloppe nucléaire). Pendant la mitose, les lamines A et C se fixent sur des sites de liaisons spécifiques des chromosomes mitotiques : cette fixation permettra aux lamines d'intervenir au moment de la reconstruction du noyau et en particulier de l'enveloppe nucléaire.

Les IFs sont des polymères stables qui se distribuent dans le cytoplasme (à sa périphérie et autour du noyau) et dans le noyau (lamines). Les IFs cytoplasmiques regroupent des homopolymères (vimentine, desmine, GFA ou GFAP, périphérine) et des hétéropolymères (cytokératine, neurofilaments). Les IFs de cytokératine (épithélium cutané) sont les plus résistants : ils s'ancrent sur les desmosomes.

Les microtubules

Les microtubules (MTs) sont des longs polymères rigides d'hétérodimères de tubuline $\alpha\beta$, qui possèdent une extrémité positive distale (proche de la membrane cellulaire). Ils ont la forme de tubes creux de faible diamètre (25 nm en moyenne), dont l'assemblage (polymérisation) et le désassemblage (dépolymérisation) à partir d'un pool de monomères (les molécules de tubuline) dépendent de l'hydrolyse de GTP (guanosine triphosphate).

Les MTs existent dans tous les types cellulaires (à l'exception des hématies) chez les Vertébrés supérieurs. Ils sont particulièrement nombreux dans les neurones du cerveau, où ils représentent environ 20 % des protéines solubles.

Le MTOC ou centrosome

Les MTs se disposent radiairement autour du MTOC. Le MTOC (microtubule organizing center; centre organisateur des microtubules) ou centrosome (voir chapitre 12 « Le centrosome et ses dérivés ») est formé de deux centrioles et d'une masse granulo-filamenteuse péricentriolaire. Les MTs croissent à partir du MTOC : leur extrémité négative plonge dans la masse péricentriolaire, mais n'entre jamais en contact avec les centrioles qui n'interviennent pas dans la nucléation. En effet, les centrosomes des cellules végétales ne contiennent pas de centriole et cependant ils assurent la nucléation des MTs.

Organisation moléculaire

Les MTs, d'un diamètre externe uniforme, possèdent une paroi dense épaisse de 5 nm et une cavité axiale plus claire de 14 nm de large. Leur longueur atteint plusieurs microns : ils ne se ramifient pas. La paroi comporte 13 protofilaments de 5 nm de diamètre, parallèles et ayant la même polarité, associés latéralement les uns aux autres et consistant en une alternance de tubulines α et β (fig. 3.27).

■ Les tubulines α et β

Les tubulines α et β existent dans toutes les cellules eucaryotes sous la forme de monomères.

L'existence, chez les Mammifères, de 6 formes de tubuline α et de tubuline β , témoigne de l'hétérogénéité de cette molécule. L'acétylation, la détyrosination et la glutamylation des tubulines des MTs mûrs augmentent la diversité des molécules de tubuline.

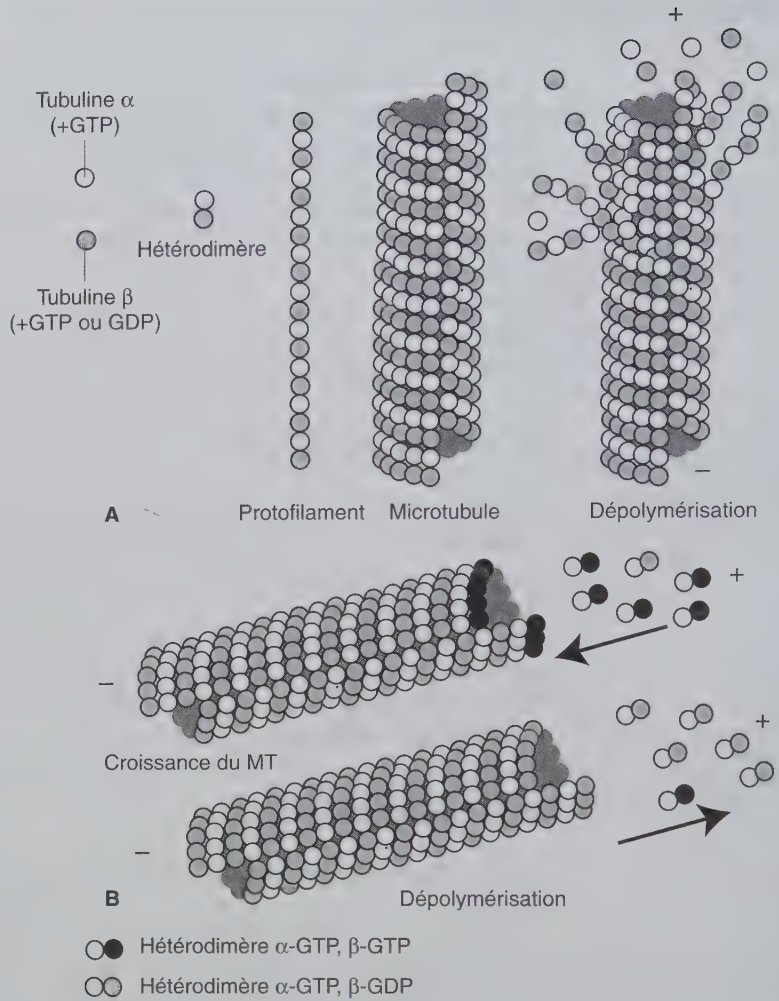
L'hétérogénéité s'accroît avec la différenciation : elle atteint son maximum dans les MTs des neurones. La sous-unité α de l'hétérodimère de tubuline subit normalement un cycle de tyrosination et de détyrosination de l'extrémité carboxy-terminale, grâce à l'action de la tubuline tyrosine ligase. Cependant, la sous-unité α peut perdre un deuxième résidu, l'acide glutamique. Cette tubuline (à laquelle il manque deux résidus) porte le nom de *tubuline $\Delta 2$* : elle ne peut plus être « retyrosinée » par la ligase. Elle existe en très grande quantité dans les MTs neuro-naux stables (35 % de la tubuline). La tubuline $\Delta 2$ existe dans les MTs stables des flagelles et des cils : elle représente l'étape finale de la maturation de la tubuline α . Elle existe dans les polymères de tubuline à longue durée de vie : c'est un

Fig. 3.27

Microtubule.

A. Les hétérodimères sont formés par l'association d'une molécule de tubuline α liée à GTP et d'une molécule de tubuline β liée soit à GTP soit à GDP. Dans le corps du microtubule la quasi-totalité des molécules de tubuline β sont liées à GDP. La dépolymérisation se fait par séparation préalable des protofilaments.

B. Au cours de la croissance du MT qui se produit dans un milieu riche en dimères contenant la tubuline β liée à GTP, il se forme une coiffe stabilisatrice constituée par des dimères contenant la tubuline β liée à GTP. La baisse de la concentration locale en tubuline β liée à GTP entraîne la dissociation de la coiffe puis la dépolymérisation. La polymérisation se produit aux deux extrémités des MTs (ce qui n'est pas montré dans ce schéma) ainsi que la dépolymérisation. La polymérisation est plus rapide à l'extrémité positive.



marqueur des MTs stables. Par contre dans d'autres cellules, comme les érythrocytes, l'hétérogénéité est très basse.

■ Les dimères $\alpha\beta$

Les tubulines α et β s'associent en dimères (oligomères) d'un poids moléculaire de 110 à 120 kDa. L'association linéaire des dimères de tubuline aboutit à la formation des protofilaments. Chaque protofilament représente un polymère de haut poids moléculaire d'oligomères de tubuline.

Régulation de la synthèse des tubulines

Un mécanisme post-transcriptionnel agit sur la quantité des ARNm porteurs des informations nécessaires à la synthèse des tubulines : une augmentation de la synthèse des tubulines répond à une baisse de la concentration des monomères de tubuline dans le pool et vice versa. Pour la tubuline β , cette autorégulation implique la reconnaissance de 4 résidus aminés MREI (méthionine, arginine, acide glutamique, isoleucine) par la tubuline β elle-même, alors que ce tétrapeptide

émerge du ribosome en train de traduire l'ARNm. Si les monomères de tubuline β sont abondants, l'interaction avec le tétrapeptide et avec le ribosome a lieu : l'ARNm est dégradé. Si la concentration en monomères de tubuline diminue, le tétrapeptide reste libre et la traduction de l'ARNm se déroule normalement.

Rôle de la chaperonine TCP-1

Avant la nucléation, les tubulines doivent se replier. Une chaperonne cytoplasmique TCP-1 (transfer complex polynucleotide 1; polynucléotide complexe de transfert 1), connue aussi sous le sigle TriC (TCP-1 ring complex; complexe en anneau de TCP-1), replie un grand nombre de protéines, dont l'actine et les trois tubulines. Il s'agit d'une chaperonine de classe II, de 800 kDa, qui contient une protéine de choc thermique Hsp60. Dans les cellules eucaryotes, un complexe toroïdal (en forme de tore, d'anneau) plie les molécules d'actine et de tubuline. La réaction de repliement consiste en la formation d'un complexe binaire entre la protéine cible dépliée et la chaperonine, suivie par l'ultime libération du polypeptide natif au cours d'une réaction ATP-dépendante.

Conditions de la polymérisation

Dans les conditions physiologiques, la dépolymérisation et la polymérisation intéressent simultanément les deux extrémités d'un MT.

■ Polymérisation *in vitro*

In vitro, la tubuline se polymérise en présence de Mg^{++} et de GTP à 37°C. GTP étant associé à la tubuline β . Une phase de latence initiale précède la polymérisation. Durant la phase de latence, ou *phase de nucléation*, une « amorce », un germe de nucléation annulaire (constitué de tubuline) apparaît. La polymérisation débute à l'une des extrémités de cet anneau, commence par former un premier protofilament, puis un second, etc. Un MT à paroi ouverte se constitue. Quand les protofilaments sont tous formés, la paroi se referme et le petit MT joue à son tour le rôle de germe. Puis, au cours de la phase suivante, la *phase d'élongation*, l'amorce s'allonge par polymérisation.

■ Polymérisation *in vivo*

In vivo, le MTOC intervient dans la nucléation des MTs. Chez les Vertébrés, le MTOC ou centrosome est constitué par les deux centrioles et le matériel péricentriolaire. Un des composants du MTOC est la tubuline γ : dans le cytoplasme, elle forme, avec de nombreuses autres protéines, un complexe multimérique, le *gammosome*. L'inactivation de la tubuline γ provoque l'inhibition de la nucléation. Les autres composants du centriole, intervenant dans la nucléation, comprennent les tubulines α et β , l'actine G, la chaperonine Hsp70.

Un antisérum de malades atteints de sclérodermie réagit avec les centrioles des cellules végétales et animales. Cet antisérum reconnaît une protéine de 220 kDa, la *péricentrine*. Les anticorps antipéricentrine provoquent la rupture du fuseau mitotique et méiotique, bloquent la formation des asters mais ne bloquent ni l'assemblage de tubuline γ , ni la nucléation à partir de centrosomes matures.

Polymérisation et dépolymérisation du MT néoformé

La polymérisation se produit à partir des hétérodimères $\alpha\beta$ de tubuline en présence de GTP et de Mg^{++} ; elle concerne les deux extrémités du MT. La sous-unité β de l'hétérodimère porte un site d'échange de GTP. La polymérisation des dimères de tubulines entre eux est un processus spontané qui se produit dès lors que la tubuline β est chargée de GTP.

Un dimère de tubuline $\alpha\beta$ *ne peut donc être incorporé* dans un microtubule que si la tubuline β du dimère entrant est associée à GTP. C'est pourquoi la tubuline β est souvent désignée par les termes de tubuline-GTP. Il est admis par la majorité des chercheurs ou presque que l'ensemble du microtubule est constitué par des dimères dont la tubuline β est liée à GDP. La coiffe, quant à elle, est formée par des molécules de tubuline-GTP. Elle est située à l'extrémité positive du MT. Cette coiffe de tubuline-GTP a une action stabilisatrice sur le microtubule : elle est favorable à la polymérisation. Si la concentration de tubulines-GTP baisse et que celle de tubuline-GDP augmente, il se produit une dépolymérisation. La polymérisation dépend de la concentration locale des tubulines-GTP.

La polymérisation de l'extrémité positive est plus rapide que celle de l'extrémité négative, si bien que l'extrémité positive du MT s'allonge trois à quatre fois plus vite que l'extrémité négative. Si les vitesses de polymérisation et de dépolymérisation sont égales, la longueur du MT reste constante. Par contre, si la vitesse de polymérisation est supérieure à celle de dépolymérisation, le MT s'allonge.

■ Vitesse de polymérisation

L'importance du pool de tubulines conditionne la vitesse de polymérisation. Au début de la phase d'élongation, la vitesse de polymérisation, plus élevée que celle de dépolymérisation, permet l'allongement des MTs. Au fur et à mesure que le pool de tubulines perd ses molécules libres, la vitesse d'élongation décroît jusqu'à ce qu'elle égale la vitesse de dissociation. Le pool a alors atteint la concentration critique de molécules de tubuline qui correspond à la quantité de tubulines libres de cette phase d'équilibre.

La polymérisation des MTs ne consomme pas toutes les molécules de tubuline libre : le plus souvent, 50 % de la quantité totale de tubulines de la cellule constituent les MTs.

■ La colchicine, inhibiteur de la polymérisation

La fixation d'alcaloïdes comme la colchicine, la vincristine, la vinblastine, le nocodazole, provoque un raccourcissement, puis une disparition des MTs par défaut de polymérisation (c'est pour cette raison qu'elle inhibe la division cellulaire au stade de la métaphase).

Les molécules de tubuline possèdent des sites de liaison pour le GTP et des sites pour des alcaloïdes inhibiteurs de la polymérisation (colchicine, vinblastine — utilisée en chimiothérapie des cancers —, podophylline). Ces molécules n'agissent que sur les MTs labiles.

■ Le taxol, stabilisateur du microtubule

Le taxol favorise la polymérisation des MTs, de telle sorte qu'il diminue considérablement la quantité de tubuline libre dans le pool. Ainsi, le taxol bloque la

division cellulaire, car l'alternance de polymérisation et de dépolymérisation des MTs ne peut plus se dérouler. L'étude stœchiométrique révèle qu'une molécule de taxol se fixe sur chacun des dimères de tubuline d'un MT. La liaison du taxol se fait sur le domaine amino-terminal de la tubuline β .

Les MTs, polymères de tubuline $\alpha\beta$ qui existent dans tous les types cellulaires (sauf dans les hématies), se disposent autour des MTOCs, leur extrémité négative plongeant dans la masse péricentriolaire. La synthèse des tubulines qui les constituent est contrôlée par un mécanisme de rétro-action. Les TCP-1 replient les molécules de tubuline avant la nucléation qui précède la phase d'élongation. La polymérisation (nucléation et élongation) s'effectue en présence de Mg^{++} et de GTP. Le gammosome (complexe multimérique contenant de la tubuline γ) est indispensable à la polymérisation. La vitesse de polymérisation est proportionnelle à la quantité de tubuline libre. La colchicine, la vincristine, la vinblastine, le nocodazole inhibent la polymérisation et bloquent la mitose. Le taxol (utilisé en chimiothérapie de certains cancers), qui lui, par contre, stabilise les MTs, bloque également la mitose.

MTs labiles et MTs stables

Les MTs se classent en MTs labiles et en MTs stables.

■ L'instabilité dynamique

Les MTs labiles sont des MTs qui ne résistent pas, après fixation par des aldéhydes, à une température supérieure à 4°C. Les alcaloïdes, comme la colchicine, la vinblastine, la vincristine, induisent leur disparition par dépolymérisation.

Les MTs labiles sont généralement des MTs libres. Dans les cellules eucaryotes (polarisées ou non), les MTs rayonnent à partir du centrosome en direction de la périphérie cellulaire : ils convergent depuis le cortex cellulaire vers l'appareil de Golgi qui occupe une position presque centrale. Ils constituent la manchette des spermatides. Ils sont présents dans les prolongements des cellules nerveuses (neurotubules).

Dans la cellule en mitose, ils forment les asters et ils se disposent en fuseau, le *fuseau mitotique*.

Les MTs labiles sont caractérisés par une instabilité dynamique. L'instabilité dynamique se définit par le comportement des MTs qui subissent, en permanence et très rapidement, des phases de polymérisation et de dépolymérisation.

Le réarrangement des MTs est permanent : les MTs croissent ou se dépolymérisent rapidement.

Durée de vie des tubulines

Le temps compris entre la synthèse des tubulines et leur dégradation enzymatique atteint une vingtaine d'heures : comme celui des MTs se limite à une dizaine de minutes, il paraît évident que chaque monomère de tubuline participe à la polymérisation et à la dépolymérisation de nombreux MTs.

La labilité caractérise la plupart des arrangements microtubulaires : la plupart des fonctions des MTs dépendent de cette labilité. Ainsi, une phase de dépolymérisation des MTs précède la préprophase (première phase de la mitose) au cours de laquelle apparaît le fuseau mitotique.

Conditions de la dépolymérisation

Les molécules de tubuline β , associées à des analogues non hydrolysables du GTP, peuvent être polymérisées en MTs. Cependant, ces MTs ont une durée de vie augmentée. De même, des tubulines β mutantes, dont l'activité GTPasique est altérée, forment des MTs stables. L'hydrolyse du GTP en GDP par la tubuline β est donc nécessaire à la dépolymérisation et est le fondement de l'instabilité dynamique des MTs.

Il apparaît que la conformation de la tubuline β est modifiée après l'hydrolyse du GTP et que les interactions entre tubuline β et tubuline α sont alors altérées, ainsi que les interactions des dimères entre eux. Dans les conditions de croissance rapide, la coiffe de tubuline β -GTP aux extrémités du MT suffit cependant à le stabiliser sur toute sa longueur. Si la coiffe disparaît (lors de l'épuisement local du pool de tubuline, par exemple) le MT, qui comporte de la tubuline β -GDP sur toute sa longueur, se déstabilise et est dépolymérisé.

■ Les MTs stables

Ils résistent à tous les fixateurs, aux alcaloïdes cités précédemment, à des températures inférieures à 4°C. Ils s'intègrent dans des structures complexes comme les centrioles, l'axonème des cils et des flagelles.

Les MTs labiles sont des MTs libres qui subissent en permanence des alternances de polymérisation et de dépolymérisation. La labilité des MTs dépend de GTP qui fournit l'énergie à la dépolymérisation des MTs. Les MTs stables sont associés aux cils, flagelles, centrioles.

Les MAPs, protéines associées au microtubule

Les MAPs (microtubule-associated proteins; protéines associées au microtubule) sont des protéines interagissant avec les MTs. La labilité et la stabilité s'expliquent par la nature des MAPs.

Les MAPs, qui regroupent les *MAPs structurales* et les *MAPs motrices*, sont des protéines s'associant avec les tubulines α et β . Les MAPs structurales constituent, avec les tubulines, des associations spécifiques très fortes qui stabilisent les MTs et organisent leur assemblage. Les MAPs motrices interviennent dans le déplacement d'organites.

■ Les MAPs structurales stabilisatrices

Le tissu nerveux, très riche en MTs, est favorable à l'étude des MAPs. Les recherches traditionnellement conduites sur le cerveau permettent d'étudier et de bien connaître deux MAPs, les *protéines HMW* (high molecular weight; protéines de haut poids moléculaire) et *Tau*. Ces MAPs structurales stabilisent les MTs.

Les protéines HMW

HMW, d'un PM compris entre 200 et 300 kDa, regroupe une dizaine de protéines dont les plus connues sont MAP1a, MAP1b, MAP2a, 2b, 2c et MAP4. MAP1a et MAP1b existent dans les péricaryons, les dendrites et les axones, tandis que MAP2a et MAP2b (qui établissent des connexions en forme de pont entre les MTs et entre les IFs) n'existent que dans les péricaryons et dans les dendrites. MAP4, la seule MAP ayant une distribution ubiquitaire, stabilise d'une manière sélective des sous-groupes de MTs.

La protéine Tau

Les protéines Tau (τ) (70 kDa) ne s'observent que dans les neurones et principalement dans les axones. Elles sont utilisées comme marqueur. Elles accélèrent la polymérisation de la tubuline, stabilisent les MTs en constituant des bras d'une longueur de 18 nm qui s'associent aux MTs voisins. Elles protègent les MTs contre le désassemblage, favorisent la formation de faisceaux de MTs parallèles. Les souris ayant une mutation nulle pour Tau restent viables, ce qui indique que la stabilisation des MTs dépend alors d'autres MAPs. Tau se localise principalement dans les axones, tandis que MAP2 reste dans le péricaryon et dans les dendrites. Les MTs peuvent jouer un rôle dans la répartition de Tau, puisqu'ils distribuent, dans la cellule, l'ARNm responsable de sa synthèse.

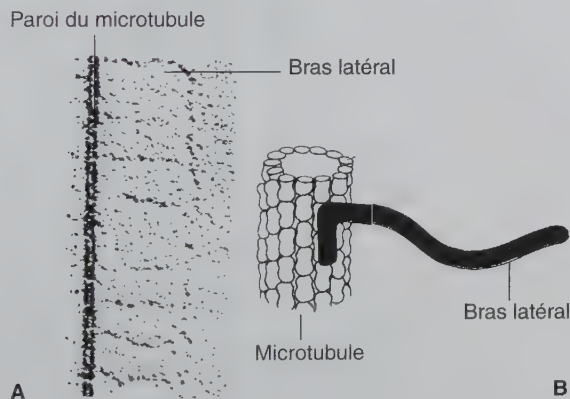
Les protéines Tau sont hyperphosphorylées dans la maladie d'Alzheimer, ce qui provoque de nombreuses anomalies de l'organisation microtubulaire.

Caractéristiques de l'interaction avec la tubuline α

Des modifications, intervenant uniquement sur la tubuline α des MTs (acétylation d'une lysine et suppression d'une tyrosine de l'extrémité carboxy-terminale), aboutiraient à la formation de sites de fixation pour les MAPs.

Les MAPs peuvent se disposer sous la forme de bras latéraux régulièrement espacés (fig. 3.28). Les MAPs possèdent une zone adhérent au MT, parallèle à celui-ci, et une zone horizontale, perpendiculaire au MT. Les MAPs permettent des interactions entre les MTs et certains constituants cellulaires.

Fig. 3.28
Les MAPs.
A. Microscopie électronique montrant la disposition des MAPs.
B. Reconstruction tridimensionnelle d'un microtubule et d'un bras constitué par des molécules de MAP.



■ Les MAPs motrices, la kinésine et la dynéine

Des expériences réalisées sur les axones géants de Calmar ont permis d'isoler deux protéines motrices, la *kinésine* et la *dynéine* (fig. 3.29). Ces protéines existent également chez les Vertébrés supérieurs. Elles interviennent dans des déplacements orientés.

La *kinésine* assure des transports, en direction du pôle positif (mouvements antérogrades), d'organites ou de grains de sécrétion.

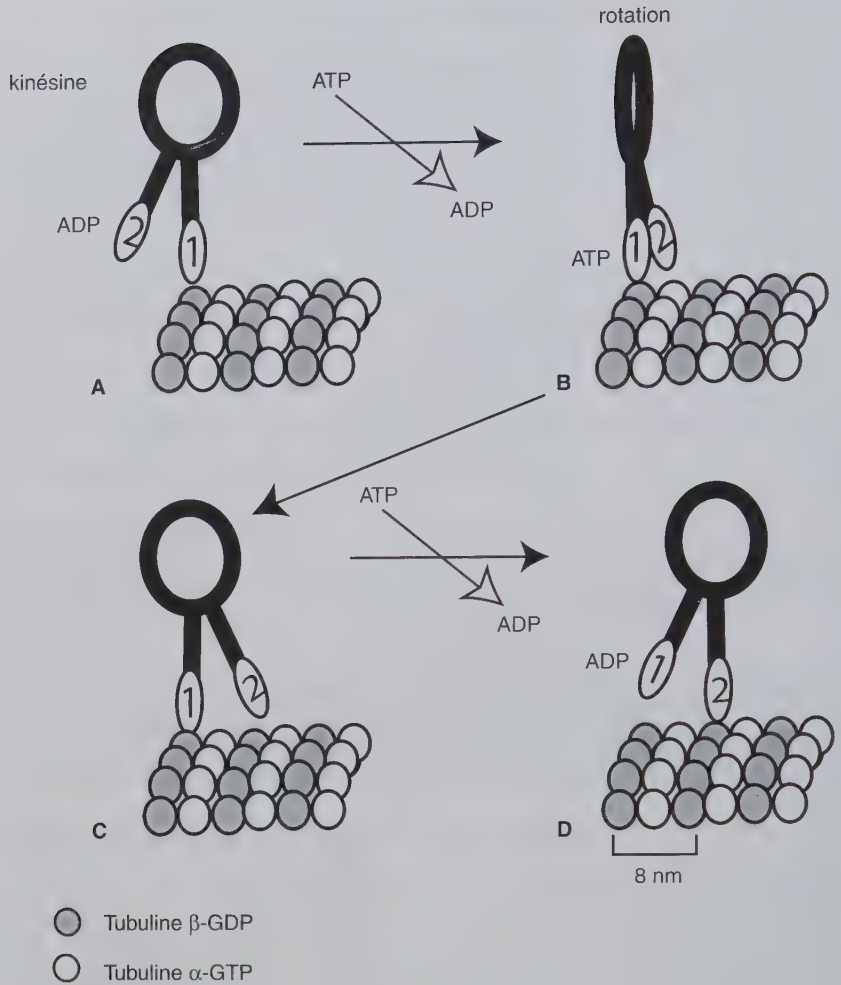
La *dynéine* est responsable des mouvements rétrogrades (en direction du pôle négatif).

Kinésine et dynéine sont des ATPases qui utilisent l'énergie de l'ATP. Le mécanisme de progression de ces molécules sur le MT est hypothétique. Dans la

Fig. 3.29

Déplacement d'une molécule de kinésine sur un microtubule.

Les extrémités 1 et 2 de cette molécule MAP possèdent une activité ATPasique. L'extrémité 1 se fixe sur une molécule de tubuline β . La kinésine effectue une rotation, de manière à amener l'extrémité 2 sur la molécule de tubuline β suivante. Puis la rotation s'effectuera sur l'extrémité 2 et l'extrémité 1 se fixera sur la molécule de tubuline β suivante et ainsi de suite. Ce déplacement est ATP-dépendant. Une molécule d'ATP est consommée pour un déplacement de 8 nm.



mesure où ces protéines se lient spécifiquement aux MTs, elles sont classées dans les MAPs. La nexine, qui intervient dans la stabilisation des MTs dans les cils vibratiles, est également classée dans les MAPs.

La kinésine et la dynéine ont une structure très voisine. Ce sont des complexes composés de deux chaînes lourdes identiques et de plusieurs chaînes légères. Chaque chaîne lourde possède une région comportant une ou plusieurs têtes globulaires, qui attachent la protéine aux MTs. La kinésine et la dynéine cytoplasmiques sont des molécules à deux têtes (la molécule de dynéine ciliaire a trois têtes). L'extrémité globulaire de la kinésine, ou de la dynéine, se fixe sur les molécules de tubuline β . La kinésine et la dynéine se déplacent par saut d'une sous-unité β à la suivante. Les deux chaînes légères se lient aux organites ou à la membrane des vésicules.

■ Les protéines non MAPs associées aux microtubules

Les interactions des protéines non MAPs avec les MTs ne sont pas, actuellement, toujours bien définies : cependant elles montrent que les MTs peuvent être un point d'ancrage temporaire de nombreuses protéines cytoplasmiques.

Plusieurs protéines impliquées dans la transduction d'un signal peuvent se lier fortement à la tubuline ou aux MTs; il s'agit :

- de la *neurofibromine*, une protéine GAP (GTPase-activating protein) qui stimule l'activité GTPasique de Ras;
 - des sous-unités α de plusieurs *protéines G* qui retirent GTP de la tubuline;
 - de la *géphyrine*, une protéine liée au récepteur de la glycine;
 - des *kinases* : la protéine kinase cdk5 (cyclin-dependent kinase; kinase dépendant de la cycline), GSK-3 (glycogen synthase kinase; glycogène synthétase kinase) qui provoquent une phosphorylation pathologique de la protéine Tau, EF1- α impliquée dans la biosynthèse protéique et la PKA (protéine kinase A).
- Enfin, la *dynamine*, une GTPase qui intervient dans l'endocytose, possède des sites de fixation microtubulaire. Son affinité est régulée par la phosphorylation.

Les protéines MAPs regroupent des MAPs structurales (protéines HMW et Tau qui se fixent sur la tubuline α) et des MAPs motrices (la kinésine qui assure les transports vers le pôle positif et la dynéine vers le pôle négatif). Des protéines non MAPs impliquées dans la transduction de signaux (neurofibromine, géphyrine, etc.) s'associent temporairement aux MTs.

Fonctions des microtubules

Les MTs interviennent dans :

- les mouvements des chromosomes au cours de la mitose et de la méiose,
- l'intégrité de l'appareil de Golgi,
- le transport de substances ou de matériel intracellulaire (mouvement ciliaire),
- les mouvements du milieu extracellulaire,
- le déplacement des cellules,
- la morphogenèse de la cellule,
- le maintien de la forme de la cellule,
- les mouvements de la cellule,
- la migration des vacuoles d'endocytose,
- la libération des grains de sécrétion,
- la polarité cellulaire,
- le maintien de la structure de la membrane cellulaire,
- le transport dirigé des ARNm dans le cytoplasme.

■ Déplacements des chromosomes

Les déplacements des chromosomes dépendent des MTs du fuseau (voir chapitre 5 « Le cycle cellulaire »).

■ Intégrité de l'appareil de Golgi

Les MTs assurent l'intégrité de l'appareil de Golgi (voir chapitre 9 « L'appareil de Golgi »).

■ Transport des vésicules d'endocytose

Les vacuoles de pinocytose ou les phagosomes, immédiatement après leur individualisation, se lient aux MTs par l'intermédiaire de CLIP170, une protéine

cytoplasmique de liaison (voir chapitre 2 « La membrane plasmique ») qui associe les vésicules aux MTs. Les dynéines relaieront ensuite CLIP170 et assureront le transport en direction de l'extrémité négative des MTs. Les éléments transportés s'accumulent ainsi dans des régions voisines de l'appareil de Golgi et des lysosomes.

■ Transport axonal

Dans les cellules nerveuses, les synthèses protéiques et la biogenèse des organites se produisent dans le péricaryon. Les axones contiennent de très nombreux MTs. La kinésine, en collaboration avec les MTs, assure le transport des organites dans le sens antérograde (péricaryon → terminaison synaptique de l'axone) et la dynéine assure le transport rétrograde (extrémité de l'axone → péricaryon). Ces deux molécules interviennent aussi dans le transport des vacuoles et des organites dans tous les autres types cellulaires.

Les alcaloïdes qui dépolymérisent les MTs interrompent les deux types de transport.

■ Mouvements du milieu extracellulaire

Les cils vibratiles, structures constituées par l'association de MTs (voir chapitre 12 « Le centrosome et ses dérivés »), sont responsables des mouvements de brassage du milieu extracellulaire. Ainsi, l'épithélium bronchique se caractérise par la présence d'une bordure ciliaire dont les mouvements ciliaires sont coordonnés (battement métachrone). Les jonctions communicantes assurent la transmission d'une information qui coordonne ces mouvements. Le mouvement efficace se fait en direction de la partie supérieure des bronches et de la trachée.

■ Déplacement de diverses cellules

Les flagelles, qui possèdent une structure complexe, contiennent des MTs qui jouent un rôle essentiel dans le déplacement des spermatozoïdes, des paramécies, etc.

■ Maintien de la forme des cellules différenciées

La destruction des MTs (par l'abaissement de la température ambiante, l'augmentation de la pression hydrostatique, la colchicine) des érythrocytes nucléés (cellules ovalaires) de certains vertébrés provoque une modification de leur forme. Les érythrocytes deviennent sphériques. Il en est de même pour les cellules du cristallin (cellules très allongées). Les MTs sont nécessaires au maintien de la forme des cellules puisqu'après destruction, ces cellules deviennent sphériques.

Les expériences utilisant des fibroblastes BHK21 (baby hamster kidney; rein de Hamster nouveau-né) sont très démonstratives. Dans des conditions normales de culture, ces cellules sont allongées et possèdent quelques prolongements. Par contre, l'adjonction de colchicine au milieu de culture modifie la forme des cellules qui prennent l'aspect des cellules épithéliales : elles deviennent polygonales, or, les MTs ont disparu (fig. 3.30).

■ Rôle dans la morphogenèse

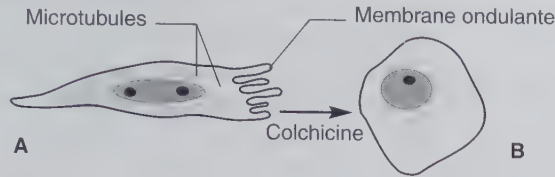
Pendant la morphogenèse, les cellules acquièrent progressivement leur forme définitive. Ces modifications de forme dépendent des MTs et de leur croissance. Le

Fig. 3.30

Microtubules et formes cellulaires.

A. Fibroblaste normal en culture.

B. Traitement par la colchicine : les microtubules disparaissent, le fibroblaste devient polygonal.



cristallin, par exemple, se différencie aux dépens de la placode optique. Les cellules de la placode s'allongent, deviennent prismatiques, puis la placode s'invagine en une vésicule, la *vésicule cristallinienne*. L'allongement de la cellule est contemporain de la différenciation des MTs : ils émanent d'un centrosome apical contenant un diplosome et s'allongent parallèlement au grand axe de la cellule. La colchicine empêche la différenciation de la vésicule cristallinienne en inhibant la formation des MTs.

■ Rôle dans l'excrétion

La colchicine inhibe la libération des produits contenus dans les phagosomes par les granulocytes, de l'histamine par les granulocytes et les macrophages, de l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans. L'exocytose se produit grâce au transport des vésicules par les molécules de kinésine qui se déplacent sur les MTs. La destruction des MTs inhibe la migration des molécules de kinésine.

Le blocage de l'excrétion des granulocytes explique le mécanisme d'action de la colchicine dans la thérapeutique de la goutte. Cette maladie métabolique est caractérisée par l'accumulation d'urate dans les articulations. Les phagocytes situés dans l'articulation ingèrent des cristaux d'urate monosodique : la colchicine inhibe la décharge du contenu des lysosomes dans les vacuoles de phagocytose et celle des phagosomes dans l'articulation, qui produisent une réaction inflammatoire.

■ Maintien de la polarité cellulaire

La polarité cellulaire est à la fois structurale et fonctionnelle. Elle implique que certaines activités de la cellule sont localisées à l'un des pôles cellulaires. Elle est évidente dans les cellules épithéliales dont une des faces est en rapport avec une cavité, une autre avec une lame basale, et les deux latérales avec les cellules voisines. La dépolymérisation des MTs des entérocytes induit la dédifférenciation du plateau strié apical et l'apparition d'un plateau strié basal. Dans des fibroblastes en culture, la polarité cellulaire est indiquée par le pôle où s'effectuent les mouvements de la membrane ondulante (mouvements directionnels). La pinocytose est habituellement localisée dans cette région. Traités par la colchicine, les fibroblastes prennent une forme polygonale et les mouvements directionnels sont remplacés par des mouvements amiboïdes au hasard. La perte de cette polarité inhibe le chimiotactisme des leucocytes, fait important qui explique la diminution du nombre des phagocytes pénétrant dans les articulations des goutteux traités par la colchicine, et donc la diminution des réactions inflammatoires.

■ Maintien de la structure de la membrane plasmique

La phagocytose par les granulocytes se caractérise par la pénétration d'une partie de la membrane plasmique dans le cytoplasme. La membrane contient des sites spécifiques de transport des acides aminés. Dans les conditions normales, au cours de la

phagocytose, ces sites sont respectés et restent tous dans la membrane plasmique, de telle sorte que la membrane du phagosome n'en contient pas. Après traitement à la colchicine, de grandes surfaces contenant des sites de transport d'acides aminés pénètrent dans la membrane qui limitera la vacuole de phagocytose. Ce fait implique donc que la structure de la membrane s'est modifiée. Cette répartition des sites dépendrait des MTs.

Un autre exemple confirme le rôle joué par les MTs dans le maintien de la structure de la membrane. Au cours de la formation de la cape, on constate que les MTs des lymphocytes sont localisés sous la membrane, dans la région de la cape.

■ Rôle dans le transport dirigé des ARNm

Les MTs et les MAPs motrices interviennent dans le transport de RNPs (ribonucléoprotéines) contenant des ARNm. Les ARNm se lient aux MTs par l'intermédiaire d'une protéine qui interagit en général avec la partie 3' non traduite (3' UTR; 3' untranslated region) de l'ARNm.

Les MTs interviennent dans les mouvements des chromosomes, l'intégrité de l'appareil de Golgi, le transport de substances ou de matériel intracellulaire, les mouvements du milieu extracellulaire, le déplacement et les mouvements des cellules, la morphogenèse, le maintien de la forme, de la structure et de la polarité cellulaire, la migration des vacuoles d'endocytose et des grains de sécrétion, le maintien de l'organisation de la membrane plasmique, le transport des ARNm.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ABP	Actin Binding Protein; protéine de liaison de l'actine
ADF	Actin Destabilizing Factor; facteur de déstabilisation de l'actine
ADP	Adénosine DiPhosphate
ARNm	ARN messenger
ATP	Adénosine TriPhosphate
BHK	Baby Hamster Kidney; rein de hamster nouveau-né
cdc	cell division cycle; cycle de division cellulaire
Cdk	Cyclin dependent kinase; kinase dépendant de la cycline
CLIP	Cytoplasmic Linker Protein; protéine cytoplasmique de liaison
E	arginine (code à une lettre des ac. aminés)
EF-1	Elongation Factor; facteur d'élongation
GAP	GTPase Activating Protein; protéine activant la GTPase
GDP	Guanosine DiPhosphate
GFA	Glial Fibrillary Acidic protein; protéine acide des cellules gliales
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein; protéine acide des cellules gliales
GSK	Glycogen Synthase Kinase; glycogène synthétase kinase
GTP	Guanosine TriPhosphate
GTPase	Guanosine TriPhosphatase
HMW	High Molecular Weight; protéines de haut poids moléculaire
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
I	isoleucine (code à une lettre des ac. aminés)

IF	Intermediate Filament; filament intermédiaire
IP3	Inositol 1, 4, 5 triPhosphate
LPA	LysoPhosphatidic Acid; acide lysophosphatidique
M	méthionine (code à une lettre des ac. aminés)
MAP	Microtubule-Associated Protein; protéine associée au microtubule
MF	MicroFilament d'actine
MT	MicroTubule
MTOC	MicroTubules Organizing Center; centre organisateur des microtubules
NF	NeuroFilament
NGF	Nerve Growth Factor; facteur de croissance nerveux
PH	Pleckstrine Homolog; homologue de la pleckstrine
PIP2	PhosphatidylInositol biPhosphate
PKA	Protéine Kinase A
R	acide glutamique (code à une lettre des ac. aminés)
Ras	Rat sarcoma; sarcome du Rat
RE	Réticulum Endoplasmique
RNP	RiboNucléoProtéine
SAM	Substrate Adhesion Molecule; molécule d'adhésion au substrat
TCP-1	Transfer Complex Polynucleotide-1; polynucléotide complexe de transfert 1
TM	TropoMyosine
TriC	TCP-1 ring Complex; complexe en anneau de TCP-1
UTR	UnTranslated Region; région non traduite
WAS	Wiskott-Aldrich Syndrome; syndrome de Wiskott-Aldrich
WASp	WAS protein : protéine WAS

■ 1. Une molécule d'actine G :

- ☐ 1. contient un acide aminé rare, la 3-méthyl-histidine.
- ☐ 2. a une forme de bivalve.
- ☐ 3. possède une liaison spécifique de l'ATP.
- ☐ 4. possède une conformation qui reste constante au cours de la polymérisation.
- ☐ 5. subit dans toutes les cellules, à l'exception de l'hématie, une alternance d'assemblage et de désassemblage.

■ 2. La polymérisation de l'actine G dans les cellules non musculaires :

- ☐ 1. commence par une phase de nucléation qui aboutit à la formation d'un trimère.
- ☐ 2. dépend de la présence et de la concentration des ions magnésium, calcium.
- ☐ 3. dépend de la présence d'ATP.
- ☐ 4. se produit au niveau de sites qui sont souvent liés à la membrane plasmique.
- ☐ 5. se déroule jusqu'à une phase critique qui dépend de la concentration de l'actine G dans le pool cellulaire.

■ 3. La protéine WAS :

- ☐ 1. est une protéine qui intervient dans la polymérisation des MFs.
- ☐ 2. a été isolée à partir de lymphocytes de patients souffrant de la maladie de Wiskott-Aldrich.
- ☐ 3. s'ancre sur la membrane plasmique en se liant à GPI.
- ☐ 4. agit comme un pont entre les récepteurs membranaires et les composants du cytosquelette.
- ☐ 5. forme un complexe avec cdc42, une petite protéine G, complexe qui stimule la polymérisation des MFs.

■ 4. La polymérisation de l'actine dans les cellules non musculaires :

- ☐ 1. est inhibée par la cytochalasine qui coupe les MFs en plusieurs points.
- ☐ 2. est inhibée par la phalloïdine.
- ☐ 3. ne peut se produire qu'après une phase de nucléation.
- ☐ 4. ne se produit qu'à l'extrémité positive des MFs.
- ☐ 5. dépend, dans les lymphocytes, de la présence de la protéine WAS.

■ 5. Certaines cellules bactériennes comme les *Listeria* :

- ☐ 1. peuvent se déplacer dans la cellule en utilisant les MFs de la cellule hôte.
- ☐ 2. ont des mouvements de déplacement qui se produisent grâce à la présence des MFs associés à la myosine I.
- ☐ 3. se déplacent grâce à la polymérisation de l'actine G de la cellule infestée.
- ☐ 4. induisent une polymérisation de l'actine G par action sur des protéines de la cellule hôte, les protéines ActA et IcsA.
- ☐ 5. induisent une polymérisation de l'actine G.

■ 6. Les protéines ABP sont :

- ☐ 1. des protéines de liaison aux membranes (par exemple la dystrophine).
- ☐ 2. des protéines de fragmentation des MFs (par exemple la gélactine).
- ☐ 3. des protéines de liaison croisée (par exemple la filamine).
- ☐ 4. des protéines d'emballage (par exemple l' α -actinine).
- ☐ 5. des protéines de stabilisation (par exemple la troponine).

■ 7. Les protéines ABP :

- ☐ 1. régulent la polymérisation.
- ☐ 2. régulent la dépolymérisation.
- ☐ 3. peuvent recouvrir les extrémités positives des MFs.
- ☐ 4. peuvent inhiber la nucléation en se liant à chaque monomère.
- ☐ 5. peuvent inhiber la dépolymérisation en se fixant le long des MFs.

■ 8. Les protéines de séquestration :

- ☐ 1. empêchent la polymérisation spontanée de l'actine G.
- ☐ 2. peuvent soit inhiber, soit induire la polymérisation.
- ☐ 3. peuvent inhiber la nucléation (par exemple la profiline).
- ☐ 4. peuvent avoir une affinité cent fois plus grande pour l'ADP-actine que pour l'ATP-actine.
- ☐ 5. ne peuvent séquestrer qu'une partie de l'actine G.

■ 9. Les tropomyosines (TM) :

- ☐ 1. sont des protéines de stabilisation des MFs.
- ☐ 2. empêchent la réticulation des MFs.
- ☐ 3. empêchent la fixation de l'actine α sur l'extrémité négative des MFs.
- ☐ 4. bloquent l'association tête/queue des molécules de tropomoduline.
- ☐ 5. ont une forme globulaire.

■ 10. Les tropomyosines :

- ☐ 1. existent uniquement dans les cellules musculaires.
- ☐ 2. stabilisent l'actine des cellules non musculaires.
- ☐ 3. stabilisent l'actine des cellules musculaires.
- ☐ 4. se fixent le long des MFs.
- ☐ 5. possèdent une activité modulée par la troponine.

■ 11. La caldesmone :

- ☐ 1. existe uniquement dans les cellules non musculaires.
- ☐ 2. inhibe la dépolymérisation des MFs en se liant à l'actine.
- ☐ 3. peut se combiner à la calmoduline.

- ☐ 4. peut s'associer à la myosine.
- ☐ 5. peut se lier aux phospholipides.

■ 12. Au niveau des points de contacts focaux :

- ☐ 1. des intégrines se lient au composant de la matrice extracellulaire.
- ☐ 2. des intégrines s'attachent à la fibronectine qui est synthétisée par la cellule à laquelle appartiennent ces contacts focaux.
- ☐ 3. l'extrémité intercellulaire des molécules d'intégrine s'associe directement à la vinculine.
- ☐ 4. des molécules d' α -actinine unissent les MFs.
- ☐ 5. des protéines de la calotte recouvrent l'extrémité négative des MFs.

■ 13. Les myofilaments de myosine :

- ☐ 1. sont localisés dans les disques I.
- ☐ 2. sont maintenus dans la partie centrale du sarcomère par des filaments de nébuline qui les unissent à la strie Z.
- ☐ 3. se répartissent en deux groupes égaux de part et d'autre de la ligne M.
- ☐ 4. sont les éléments moteurs de la myofibrille.
- ☐ 5. sont réunis à la membrane plasmique (sarcolemme) par des filaments de desmine.

■ 14. La myosine I :

- ☐ 1. est une ATPase.
- ☐ 2. assure le déplacement des MFs en direction du centre de la cellule.
- ☐ 3. participe à la migration de certaines structures en direction de l'extrémité négative.
- ☐ 4. assure le glissement des MFs les uns par rapport aux autres.
- ☐ 5. a une structure très voisine de la myosine II.

■ 15. Les MFs des fibres musculaires striées contiennent :

- ☐ 1. de l'actine β .

- ☐ 2. des molécules de tropomyosine, une molécule fibrillaire située dans la gouttière en spirale des MFs.
- ☐ 3. des molécules de troponine qui masquent les sites récepteurs du segment S1 de la myosine localisés sur l'actine.
- ☐ 4. des molécules de nébuline qui contrôleraient l'assemblage des MFs.
- ☐ 5. des molécules de titine qui unissent les myofilaments de myosine aux stries Z.

■ 16. Dans le tissu musculaire strié, le déplacement d'un MF nécessite :

- ☐ 1. la fixation de l'ATP par la myosine II.
- ☐ 2. la fixation du calcium sur la tropomyosine et le déplacement de la troponine qui protégeait les sites récepteurs de l'actine.
- ☐ 3. la fixation de la myosine sur son site récepteur situé sur l'actine.
- ☐ 4. l'hydrolyse de la molécule d'ATP.
- ☐ 5. le pivotement de la tête de myosine qui entraîne les MFs.

■ 17. Les IFs :

- ☐ 1. ont un diamètre intermédiaire entre celui des MTs et des MFs.
- ☐ 2. existent dans toutes les cellules y compris les hématies.
- ☐ 3. se disposent dans le noyau contre la face interne de la membrane interne.
- ☐ 4. sont des homo- ou des hétéropolymères instables.
- ☐ 5. se classent en 5 catégories.

■ 18. Les cytokératines :

- ☐ 1. regroupent uniquement les filaments de cytokératine localisés dans le cytoplasme des kératinocytes.
- ☐ 2. se localisent dans des régions différentes de l'épithélium.
- ☐ 3. sont les IFs les plus résistants.
- ☐ 4. jouent un rôle dans le transport des pigments cutanés.
- ☐ 5. jouent un rôle mécanique et un rôle de protection.

■ 19. Les NFs :

- ☐ 1. sont des IFs.
- ☐ 2. s'associent aux MTs.
- ☐ 3. interviennent dans le maintien de la rigidité des neurones.
- ☐ 4. sont sans action sur le diamètre de l'axone.
- ☐ 5. peuvent augmenter en nombre, ce qui accroît la vitesse du flux neuronal.

■ 20. Les lamines nucléaires :

- ☐ 1. sont voisines des laminines.
- ☐ 2. recouvrent la face interne de la membrane interne du noyau.
- ☐ 3. maintiennent la forme du noyau.
- ☐ 4. servent d'ancrage aux extrémités bicaténares de l'ADN.
- ☐ 5. possèdent des résidus tyrosine dont la phosphorylation provoque la fragmentation de l'enveloppe nucléaire.

■ 21. Les MTs :

- ☐ 1. sont des polymères des hétérodimères $\alpha\beta\gamma$ de la tubuline.
- ☐ 2. possèdent une extrémité négative distale.
- ☐ 3. sont formés au cours d'un assemblage ATP-dépendant.
- ☐ 4. sont des tubes creux toujours disposés radiairement autour des MTOCs.
- ☐ 5. croissent à partir des MTOCs.

■ 22. La kinésine :

- ☐ 1. est une protéine MAP structurale et motrice.
- ☐ 2. assure les transports antérogrades.
- ☐ 3. assure les transports rétrogrades.
- ☐ 4. est une ATPase.
- ☐ 5. est une GTPase.

1.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Le site de fixation n'est pas spécifique de l'ATP puisqu'il fixe aussi l'ADP.

4. Au cours de la polymérisation, les molécules d'actine G modifient leur conformation lors de leur fixation sur l'extrémité négative.

5. Les alternances d'assemblage et de désassemblage ne se produisent pas dans le tissu musculaire (lisse ou strié).

2.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. La polymérisation de l'actine G dépend de la présence et de la concentration des ions magnésium et potassium.

3.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. La protéine WAS n'existe pas dans les lymphocytes de patients souffrant de la maladie de Wiskott-Aldrich.

3. WASp s'ancre sur la membrane plasmique par l'intermédiaire de PIP2 ou d'IP3.

4.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	V

1. La cytochalasine se fixe sur l'extrémité positive des MFs, empêchant ainsi la fixation de nouvelles molécules d'actine G.

2. La phalloïdine inhibe la dépolymérisation de l'actine.

4. La polymérisation se produit à chacune des deux extrémités de l'actine F : elle est plus rapide à l'extrémité positive.

5.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. Les mouvements de déplacement des bactéries dépendent uniquement des MFs.

4. La polymérisation est induite par les protéines ActA et IcsA localisées dans la membrane bactérienne.

6.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. La gélactine est une protéine de réticulation.

5. La troponine est une protéine qui a une forte affinité pour le calcium : la fixation de calcium sur cette molé-

cule rend accessible le site de fixation du segment S1 sur l'actine. C'est la tropomyosine qui stabilise les MFs.

7.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

8.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. Les thymosines ont une activité 100 fois plus grande pour l'ATP-actine que pour l'ADP-actine.

5. La thymosine $\beta 4$, dans les neutrophiles et dans les plaquettes, séquestre la totalité de l'actine G.

9.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. La tropomoduline est une protéine de liaison de la tropomyosine : elle se lie à TM. Elle bloque l'association tête/queue des molécules de TM.

5. Elles ont une forme fibrillaire.

10.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. Les tropomyosines existent dans tous les types cellulaires.

11.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. La caldesmone existe dans les cellules musculaires et non musculaires.

4. La caldesmone se lie à la tropomyosine.

12.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. L'extrémité intercellulaire des molécules d'intégrine s'associe à la vinculine par l'intermédiaire de la taline.

5. Les protéines de la calotte recouvrent toutes les extrémités positives et négatives des MFs situés au niveau des points de contacts.

13.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	F

1. Les myofilaments de myosine sont localisés dans les disques A.

2. Les filaments de titine maintiennent les myofilaments de myosine en place.

3. Les myofilaments de myosine constituent un seul groupe au centre du sarcomère.

5. Les filaments de desmine situés dans la strie Z réuniraient les MFs à la membrane plasmique.

14.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	F

2. La myosine I assure le déplacement d'organites le long de MFs (en direction de la périphérie cellulaire).

3. La myosine assure le déplacement d'organites en direction de l'extrémité positive qui s'ancre sur la membrane plasmique.

5. Elle diffère de la myosine II : elle possède une seule tête et une queue.

15.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. Les MFs des fibres musculaires striées sont des polymères de l'actine α .

3. Les sites récepteurs du segment S1 de la myosine sont masqués par la tropomyosine.

16.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. Le calcium libéré du réticulum sarcoplasmique par les canaux ioniques se fixe sur la troponine. Cette fixation entraîne le déplacement de la tropomyosine qui masque les sites récepteurs de la myosine situés sur le MF d'actine.

17.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. Les filaments intermédiaires n'existent pas chez les Eucaryotes unicellulaires.

4. Ils sont stables.

18.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Les filaments de kératine sont soit intracellulaires (kératinocytes), soit extracellulaires (cheveux, ongles).

4. Ils n'interviennent que dans la forme de la cellule et dans sa protection.

19.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. Les MFs déterminent le diamètre de l'axone : la phosphorylation des neurofilaments moyens et lourds (NF-M, NF-N) augmente leurs charges négatives et donc les forces répulsives portées par les NFs, ce qui assure la constance de leur diamètre.

5. L'accumulation des NFs provoque un ralentissement du flux axonal et provoque une dégénérescence de la partie proximale de l'axone.

20.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. Les laminines appartiennent aux lames basales des épithéliums.

4. Les lamines servent d'ancrage aux extrémités monocaténares de l'ADN.

5. La déphosphorylation des résidus tyrosine des lamines provoque la fragmentation de l'enveloppe nucléaire.

21.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	V

1. Les MTs sont des polymères de l'hétérodimère $\alpha\beta$ de tubuline.

2. Leur extrémité distale est positive.

3. Leur polymérisation est GTP-dépendante.

4. Ils ne sont pas obligatoirement disposés radialement autour des MTOCs (par exemple les MTs des cils vibratiles).

22.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. La kinésine est une protéine uniquement motrice.

3. Elle assure le transport antérograde.

5. Elle possède une activité ATPasique.

- 1. Sous quelle forme l'actine existe-t-elle dans les cellules non musculaires?
- 2. Citez un cofacteur de l'actine dans les cellules non musculaires.
- 3. Où sont localisés le plus fréquemment les sites de nucléation?
- 4. Quelle est la forme de l'actine G?
- 5. De quelle molécule dépend la polymérisation de l'actine G?
- 6. Que deviennent les molécules d'ADP dans les MFs?
- 7. Quel est le complexe qui intervient dans la polymérisation de l'actine?
- 8. Pourquoi la vitesse de croissance d'un MF est-elle plus rapide à l'extrémité positive?
- 9. Que deviennent les molécules d'ADP au cours de la dépolymérisation?
- 10. Au cours de la phase de croissance des MFs, sur quelle extrémité les monomères d'actine G se fixent-ils?
- 11. Citez deux molécules qui, en se fixant sur un monomère d'actine G, inhibent ou régulent la polymérisation.
- 12. Quelle est la principale propriété des tropomyosines?
- 13. Mode d'action de la cytochalasine B.
- 14. Quelles sont les protéines d'empaquetage des faisceaux non contractiles d'actine?
- 15. Quelles sont les molécules qui stabilisent l'actine F?
- 16. Quelle est la disposition des MFs dans un gel cytoplasmique?
- 17. Décrivez l'organisation des faisceaux serrés d'actine.
- 18. Organisation des faisceaux de tension d'actine.
- 19. Quel est le rôle de la myosine I?
- 20. Quel est le mode d'activation de la myosine I?
- 21. Quelle est l'action de la tropomoduline.
- 22. Dans quelle famille de protéines se classe l' α -actinine?
- 23. Citez les protéines ABP intervenant dans la formation des faisceaux de MFs.
- 24. Qu'est-ce qu'un point de contact focal?
- 25. Quel est le rôle de l'actine dans l'allongement des lamellipodes?
- 26. Dans quel cas les faisceaux contractiles peuvent-ils s'organiser en anneaux contractiles?
- 27. Quelle est la différence d'action de la phalloïdine et de la cytochalasine sur les MFs?
- 28. Comment les MFs contrôlent-ils la viscosité du cytoplasme?
- 29. Quel est le filament intermédiaire le plus important au cours de la régénération des neurones?
- 30. Quels sont les rôles des NFs?
- 31. Quelle est la condition essentielle pour que la nucléation des MTs puisse commencer à partir de tubuline $\alpha\beta$ néosynthétisée?
- 32. Après repliement des tubulines α et β néosynthétisées et formation du dimère $\alpha\beta$ quelle est la molécule indispensable à la nucléation?
- 33. Régulation de la synthèse de la tubuline.
- 34. Quelle est la protéine MAP qui est utilisée comme marqueur des axones?
- 35. Citez une molécule qui intervient dans l'endocytose et qui possède plusieurs sites de fixation microtubulaire.

1. Sous la forme d'actine G et d'actine F.
2. La myosine I.
3. Les sites de nucléation sont le plus souvent liés à la membrane plasmique.
4. Elle a une forme bivalve; elle possède deux domaines à concavité interne tournés vers le site de liaison de l'ATP.
5. De l'ATP qui est hydrolysée en ADP immédiatement après l'assemblage des molécules d'actine G.
6. L'ADP reste fixée dans les monomères des filaments d'actine.
7. Le complexe cdc42/WASp.
8. Parce que les molécules d'actine G doivent modifier leur conformation pour s'associer à l'extrémité négative : ce qui n'est pas le cas pour l'extrémité positive.
9. Une molécule d'ATP se substitue à chacune des molécules d'ADP.
10. L'actine G se fixe sur les extrémités plus et moins. La fixation est plus rapide au niveau de l'extrémité positive.
11. La profiline, la thymosine. (mais vous auriez pu citer la dépectine, la destrine).
12. La principale propriété des TMs est leur aptitude à se fixer le long des filaments d'actine, excluant ainsi la filamine, et permet à l'actine α de se fixer uniquement à l'extrémité positive.
13. La cytochalasine B est un inhibiteur de la polymérisation de l'actine. Par exemple, elle s'intercale entre les MFs et la membrane des lamellipodes et empêche l'ajout de molécules d'actine.
14. La villine et la fimbrine.
15. La tropomyosine, la caldesmone.
16. Les MFs réunis par la filamine sont organisés en un réseau.
17. Les MFs, distants de 10 nm, sont orientés avec la même polarité. Le pontage des MFs dépend de la fimbrine et de la villine.
18. Les faisceaux de tension contiennent des MFs qui ne sont pas orientés avec la même polarité. Ils contiennent de la myosine II. Les MFs sont unis à leur extrémité par des filaments d' α -actinine.
19. La myosine I intervient dans les cellules non musculaires dans le déplacement d'organites, de vésicules et dans les mouvements de glissement des MFs les uns par rapport aux autres.
20. La calmoduline, en présence de calcium, active la myosine kinase qui à son tour active la myosine I en présence d'ATP qui subit une déphosphorylation (libération d'énergie).
21. Elle bloque l'association tête/queue des molécules de tropomyosine le long des MFs en se liant à ses extrémités.
22. La famille ABP (actin binding protein).
23. L' α -actinine, la villine, la fimbrine.
24. Une région membranaire où les faisceaux contractiles interagissent avec la membrane plasmique.
25. Les lamellipodes contiennent des faisceaux serrés d'actine parallèles à leur axe. L'allongement des lamellipodes dépend de la polymérisation des MFs au contact de la membrane plasmique.
26. Au cours de la plasmodiérèse.
27. Les cytochalasines inhibent la polymérisation des MFs et les phalloïdines inhibent leur dépolymérisation.
28. Par formation d'un gel grâce à la filamine qui provoque une réticulation des MFs, par la gelsoline qui, en présence de calcium, fragmente les MFs et transforme le gel en sol.
29. La périphérine. Au cours de la régénérescence neuronale, la quantité de NGF croît. L'activation des récepteurs membranaires par le NGF induit la dérégulation du gène de la périphérine et augmente ainsi sa synthèse.

30. Ils interviennent dans la rigidité et la résistance des axones, et également dans le transport axonal de molécules depuis le péricaryon jusqu'à l'extrémité de l'axone. Ils déterminent le diamètre de l'axone.

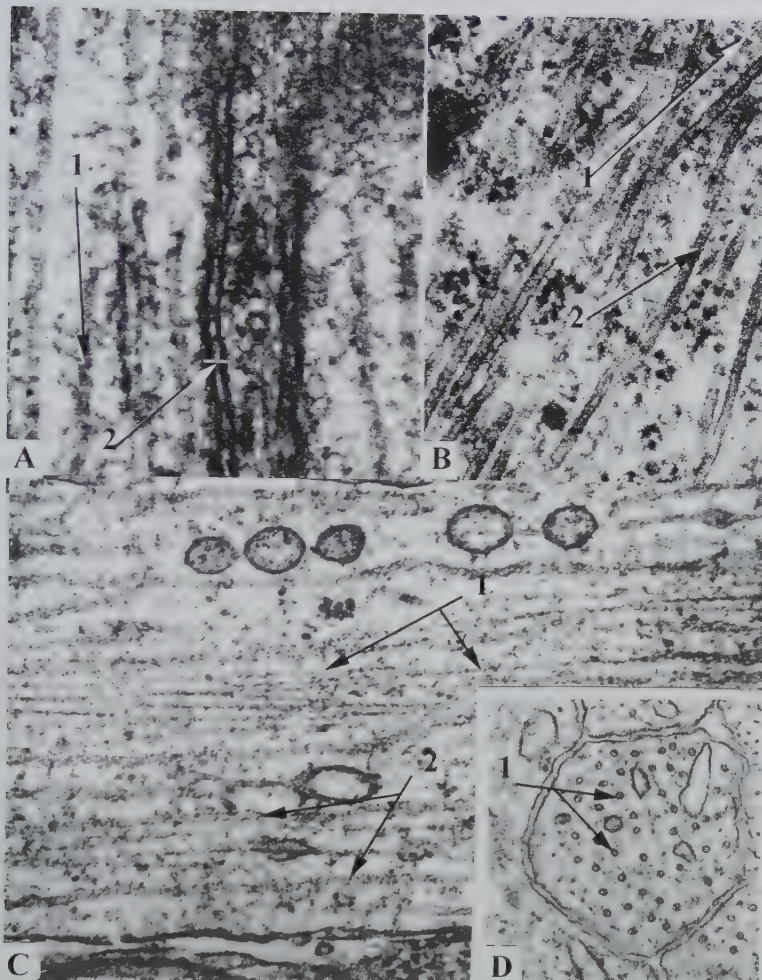
31. Les tubulines α et β doivent se replier.

32. La tubuline γ sans laquelle la nucléation ne peut se dérouler.

33. La régulation de la synthèse des tubulines dépend d'un mécanisme de rétroaction. Une baisse de la quantité de tubulines du pool cytoplasmique augmente la quantité des ARNm codant la tubuline.

34. La protéine Tau.

35. La dynamine.



■ Cliché A :

Flèche 1 : microfilament.

Flèche 2 : microtubule.

■ Cliché B :

Flèche 1 : MTOC.

Flèche 2 : microtubule.

■ Cliché C :

Flèche 1 : microtubules.

Flèche 2 : microfilaments.

■ Cliché D

Flèche 1 : microfilament.

■ Cliché A :

Flèche 1 : F : *microtubule*.

Flèche 2 : F : *membranes plasmiques séparées par un espace intercellulaire*.

■ Cliché B :

Flèche 1 : V : *MTOC vers lequel convergent des MTs*.

Flèche 2 : V.

■ Cliché C :

Flèche 1 : F : *microfilament*.

Flèche 2 : F : *microtubule*.

■ Cliché D :

Flèche 1 : F : *microtubule en coupe transversale*.

Les caractères généraux

La chromatine

L'ADN nucléaire

Les ARN

Les espaces
interchromatiniens

La matrice nucléaire

L'enveloppe nucléaire

Les pores nucléaires

Le nucléole

En 1831, R. Brown découvre cet organite dans des cellules végétales. Il est ensuite retrouvé dans les cellules animales. Pendant de très nombreuses années, le noyau est resté le mieux connu de tous les organites cellulaires. De nombreux travaux, en particulier les expériences de mérotomie, lui confèrent une réputation d'omnipotence légèrement modifiée par les recherches modernes qui font de la cellule un tout dont rien ne saurait être impunément retiré. Le noyau contient non seulement l'essentiel de l'ADN cellulaire, ce qui lui donne un rôle particulièrement important, mais il est aussi le siège de transformations continues intéressant en particulier les ARN synthétisés.

Le passage des Procaryotes aux Eucaryotes est l'un des événements les plus importants de l'évolution. C'est à ce moment qu'apparaît le noyau qui joue un rôle de « commandement », spécifique des cellules eucaryotes. Il introduit une compartimentation telle, que la transcription de l'ADN en ARN, mais aussi la réplication ou duplication de l'ADN, se déroulent dans un lieu séparé des sites de traduction cytoplasmique par l'enveloppe nucléaire. L'un des ARN transcrits, après une rapide phase de maturation, joue le rôle de messenger (ARN messenger ou ARNm). Il traverse l'enveloppe nucléaire en passant par les pores sous la forme de ribonucléoprotéines (ARN associé à des protéines). La traduction ou synthèse des protéines s'effectue donc dans le cytoplasme (lecture de l'ARNm et synthèse des protéines par les ribosomes).

Le noyau, indispensable à la vie des cellules des organismes eucaryotes, est un compartiment cellulaire caractéristique des cellules eucaryotes. Il est limité par une citerne du réticulum endoplasmique, l'enveloppe nucléaire, qui porte des ribosomes sur sa face externe ou cytosolique et qui est interrompue par des pores nucléaires permettant les échanges nucléocytoplasmiques.

Introduction

Le noyau contient :

- un *nucléoplasme* peu colorable;
- des amas d'une substance fortement chromophile, l'*hétérochromatine*, constituée par des fibres d'ADN superspiralisées;
- des espaces interchromatiniens peu colorables séparant les mottes d'hétérochromatine, dans lesquels circulent des filaments d'ADN très peu condensés, l'*euchromatine*;
- des corps sphériques, les *nucléoles*.

Le noyau (fig. 4.1) est limité par l'*enveloppe nucléaire* : elle est formée par les deux membranes d'une citerne spécialisée du réticulum endoplasmique, séparées par un espace, l'*espace périnucléaire*. Cette membrane est interrompue par places, ménageant ainsi des *pores*, zones de communication entre le nucléoplasme et le cytoplasme. Une charpente, qui regroupe les molécules de lamine et la matrice nucléaire, maintient la structure nucléaire : elle comprend des molécules de lamine (filaments intermédiaires du cytosquelette nucléaire, le « nucléosquelette ») qui s'associent en

Fig. 4.1

Noyau en microscopie électronique.

A. Représentation schématique d'un noyau.

B. Photomicrographie électronique.

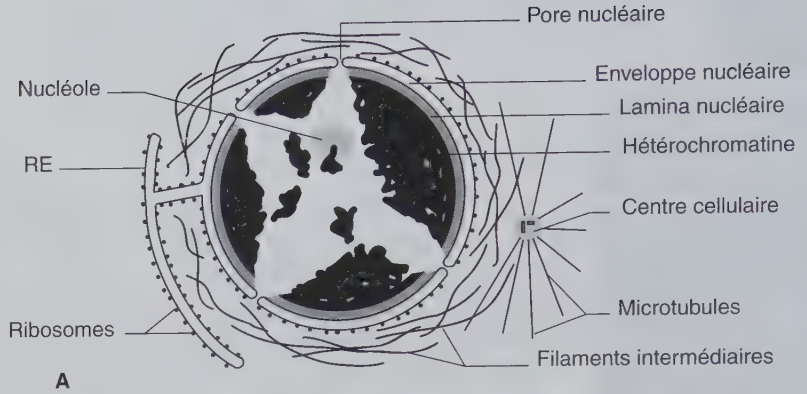
1. Noyau.

2. Nucléole.

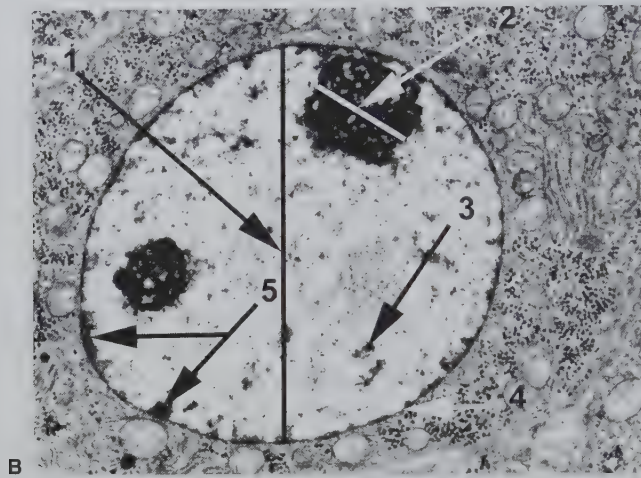
3. Hétérochromatine.

4. Enveloppe nucléaire.

5. Chromatine marginale.



A



B

une *lamina* accolée à la face interne de la membrane interne, des protéines fibrillaires et un réseau fibreux. La lamina entre en rapport, par sa face interne, avec une couche de substance dense, l'*hétérochromatine périphérique*, fortement colorable, aussi bien en microscopie photonique qu'en microscopie électronique.

Caractères généraux

Les cellules possèdent habituellement un seul noyau. Cependant, certaines cellules peuvent posséder plus d'un noyau : dans le foie, les *hépatocytes*, souvent polyploïdes et en particulier tétraploïdes, ont souvent deux noyaux (15 % de l'ensemble des cellules hépatiques).

Enfin, des masses protoplasmiques plurinucléées (plasmods et syncytiums) contiennent de très nombreux noyaux : les *plasmods* résultent de la multiplication nucléaire sans cytodivision. Les *syncytiums* naissent de la fusion de plusieurs cellules en une masse commune. Les *ostéoclastes*, par exemple, qui interviennent dans le remodelage des os, détiennent en moyenne une dizaine de noyaux. Ils proviennent de la fusion de plusieurs précurseurs mononucléés d'origine sanguine.

Le noyau existe dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des érythrocytes (hématies) des Mammifères, qui le perdent avant leur passage dans le sang circulant, et des kératinocytes de la couche cornée des épithéliums malpighiens kératinisés.

Variations de forme

La forme du noyau diffère en fonction de la morphologie de la cellule. Elle peut être *sphérique* dans les cellules épithéliales cubiques ou polyédriques, *allongée* dans les cellules fusiformes (cellules musculaires lisses), *discoïde* dans les cellules pavimenteuses, *lobulée* ou *convolutée* dans les granulocytes et dans les cellules tumorales (ce qui augmente la surface d'échange avec le cytoplasme), *irrégulière* dans les mégacaryocytes (fig. 4.2).

La forme est liée à l'activité cellulaire : dans les cellules hyperactives, le noyau acquiert parfois un contour irrégulier.

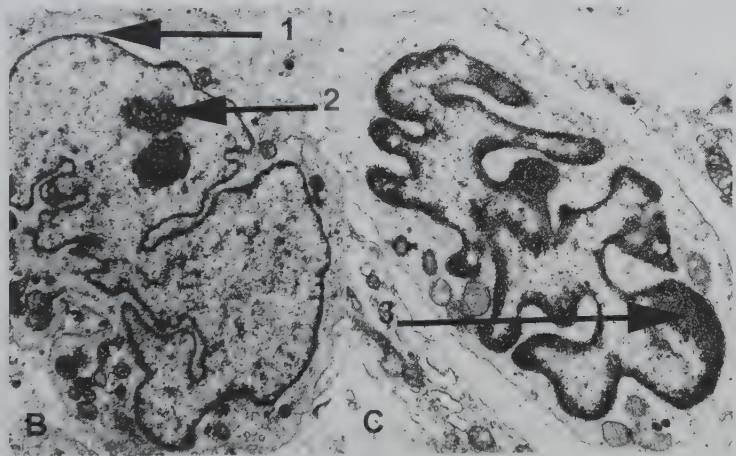
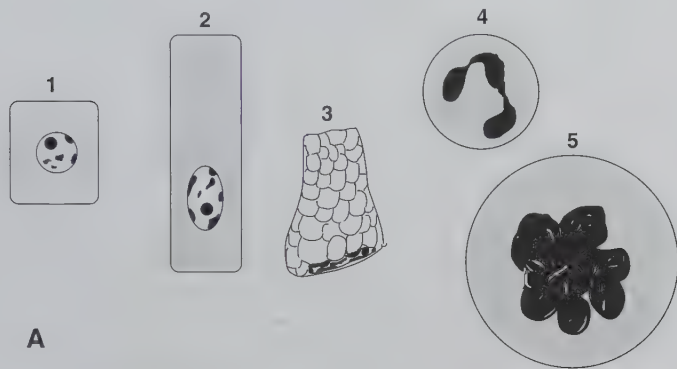
Fig. 4.2

Formes du noyau.

A. 1. Noyau sphérique d'une cellule cubique. 2. Noyau ovoïde d'une cellule prismatique. 3. Noyau discoïde d'une cellule muqueuse. 4. Noyau multilobé d'un granulocyte. 5. Noyau bourgeonnant d'un mégacaryocyte.

B. Noyau divisé en deux lobes par une profonde incisure. 1. Enveloppe nucléaire. 2. Nucléole.

C. Noyau multilobé. 3. Chromatine marginale.



Variations de volume

Remarquablement fixe pour le même type, le volume nucléaire varie d'un type cellulaire à un autre.

Les cellules muqueuses des glandes salivaires possèdent des noyaux de petites dimensions, tandis que les cellules multipolaires de la corne antérieure de la moelle ou les cellules pyramidales ont des noyaux particulièrement volumineux.

Le rapport nucléoplasmatique

Le RNP est le rapport entre le volume nucléaire (V_n) et le volume cellulaire (V_c) dont le volume nucléaire est soustrait : il est constant pour une espèce donnée.

La cellule atteint le RNP spécifique de l'espèce au stade blastula : à partir de ce stade, le volume de l'embryon augmente par multiplication cellulaire et le RNP demeure identique pour chacune des nouvelles cellules. Il varie en fonction :

- du *capital chromosomique* : dans les cellules tétraploïdes, le RNP vaut le double de celui des cellules diploïdes; avant la prophase, il augmente car le volume nucléaire s'accroît en raison de la duplication de l'ADN au cours de la phase S du cycle cellulaire;
- de l'*activité fonctionnelle* : l'augmentation du RNP traduit un accroissement de l'activité métabolique de la cellule. Dans les glandes endocrines, pendant la phase d'élaboration des hormones, le RNP augmente.

Variations de position

Le noyau occupe souvent le centre géométrique de la cellule, par exemple, dans les cellules embryonnaires.

Très souvent, sa position dépend de l'importance des réserves élaborées ou des différenciations cellulaires. Il est périphérique dans les adipocytes de la graisse jaune, basal dans les cellules glandulaires à sécrétion exocrine. Dans les cellules muqueuses, il se dispose près de la membrane cellulaire basale. Dans les cellules séreuses, il occupe une région placée à l'union du tiers basal et du tiers moyen. Dans les cellules pancréatiques exocrines, le noyau est refoulé en direction du pôle basal par les grains de sécrétion apicaux, lorsque ceux-ci sont nombreux.

Exemples de cellules anucléées

■ Les hématies

Les hématies se différencient, chez l'adulte, dans la moelle osseuse, à partir de cellules souches nucléées, les *érythroblastes*. Ces érythroblastes se transforment en *normoblastes* qui, juste avant leur passage dans le sang, perdent leurs organites par autophagie et expulsent leur noyau. Elles deviennent alors des *réticulocytes*, cellules sanguines qui conservent, dans leur cytoplasme, quelques débris basophiles. Dans le sang, les réticulocytes se transforment rapidement en érythrocytes.

■ Les kératinocytes

Dans les épithéliums malpighiens, les kératinocytes superficiels de la couche cornée, qui proviennent de la différenciation de kératinocytes nucléés localisés dans la couche basale, sont des cellules anucléées : ces cellules, au cours de leur évolution, perdent aussi leurs organites par autophagie et se chargent de microfilaments de kératine.

Les hématies et les kératinocytes sont des cellules eucaryotes anucléées. La forme du noyau dépend de celle de la cellule et de son activité. Le volume nucléaire dépend de l'activité de la cellule. Le RNP permet d'apprécier le volume en fonction de celui de la cellule. Le RNP est caractéristique de l'espèce.

La chromatine

La chromatine est constituée par les molécules d'ADN organisées en *fibres nucléosomiques*. L'examen, en microscopie optique, de noyaux fixés et traités par les colorants basiques, révèle l'existence d'une substance, dénommée chromatine en raison de sa forte affinité tinctoriale : on la désigne actuellement par le terme d'*hétérochromatine*. Les espaces moins denses, compris entre les masses chromatiques, sont les *espaces interchromatiniens* qui renferment l'*euchromatine*. Le conditionnement de l'ADN en fibres chromatiniennes compactes diminue le volume nucléaire, nécessaire pour contenir les longues molécules d'ADN : il permet aussi de limiter et de contrôler l'accès à l'information génétique. La chromatine se répartit dans l'ensemble du nucléoplasme, à la périphérie du noyau, contre l'enveloppe nucléaire où elle constitue la *membrane chromatique*, en une ou plusieurs *masses juxta- ou paranucléolaires*.

Structure en microscopie optique

Identique dans les noyaux appartenant au même type cellulaire, elle varie beaucoup d'un type cellulaire à un autre. La chromatine prend la forme :

- soit de grosses mottes irrégulières,
- soit de mottes de petites dimensions,
- soit de granulations très fines ou pulvérulentes,
- soit enfin d'un réseau à mailles plus ou moins fines, dont certains points (en particulier les points de confluence) sont épaissis.

L'aspect varie non seulement avec la nature de la cellule à laquelle appartient le noyau, mais aussi avec son activité. La finesse de la chromatine exprime le degré d'activité de la cellule.

Dans les noyaux des cellules somatiques femelles, une masse de chromatine d'un diamètre de 1 μm , biconvexe, se plaque soit contre le nucléole, soit contre l'enveloppe nucléaire : c'est la *chromatine sexuelle*, décrite sous le nom de corpuscule de Barr, qui correspond à la portion du chromosome X inactivée.

Les fibres nucléosomiques

Une fibre nucléosomique est une fibre constituée par une molécule d'ADN et par une succession de nucléosomes, distants de 10 nm, autour de chacun desquels la molécule d'ADN s'enroule en hélice sur une longueur de 140 paires de base. Les nucléosomes sont des structures sphériques ou cylindriques, constituées par 8 molécules d'histones. Le core a la forme d'une particule plate de $110 \times 110 \times 55 \text{ \AA}$.

L'examen en microscopie électronique de la chromatine démontre qu'elle est formée par des fibres à trajectoire spirale, les fibres nucléosomiques.

D'une longueur totale variable, ces fibres dessinent des trajets complexes, sinueux : elles existent aussi bien dans la chromatine que dans les espaces interchromatiniens. Elles décrivent des spires à enroulement serré dans l'hétérochromatine.

■ Structure

Les fibres nucléosomiques du noyau interphasique, obtenues par extraction, possèdent une structure en « collier de perles ». Chaque « perle » correspond à un

nucléosome (en forme de disque pour certains, de sphère ou de cylindre pour d'autres), d'un diamètre de 10 nm environ (fig. 4.3). Chaque nucléosome est constitué par un seul *cœur protéique* (*core*), formé par des histones H2A, H2B, H3, H4 (PM compris entre 11 et 21 kDa). Ces histones sont organisées en un octamère (4 paires, une paire par type d'histone).

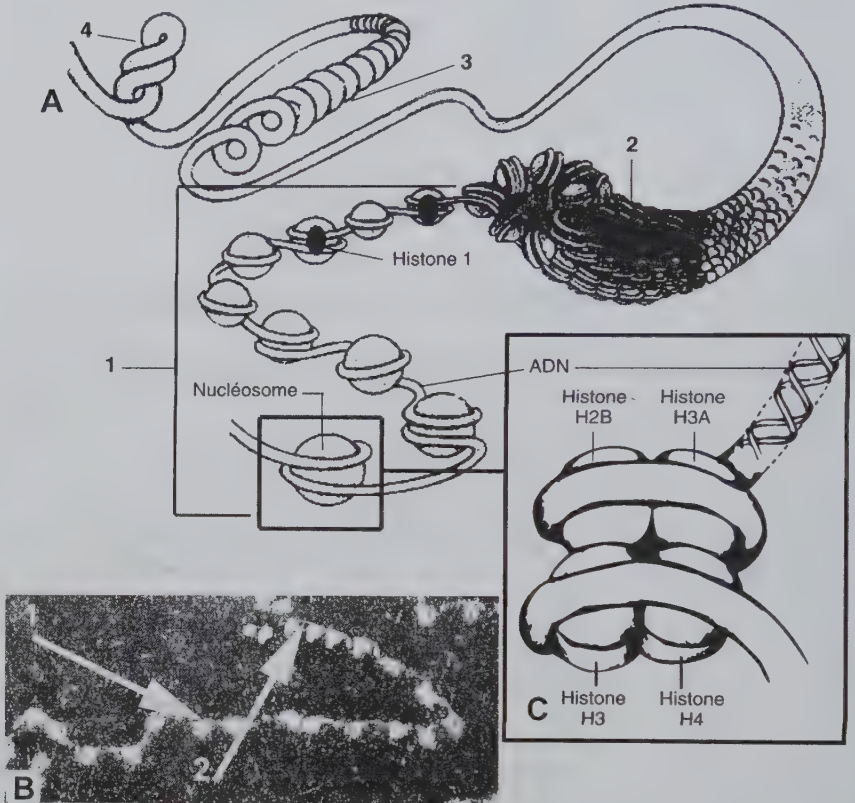
Fig 4.3

Fibre nucléosomique (d'après DELVIN).

A. 1. Fibre nucléosomique déspiralisée. 2. Spiratisation de premier ordre donnant une fibre d'un diamètre de 100 nm. 3. La fibre nucléosomique de 100 nm peut se spiratiser à nouveau (spiratisation de deuxième ordre) : le diamètre est alors de 300 nm. 4. Une spiratisation de troisième ordre forme des fibres de 600 nm de diamètre.

B. Photomicrographie en microscopie électronique d'une fibre nucléosomique. 1. Nucléosome. 2. Molécule d'ADN entre deux nucléosomes.

C. Nucléosome constitué de huit molécules d'histones (octamères).

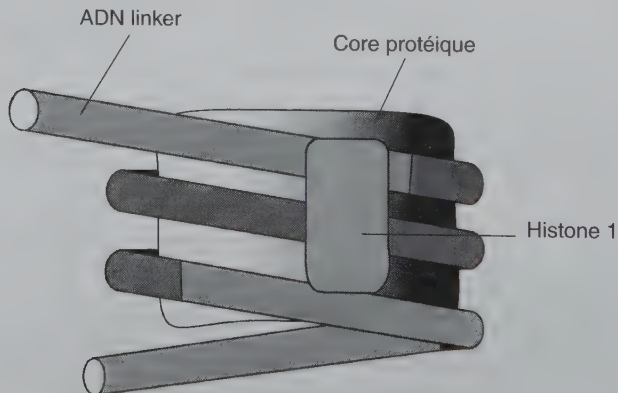


Une histone H1 (fig. 4.4), extranucléosomique, contrôle le degré d'enroulement ou de condensation du filament de chromatine. Lorsque les nucléosomes sont distants les uns des autres, la fibre chromatinienne a un diamètre de 10 nm.

Fig 4.4

Le nucléosome.

Le core du nucléosome a une forme aplatie. Il contient les histones H2A, H2B, H3 et H4. L'ADN qui est directement en contact avec le core est représenté en gris foncé.



L'ADN compris entre deux nucléosomes (ADN Linker) d'une longueur de 14 nm et d'un diamètre de 3 nm, contient en moyenne 40 paires de bases. Il s'enroule en hélice autour du cœur protéique : la longueur de l'ADN enroulé correspond à 140 paires de bases complémentaires.

■ Localisation

Les nucléosomes occupent, sur une molécule donnée d'ADN, le même lieu, dans les mêmes conditions physiologiques. Ce positionnement précis est démontré par l'étude du gène de l'ARNr 5 S qui possède un seul nucléosome. Un ADNr 5 S dépourvu de nucléosome est ajouté, *in vitro*, à une solution contenant les quatre histones nucléosomiques. Le nucléosome se fixe sur le même emplacement que celui occupé par le nucléosome *in vivo*.

Ceci peut s'expliquer par le fait que, dans un enroulement autour des nucléosomes, le petit sillon de l'ADN subit des contraintes très importantes. La présence de paires de bases A-T rend la compression du petit sillon plus facile. De plus, d'autres protéines fortement liées influencent le positionnement des nucléosomes.

■ Les divers degrés de spiralisation

L'histone H1 peut imposer à la fibre nucléosomique un « empilement des nucléosomes ». Dans cette forme condensée, la fibre a un diamètre de 30 nm.

Cette forme peut se spiraliser. La fibre nucléosomique constitue des *solénoïdes* rendus solidaires par les histones H1. H1 est alors située sur la face interne du solénoïde. Le diamètre est de 100 nm environ.

Ce nucléofilament peut s'enrouler sur lui-même et former des filaments de 300 nm de diamètre. Enfin la superspiralisation de ces filaments constitue des nucléofilaments de 600 nm.

■ Les sites dépourvus de nucléosomes

L'absence de nucléosomes peut intéresser des longueurs atteignant plusieurs centaines de nucléotides. De telles régions sont très sensibles à l'action de la désoxyribonucléase, qui les hydrolyse et découpe la fibre nucléosomique en de nombreux fragments. Ces sites sont occupés par les régions de régulation des gènes.

■ Dynamique de la fibre nucléosomique

L'enroulement de l'ADN autour des nucléosomes n'empêche pas sa transcription. Mais les cofacteurs généraux des ARN polymérases (complexes TF) ne peuvent pas s'associer au promoteur lorsqu'il est situé autour d'un nucléosome. La fixation d'un facteur de transcription sur une séquence régulatrice libère le promoteur du nucléosome.

Juste avant la transcription, la structure de la fibre chromatinienne se modifie. Le gène qui doit être transcrit se déroule, les histones H1 se détachent temporairement, le temps de la transcription. La fibre chromatinienne est localement décondensée. Cette décondensation s'effectue grâce aux protéines HMG (high-mobility group; groupe de haute mobilité).

Les parties qui restent liées aux nucléosomes sont transcrites. Il se produit à ce moment une modification de charge des histones, liée à une acétylation. Un radical

acétyl se fixe sur la lysine : la charge de la lysine modifiée libère un peu l'ADN par rapport à chacune des histones.

Par contre la condensation des fibres nucléosomiques dans l'hétérochromatine rend les régions régulatrices inaccessibles aux facteurs de transcription. La condensation de la chromatine ne serait pas seule responsable de cette inaccessibilité. Il semblerait que les régions d'hétérochromatine contiennent des protéines susceptibles d'inhiber les facteurs de transcription.

■ Les fibres nucléosomiques constituent le génome nucléaire

Les fibres nucléosomiques constituent, dans l'espèce humaine, les 23 paires de chromosomes, 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes (chromosomes sexuels : XX chez la femme, XY chez l'Homme). Chacune de ces fibres (chromosomes) possède les mêmes régions spécialisées qui correspondent :

- à plusieurs *origines de réplication* : la réplication ne peut se produire que si la molécule possède une séquence nucléotidique particulière, qui indique le point de départ de la réplication; étant donné la longueur de la molécule d'ADN de chaque chromosome, il existe plusieurs origines de la réplication, afin que la duplication se déroule plus rapidement;
- au *centromère*, qui assure l'association des deux chromatides (deux fibres nucléosomiques) depuis la fin de la duplication jusqu'au début de l'anaphase, moment où se séparent les chromatides sœurs; pendant la mitose, le centromère s'attache au fuseau par l'intermédiaire d'un complexe protéique, le *kinétochore*;
- à deux *télomères*, régions spécialisées de chacune des extrémités d'un chromosome, qui contiennent des séquences spécifiques dites *séquences télomériques*; il a été récemment démontré que l'extrémité des fibres nucléosomiques est monocaténaire. C'est par ces extrémités que les molécules d'ADN s'ancrent dans la lamina.

L'hétérochromatine

L'hétérochromatine est l'ensemble des segments de chromosomes qui restent condensés pendant l'interphase, donc de fractions d'ADN dites inactives, car non transcrites. Elle a la superstructure solénoïde. Elle est très riche en histones H1. Elle existe sous deux formes, la forme constitutive et la forme facultative. Elle correspond à 80-90 % de l'ADN nucléaire.

■ L'hétérochromatine constitutive

Elle est constituée par des séquences d'ADN qui ne sont jamais transcrites. Elle existe autour des centromères.

Elle représente aussi des segments identiques de chromosomes homologues conservant un aspect condensé pendant tout le cycle cellulaire (par exemple le bras long du chromosome Y).

■ L'hétérochromatine facultative

L'inactivation complète d'un segment chromosomique ne s'accompagne pas d'une altération de la structure génique. Les gènes réprimés diffèrent d'un type cellulaire à un autre : ce ne sont donc pas les mêmes gènes qui s'expriment d'un type cellulaire à un autre. Un tel mécanisme explique la différenciation cellulaire. Par

exemple, les gènes de la *cytokératine* sont réprimés dans les fibroblastes, ceux de la *vimentine* sont réprimés dans les kératinocytes.

L'euchromatine

L'euchromatine n'est pas visible en microscopie optique puisqu'elle est constituée par les fibres chromatiniques non spiralisées ou dés spiralisées. Ces fibres sont actives génétiquement. Elles correspondent à des molécules d'ADN en cours de réplication ou de transcription. De telles régions, formées d'ADN, sont le lieu de transcription de l'ARNm, de l'ARNt et d'un seul ARNr, l'ARNr 5 S. La synthèse de l'ARNm et de l'ARNt peut s'effectuer en passant sur les nucléosomes. Sous l'action de l'ARN polymérase, qui permet la synthèse de l'ARN à partir de l'ADN, l'ADN se débobine partiellement de l'octamère d'histones sans se libérer complètement. 1 à 5 % de l'ARN synthétisé donne de l'ARNm, 15 % de l'ARNt et 80 % de l'ARNr.

Les espaces interchromatiniens sont le lieu de passage des divers ARN vers la membrane nucléaire. Ils contiennent également les corps nucléaires (NBs : nuclear bodies).

La chromatine est constituée par des fibres nucléosomiques dont le degré de spiralisation est variable (fibres hyperspiralisées dans l'hétérochromatine, dés spiralisées dans l'euchromatine). Les nucléosomes (histones H2A, H2B, H3, H4) sont toujours localisés à la même place sur une molécule donnée d'ADN. Les régions régulatrices sont accessibles facilement : elles sont situées dans des régions dépourvues de nucléosomes. Par contre, le promoteur, lorsqu'il est au contact d'un nucléosome, ne peut s'associer aux complexes TF d'initiation de la transcription et à l'ARN polymérase. Les facteurs de transcription qui interagissent avec les régions régulatrices libèrent le promoteur du nucléosome.

L'ADN nucléaire

■ L'ADN nucléaire fait partie des acides nucléiques qui demeurent pendant toute l'interphase dans le noyau, tandis que d'autres acides nucléiques, les ARNm, ARNr, ARNt, intranucléaires : immédiatement après leur synthèse, deviennent rapidement cytoplasmiques après s'être combinés à des protéines. Les acides nucléiques sont des polymères d'unités appelées mononucléotides. Ces mononucléotides, plus ou moins modifiés, jouent aussi un rôle important dans le métabolisme intermédiaire, comme l'ATP qui stocke l'énergie, les coenzymes (NAD⁺, NADP⁺, FAD, etc.), le coenzyme A pour la synthèse de polysides [rôle de l'UDP-glucose (UDP : uridine diphosphate) dans la synthèse du glycogène ou du CDP-choline (CDP : cytidine diphosphate) dans la synthèse de la phosphatidylcholine], l'AMP cyclique qui intervient comme second messager, en relais de l'action hormonale.

L'ADN nucléaire contient le patrimoine génétique.

L'ADN est une macromolécule parfois très longue, un polymère de nucléotides, constituée de deux chaînes hélicoïdales antiparallèles, indispensable à la vie cellulaire, puisqu'elle contient les informations (transmises de génération en génération) nécessaires à la synthèse des protéines structurales et enzymatiques.

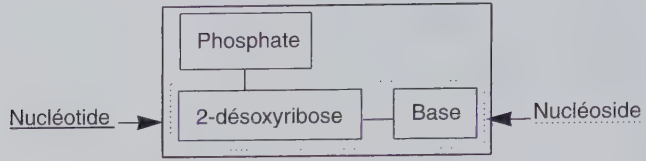
Les nucléotides, monomères de l'ADN

Les mononucléotides, monomères de l'ADN, sont des désoxyribonucléotides. Ils sont formés par la combinaison, en quantité équimoléculaire, du phosphate, d'un pentose (le 2-désoxy-D-ribose) et d'une base azotée à noyau cyclique purique (adénine, guanine) ou pyrimidique (cytosine, thymine) désignée par une des lettres A, G, C, T.

■ Structure de base

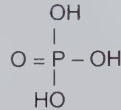
Les nucléosides sont formés par la combinaison du 2-désoxy-D-ribose avec une base purique ou pyrimidique. Les quatre nucléosides de l'ADN sont l'adénosine, la thymidine, la cytidine et la guanosine.

Un mononucléotide de l'ADN est formé par l'union d'un nucléoside et d'un phosphate. Il répond à la formule générale :

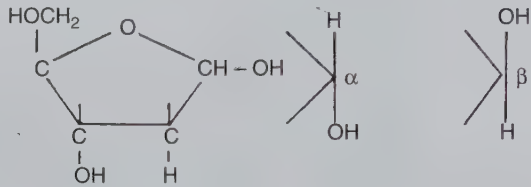


■ Constituants

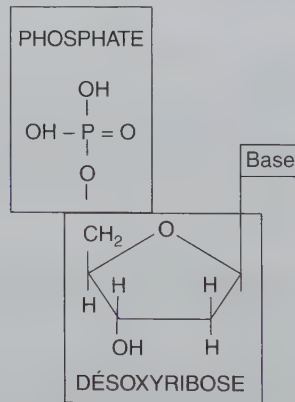
L'acide orthophosphorique H_3PO_4 a trois fonctions acides :



Le 2-désoxy-D-ribose répond à la formule :



Ces désoxyribonucléotides répondent tous à la formule générale :



Quatre désoxyribonucléotides, l'acide adénylique, thymidylique, cytidylique et guanylique sont la base de la molécule d'ADN.

Structure primaire de la molécule d'ADN

Chaque brin d'ADN (chaîne ou molécule monocaténaire) est formé par l'association de désoxyribonucléotides unis les uns aux autres par des liaisons entre le

phosphate et le désoxyribose de chacun des deux nucléotides voisins. Cette liaison phosphate réunit le carbone 3' d'un désoxyribose au carbone 5' d'un désoxyribose adjacent (liaison 3'-5' phosphodiester).

Une base purique, ou pyrimidique, se fixe latéralement sur le carbone 1 de chaque désoxyribose. Le nombre de désoxyribonucléotides peut atteindre 10^4 à 10^5 pour un brin.

La molécule d'ADN est une *molécule bicaténaire* constituée par l'association de deux brins : ces brins sont unis l'un à l'autre par l'intermédiaire de liaisons hydrogène associant les bases puriques et pyrimidiques de chacune des deux chaînes. L'appariement entre les bases est exclusif. Cette exclusivité de l'appariement est la conséquence de la forme des molécules, qui doit être complémentaire (*complémentarité stérique*) pour qu'il y ait association. L'adénine a une forme complémentaire de celle de la thymine; la cytosine a une forme complémentaire de celle de la guanine ($A=T$, $C=G$).

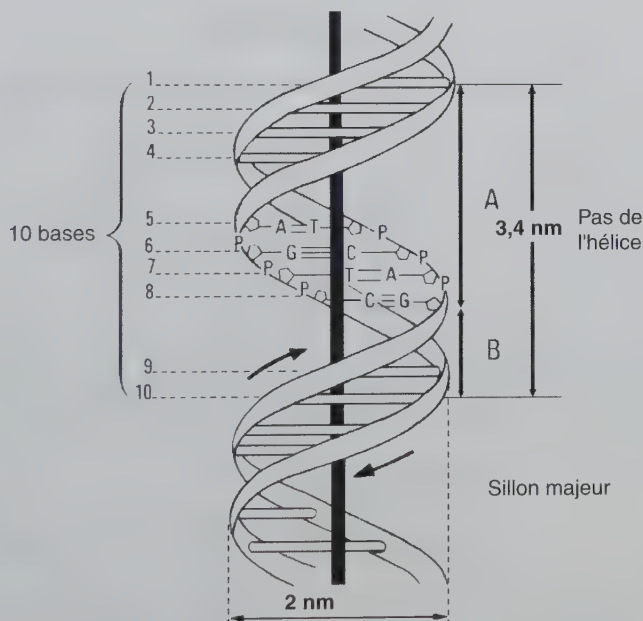
Une molécule d'ADN, dont chacun des brins serait rectiligne, aurait la forme d'une échelle dont les montants sont faits par la succession 3' sucre 5' PO_4 3' sucre 5' PO_4 3' sucre 5' et les barreaux par l'union sucre-base/base-sucre.

Structure tridimensionnelle de la molécule d'ADN

La molécule d'ADN est formée de deux brins hélicoïdaux antiparallèles, enroulés autour d'un axe commun : c'est une double hélice (fig. 4.5).

Fig. 4.5

Structure tertiaire de l'ADN. Les brins sont disposés en une double hélice qui présente deux dépressions (sillons) en spirale, l'une d'une longueur de 2,2 nm (A), l'autre de 1,2 nm (B).



Le pas de cette double hélice, d'une longueur de 3,4 nm, contient dix paires de désoxyribonucléotides distantes de 0,34 nm. Son diamètre extérieur est de 2 nm. Sa longueur est fonction de la nature de la cellule à laquelle elle appartient. L'ADN d'une bactérie *Escherichia coli* a 1 mm de long et contient 4×10^4 paires de désoxyribonucléotides, tandis que celui d'une cellule humaine haploïde (comme le spermatozoïde) en renferme 10^9 et aurait une longueur totale de 1 m si l'ADN des 23 paires de chromosomes était placé bout à bout.

Le terme d'antiparallèle s'explique de la manière suivante; la séquence d'un des brins est la suivante :

- phosphate (PO_4),
- carbone 3' du désoxyribose,
- carbone 5' du désoxyribose,
- phosphate, etc.

soit : $\text{PO}_4\ 3'\ 5'\ \text{PO}_4\ 3'\ 5'\ \text{PO}_4$, tandis que les séquences de l'autre brin sont disposées dans un ordre inverse, c'est-à-dire, $\text{PO}_4\ 5'\ 3'\ \text{PO}_4\ 5'\ 3'\ \text{PO}_4$.

■ Il existe plusieurs formes (isoformes) d'ADN dans les cellules eucaryotes :

- l'ADN A (ADN de forme A) : ADN à double hélice droite contenant des bases très inclinées et qui, de ce fait, constitue une hélice plus courte et plus large que l'ADN B; son pas est de 28,2 Å;
- l'ADN B (ADN de forme B) : ADN constitué par une double hélice droite, forme la plus fréquente et la plus stable; le pas de l'hélice est de 34 Å; elle contient 8 paires de bases par tour de spire;
- l'ADN C : sa forme est très voisine de celle de l'ADN B, mais le pas de l'hélice est de 33 Å et elle contient 9 paires de bases par tour de spire;
- l'ADN D : forme obtenue par synthèse, ne contenant pas de guanine et renfermant 8 paires de bases par tour de spire;
- l'ADN P : forme existant dans le virus Pfl; cette molécule est lévogyre et contient 3,62 bases par tour de spire;
- l'ADN Z (ADN de forme Z; Z : zigzag) : ADN à double hélice gauche, qui adopte une configuration en zigzag quand les bases puriques et pyrimidiques alternent sur le même brin; il existe dans les chromosomes d'Eucaryotes, mais sa fonction n'est pas encore connue.

Les différentes formes de l'ADN

L'ADN nucléaire peut revêtir des formes très différentes.

Les protéines associées

L'ADN s'associe d'une manière permanente à des histones avec lesquelles il constitue les fibres nucléosomiques.

Il s'associe par intermittence avec des protéines non histones, qui comprennent les protéines régulatrices de la transcription (les protéines à doigts de zinc, les protéines à Leu zipper — « fermeture éclair à leucine »), les protéines enzymatiques (ARN polymérases, ADN polymérases et primases), les lamines.

La réplication de l'ADN

La réplication est un mécanisme complexe, au cours duquel la quantité de matériel génétique cellulaire double. Elle se déroule pendant la phase S (phase de synthèse du cycle cellulaire), au moment de la préparation de la cellule à la mitose. Elle donne naissance à des molécules d'ADN absolument superposables aux molécules d'ADN existant auparavant. La réplication obéit à des règles rigoureuses.

■ Précision et rapidité

La réplication doit être précise et rapide. Chez les Mammifères, et en particulier chez l'Homme, la vitesse de polymérisation atteint 50 nucléotides par seconde et 500 nucléotides chez les Bactéries.

■ Brins matrices

Chacun des brins sert de matrice pour former un nouveau brin (fig. 4.6). Un tel mécanisme implique que :

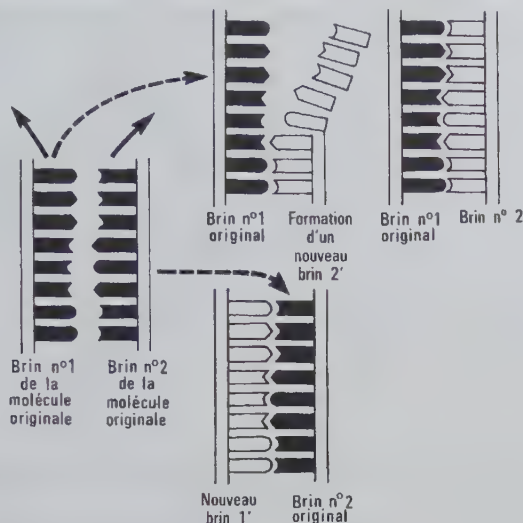
- les séquences nucléotidiques sont copiées par appariement de bases complémentaires (A avec T et G avec C) en une séquence complémentaire d'ADN;
- les deux chaînes de l'hélice d'ADN se séparent provisoirement, afin que les groupes donneur et accepteur de liaisons hydrogène sur chaque base deviennent exposés pour l'appariement.

■ La réplication est semi-conservative

Chacune des deux molécules formées par réplication contient une chaîne de la molécule d'ADN d'origine.

Fig. 4.6

Réplication de l'ADN. Le brin 1 forme un brin 2', copie exacte du brin 2. Le brin 2 forme un brin 1', copie exacte du brin 1.



Ainsi, à partir d'une molécule d'ADN constituée par deux chaînes désignées par 1 et 2, il se forme deux paires de chaînes 1-2' et 2-1', comprenant chacune une chaîne parentale (brin de la molécule originale) et une chaîne nouvellement synthétisée, dont la séquence en bases est identique à celle de la chaîne qu'elle remplace (fig. 4.6). 2 et 2' sont identiques, de même que 1 et 1'.

■ La réplication est orientée

La duplication s'effectue à partir du *point initiateur*. Chaque brin parental se sépare de l'autre dans la région où s'opérera la synthèse de deux nouveaux brins. Cette zone de séparation des brins porte le nom d'*œil de réplication* qui existe aussi bien chez les Procaryotes que chez les Eucaryotes. Les points de croissance ou de branchement correspondent aux zones situées de part et d'autre de l'œil de réplication et où se rejoignent les brins parentaux.

Au niveau de chaque point de croissance, les deux brins de l'ADN disposés en spirales se séparent l'un de l'autre (fig. 4.7 et 4.8). Cette région porte le nom de *fourche de réplication*. Les deux spires de l'ADN se déroulent à une vitesse supérieure à 10 000 spires par minute.

Fig. 4.7

ADN d'une bactérie et le début de sa réplication.

A. Le chromosome d'une bactérie a une forme plus ou moins circulaire (le mésosome n'est pas représenté).

B. Œil de réplication.

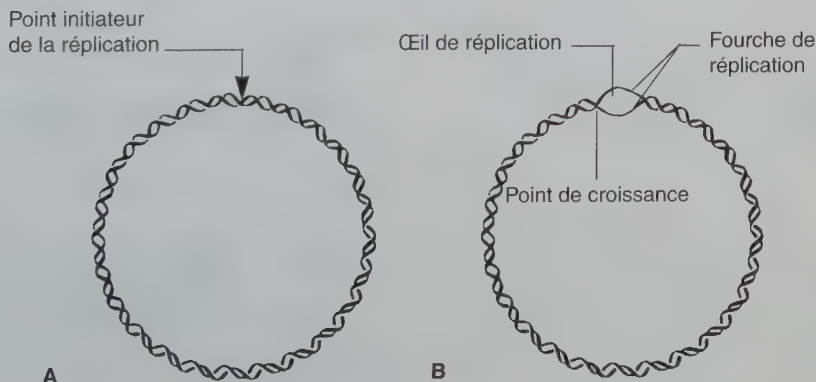
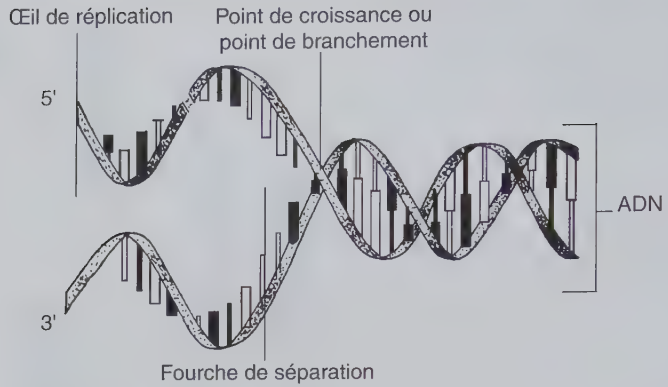


Fig. 4.8
Fourche de séparation.



■ La réplication est bidirectionnelle

Elle s'effectue dans les deux directions à partir du point d'initiation.

Réplication dans les cellules procaryotes

La réplication de l'ADN dans les cellules procaryotes et eucaryotes se fait selon un mécanisme pratiquement identique. Elle est cependant beaucoup plus complexe chez les Eucaryotes.

L'étude de la réplication de l'ADN chez *Escherichia coli* fournit un excellent modèle pour comprendre le mécanisme de la réplication dans les autres types cellulaires.

■ Origine de la réplication

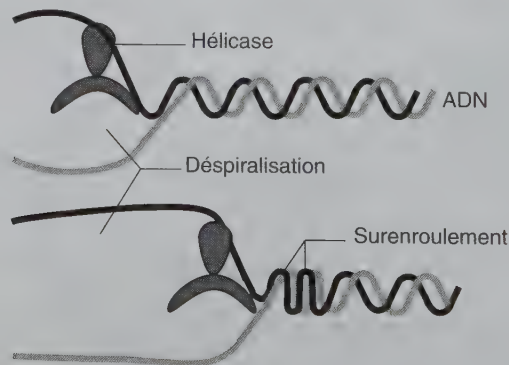
La réplication de l'ADN commence au niveau d'un site spécifique, le site oriC (origine de réplication chez *Escherichia coli*).

OriC est une séquence de 246 paires de bases qui contiennent 4 sites. Une protéine dnaA (dénommés ainsi en raison de son gène) s'associe à ces 4 sites et initie l'assemblage des protéines et des enzymes nécessaires à la réplication.

■ Formation de l'œil de réplication

La protéine dnaA ne peut se fixer sur l'ADN que si celui-ci est superenroulé négativement. dnaB (une hélicase, fig. 4.9) et dnaC s'associent à dnaA : ce complexe

Fig. 4.9
Action de l'hélicase. Cette enzyme déroule la molécule d'ADN, créant ainsi l'œil de réplication. En aval, il se produit un surenroulement.



protéique incurvé ouvre la double hélice. La protéine dnaB, une enzyme ATP-dépendante, catalyse le déroulement de la double hélice de l'ADN. Elle crée ainsi un œil de réplication de plusieurs centaines de nucléotides.

La portion déroulée est stabilisée, maintenue déroulée par les molécules SSB (single strand binding protein; protéine se liant à un seul brin). Les protéines SSB sont des tétramères de sous-unités de 19 kDa chacune. Elles se lient à l'ADN simple brin.

■ Sens de la lecture des deux brins d'ADN

Chacun des deux brins d'ADN situés au niveau de la fourche de réplication sert de matrice pour la synthèse d'une nouvelle molécule d'ADN. Les deux brins parentaux sont antiparallèles : l'un va dans le sens $5' \rightarrow 3'$ et l'autre dans le sens $3' \rightarrow 5'$ (fig. 4.10).

Les ADN polymérases ne synthétisent l'ADN que dans le sens $5' \rightarrow 3'$ (ce qui signifie que pour réaliser la synthèse d'un nouveau brin d'ADN, elles lisent la molécule d'ADN dans le sens $3' \rightarrow 5'$). La question se pose donc de savoir comment l'autre brin, c'est-à-dire le brin $3' \rightarrow 5'$, peut être traduit en une nouvelle molécule d'ADN.

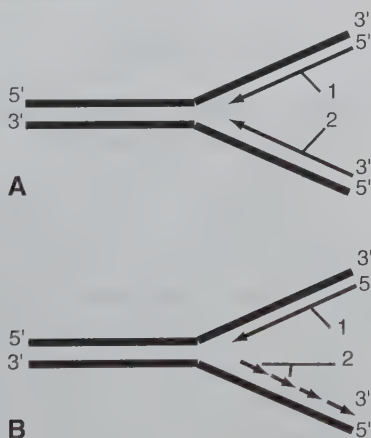
Cette question a été résolue par Okazaki : il a démontré que la fraction $3' \rightarrow 5'$ d'ADN est répliquée de façon continue (ce brin d'ADN ainsi néosynthétisé porte le nom de brin avancé ou de brin direct), alors que la fraction d'ADN $5' \rightarrow 3'$ est répliquée de telle manière qu'il se forme dans un premier temps de courts segments d'ADN néosynthétisés appelés fragments d'Okazaki (fig. 4.10). Les fragments sont réunis les uns aux autres par une ligase (fig. 4.10A). Cet assemblage discontinu du brin retardé permet la polymérisation $5' \rightarrow 3'$, la croissance d'ensemble, au niveau nucléotidique se faisant dans le sens $3' \rightarrow 5'$.

Fig 4.10

Fourche de réplication et sens de lecture des brins d'ADN. Sens de lecture en direction de la naissance de la fourche sur les deux brins d'ADN.

A. La réplication du brin $5' \rightarrow 3'$ telle qu'elle est indiquée sur ce schéma est impossible puisque la lecture par l'ADN polymérase ne peut se faire que dans le sens $3' \rightarrow 5'$. 1. Brin direct ou avancé. 2. Lecture impossible.

B. La lecture du brin $5' \rightarrow 3'$ se fait d'une manière discontinue par segment d'ADN, ce qui aboutit à la formation des fragments d'Okazaki. 1. Brin direct. 2. Fragment d'Okazaki.



■ La réplication est impossible sans une amorce d'ARN

L'ADN exposé ne peut être impliqué que si une amorce est synthétisée. Les ADN polymérases ne peuvent synthétiser d'ADN qu'à partir d'une amorce possédant à son extrémité $3'$ libre un groupe OH (fig. 4.11).

Une protéine *dnaG* ou primase, une ARN polymérase spécialisée, se joint au complexe formé par les molécules *dnaA*, *dnaB*, *dnaC* pour constituer un ensemble, le *primosome*.

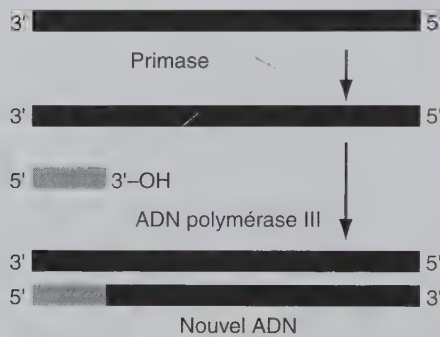
Le *primosome* assume la formation de l'amorce d'ARN. La formation des amorces précède la réplication : elle est effective dès l'ouverture de l'œil de réplication.

La primase du *primosome* synthétise un segment d'ARN comptant au maximum 5 nucléotides complémentaires. Les ARN polymérases n'examinent jamais la paire de bases précédentes : elles peuvent donc commencer la synthèse d'une courte molécule d'ARN. Dès que ce segment d'ARN est synthétisé, l'ADN polymérase I commence la synthèse d'une nouvelle molécule d'ADN puisqu'elle reconnaît le groupe 3'-OH situé à l'extrémité d'une amorce. Elle commence la lecture de la chaîne d'ADN en direction du point de croissance de la fourche et assemble des nucléotides en une nouvelle chaîne du brin matriciel. L'amorce d'ARN est éliminée lorsque la réplication est terminée : c'est l'activité exonucléasique 5' → 3' de l'ADN polymérase qui permet l'élimination de l'amorce.

Fig 4.11

Réplication d'ADN.

Un court segment d'ARN est synthétisé par *dnaG* (primase). L'ADN polymérase peut alors effectuer la réplication de l'ADN puisqu'elle dispose d'une extrémité 3'-OH. L'amorce d'ARN (en grisé) est ensuite éliminée par activité enzymatique de l'ADN polymérase I.



■ La synthèse simultanée du brin fils avancé (ou directe) et du brin fils retardé

Les enzymes de réplication sont l'ADN polymérase I et l'ADN polymérase III. L'ADN polymérase I est capable de synthétiser un brin d'ADN à partir de la matrice en ajoutant 10 nucléotides par seconde. L'ADN polymérase III pendant le même temps peut ajouter environ 1 000 nucléotides au brin d'ADN.

L'ADN polymérase III est un dimère asymétrique. Elle a la particularité de répliquer les deux brins parentaux en même temps et dans le même endroit. Comme le brin avancé et le brin retardé sont synthétisés d'une manière très différente, il est évident que cette molécule est asymétrique.

Elle possède une sous-unité β_2 (fig. 4.12) associée à une branche qui renferme une sous-unité α et une sous-unité ϵ . La sous-unité α est la polymérase, la sous-unité ϵ est l'exonucléase 3' → 5'. La sous-unité β_2 est un anneau dont l'orifice central de 35 Å de diamètre permet le passage d'une molécule d'ADN double brin. Au cours de la réplication, la molécule d'ADN glisse à l'intérieur de cet anneau.

La synthèse du brin avancé

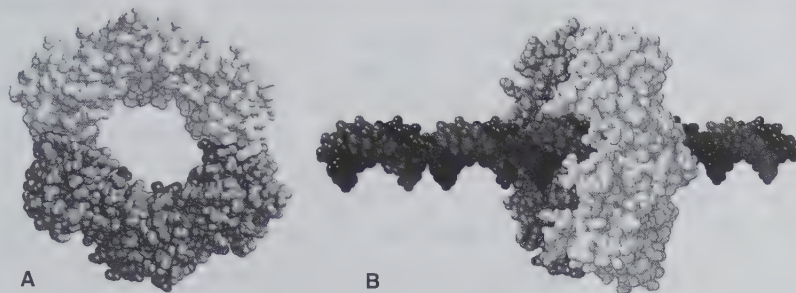
L'ADN polymérase III se place au niveau de la fourche de réplication (fig. 4.13).

Fig 4.12

ADN polymérase III.

A. Forme de la sous-unité β_2 de l'ADN polymérase. Les autres sous-unités ne sont pas représentées.

B. ADN en double hélice dans l'orifice de la sous-unité β_2 . (dessin de L. STRYER, in : *La Biochimie*, Flammarion Médecine-Science).



L'amorce d'ARN mise en place par la primase permet à la polymérase III de commencer la synthèse du brin avancé.

L'hélicase, qui précède la polymérase, déroule l'ADN double brin. Mais en se déroulant, il se produit, en aval de la fourche de réplication un superenroulement de l'ADN qui risque d'entraîner des ruptures de cette molécule. L'ADN gyrase agit sur le superenroulement provoqué par l'hélicase en coupant les chaînes superenroulées situées en aval de la fourche de réplication et en les ressoudant pendant la progression de l'hélicase.

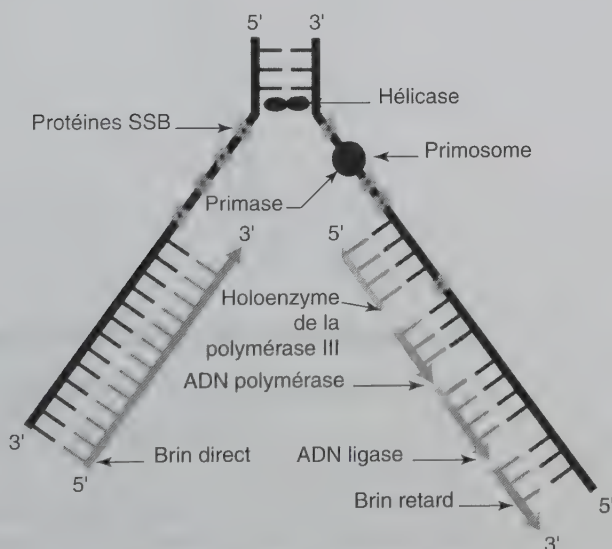
Les protéines SSB maintiennent l'ADN déroulé : chacun des deux brins peut donc servir de matrice.

Le brin direct est synthétisé en une seule fois. L'ADN polymérase III se détache de la matrice lorsque la synthèse est achevée.

Fig. 4.13

Fourche de réplication.

Synthèse du brin direct et du brin retardé : la primase, l'holoenzyme de l'ADN polymérase III, l'ADN polymérase I et la ligase interviennent dans l'initiation, l'élongation et la ligature des fragments d'ADN (fragments d'Okazaki). Les amorces d'ARN sont représentées en gris clair.



La synthèse du brin retardé

La lecture du brin orienté dans le sens $5' \rightarrow 3'$ ne peut se faire que dans le sens $3' \rightarrow 5'$. Ceci ne peut s'expliquer que par la formation d'une boucle (fig. 4.14). Ainsi on peut supposer que la matrice du brin retardé passerait dans la polymérase dimérique dans le même sens que le brin direct. La lecture du brin retardé se ferait

à partir d'une succession de boucles contenant un nombre limité de bases (environ une centaine). Pour la réplication de l'ADN à partir de chaque boucle, une primase synthétise une amorce d'ARN, l'ADN polymérase réplique une centaine de nucléotides. L'ADN polymérase III abandonne alors le brin retardé. Une nouvelle boucle se forme, la primase synthétise une nouvelle amorce d'ARN, l'ADN polymérase réplique encore une centaine de nucléotides, etc.. Ce mécanisme se poursuit jusqu'à ce que la totalité de la matrice du brin retardé soit lue. Il s'est formé toute une succession de fragments d'ADN qui portent le nom de *fragments d'Okazaki*.

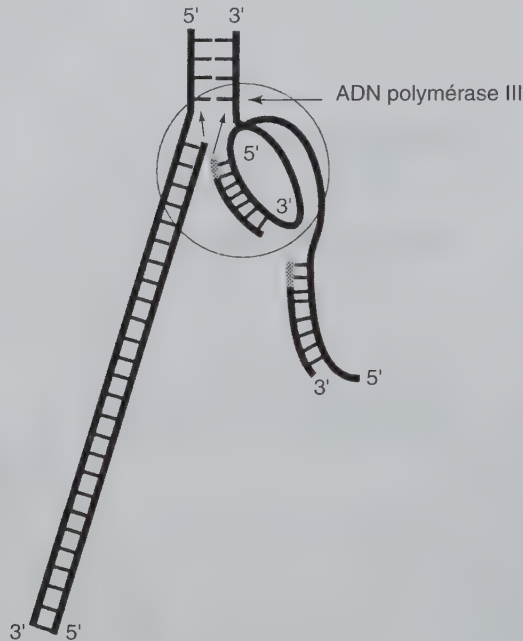
La fin de la synthèse du brin retardé se fait grâce à l'activité de :

- l'ADN polymérase I : elle peut alors lire l'ADN du brin retardé dans le sens $3' \rightarrow 5'$; cette enzyme possède une activité exonucléasique $5' \rightarrow 3'$: elle élimine les amorces d'ARN;
- la ligase qui réunit les fragments les uns aux autres.

Fig 4.14

Lecture de la matrice du brin retardé par l'ADN polymérase III.

Afin que l'ADN polymérase III puisse lire la matrice du brin retardé dans le sens $3' \rightarrow 5'$, la matrice décrit une boucle de telle sorte que l'enzyme peut effectuer la lecture d'un segment de l'ADN dans le sens $3' \rightarrow 5'$. C'est ainsi que se forment les différents segments ou fragments d'Okazaki qui seront ensuite réunis par l'activité de l'ADN polymérase I.



Réplication dans les cellules eucaryotes

■ La séquence autonome de réplication

Dans les cellules eucaryotes, la réplication est également semi-conservative, bidirectionnelle, orientée.

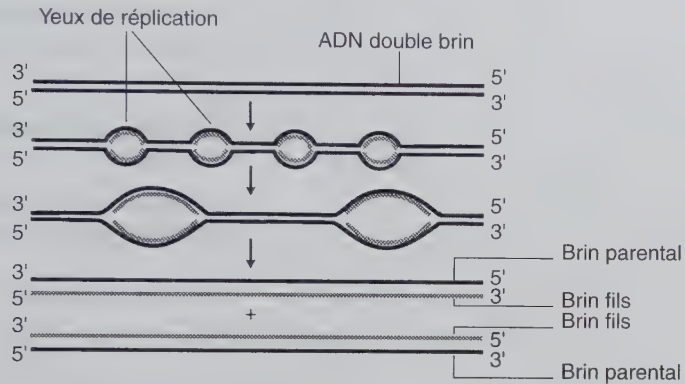
Chez les Eucaryotes, le site origine de réplication porte le nom de *séquence autonome de réplication* ou ARS (autonomous replication sequence). C'est une séquence consensus de 11 pb. De telles séquences insérées dans les plasmides bactériens leur permettent de se répliquer d'une manière autonome.

Un *complexe de reconnaissance de l'origine* est constitué par un ensemble de 8 protéines de 250 kDa.

Il existe sur un ADN linéaire d'une cellule eucaryote un très grand nombre d'ARS. Au moment de la réplication, il se formera donc une multiplicité de fourches de réplication sur un même chromosome (fig. 4.15). Il est facile de calculer le nombre

de fourches de réplication sur un chromosome. Il suffit de savoir que, sur un chromosome de *Drosophile*, la fourche de réplication se déplace à une vitesse de 2,6 kb par minute. Pour répliquer complètement ce chromosome, avec une seule fourche de réplication, il faudrait environ 16 jours. Or le temps de réplication est de trois minutes. Il existe donc en fait plus de 6 000 fourches de réplication.

Fig. 4.15
Multiplicité des yeux de
réplication chez les Eucaryotes.



■ Les diverses ADN polymérases

Les cellules eucaryotes contiennent 5 ADN polymérases (4 ADN polymérases nucléaires et une mitochondriale) :

- l'ADN polymérase α (250 kDa) intervient dans la synthèse du brin précoce;
- l'ADN polymérase β (39 kDa) intervient dans la réparation de l'ADN nucléaire;
- l'ADN polymérase γ intervient dans la réplication de l'ADN mitochondrial;
- l'ADN polymérase δ intervient dans la réplication de l'ADN nucléaire;
- l'ADN polymérase ϵ intervient dans la réparation de l'ADN nucléaire.

Ces ADN polymérases lisent les brins d'ADN dans le même sens que chez les Procaryotes, c'est-à-dire dans le sens $3' \rightarrow 5'$.

La réplication est conditionnée par la présence d'une amorce. La synthèse discontinue du brin retardé est catalysée par l'ADN polymérase α . Une primase est associée au complexe α . Elle permet de synthétiser des fragments d'ARN qui serviront d'amorces et qui, après utilisation, seront éliminés. La synthèse du brin direct dépend de l'ADN polymérase δ .

Les polymérases δ , ϵ et γ possèdent une activité exonucléasique $3' \rightarrow 5'$ douée de capacités d'édition.

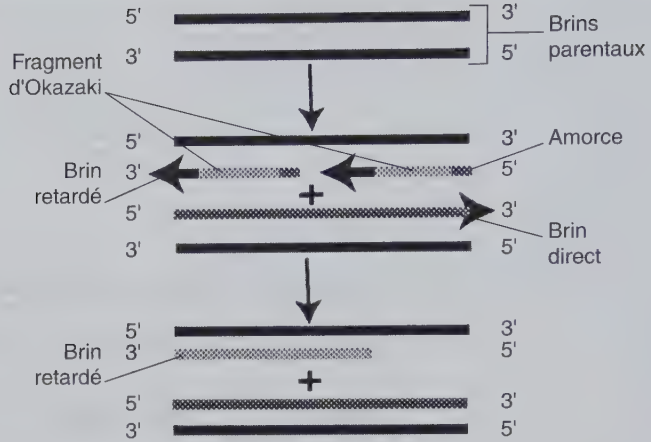
■ La réplication des télomères

L'extrémité des chromosomes porte le nom de télomère. L'ADN télomérique est constitué par la répétition de séquence de 6 nucléotides (séquence hexanucléotidique) chez l'Homme. Elle est constituée par la succession d'une molécule d'adénine, de trois molécules de guanine et de deux molécules de thymine soit AGGGTT.

La réplication de l'ADN linéaire raccourcit le bras retardé : en effet, à chaque réplication, l'amorce d'ARN qui est complémentaire de l'extrémité $3'$ du brin parental est éliminée et ne peut pas être remplacée par l'activité de l'ADN polymérase. Un tel mécanisme raccourcit le brin retardé c'est-à-dire l'extrémité $5'$ qui est adjacente de l'extrémité $3'$ (fig. 4.16.). S'il n'existait pas un mécanisme correcteur, les molécules filles deviendraient de plus en plus petites au fur et à mesure des cycles de réplication.

Fig 4.16

Chez les Eucaryotes, la formation des amorces pour la synthèse du brin retardé aboutit à un raccourcissement de ce brin (en l'absence d'un mécanisme compensateur).



Une enzyme, la télomérase, intervient pour ajouter des nucléotides à l'extrémité 5' du brin nouvellement synthétisé. La télomérase est une transcriptase inverse qui porte une matrice de nature nucléotidique (fig. 4.17). Chez l'Homme, la télomérase reconnaît GGTT et l'allonge pour former GGTTAGGGTT.

Elle se lie à l'extrémité 3' de l'ADN télomérique. Des nucléotides de cette extrémité libre (puisque la molécule d'ARN amorce a été éliminée) forment des paires de bases avec l'ARN matriciel de la télomérase. L'extrémité 3' est ainsi allongée.

Or c'est l'extrémité 5' qui doit être allongée. Le mécanisme est mal connu. On pense que le brin direct, qui se termine par un groupe G-OH libre, forme une boucle dont l'extrémité se placerait au voisinage de l'extrémité 5'. L'extrémité libre G-OH servirait alors d'amorce pour la synthèse du brin complémentaire qui s'associerait à l'extrémité 5'. On pense que la polymérase α , avec la sous-unité primase, interviendrait dans l'achèvement de la synthèse des télomère.

Réparation de l'ADN

Plusieurs mécanismes rectifient les erreurs de réplication de l'ADN.

■ Pendant la phase S

Rôle de l'ADN polymérase

Des erreurs, peu fréquentes certes, mais suffisantes pour provoquer une mutation nocive, se produisent au cours de la réplication. *In vitro*, chez *E. coli*, les ADN polymérases introduisent une base incorrecte sur 10 000 bases.

L'ADN polymérase a la possibilité de détecter les bases anormales de l'ADN, sur épreuve, pendant la phase S, de les exciser grâce à son activité exonucléasique et de les remplacer.

Rôle de MutL et MutS (Mut : mutator; mutation)

Le mésappariement entre des bases normales, mais non complémentaires, provoque la formation d'une protubérance dirigée vers l'extérieur de l'hélice (fig. 4.18). Cette protubérance est détectée pendant la phase S par une protéine MutS (qui existe aussi bien dans les cellules eucaryotes que procaryotes), tandis qu'une autre protéine MutL recherche une zone d'interruption sur la région voisine de l'ADN

■ Dans **MutL** et **MutS** ou **mutL** et **mutS** (les gènes qui codent pour ces protéines), la lettre L ou S permet de distinguer les différents gènes de la famille « mutator ».

Fig 4.17

Télomérase.

Synthèse d'une amorce constituée par une séquence riche en guanine à l'extrémité 3' du brin avancé.

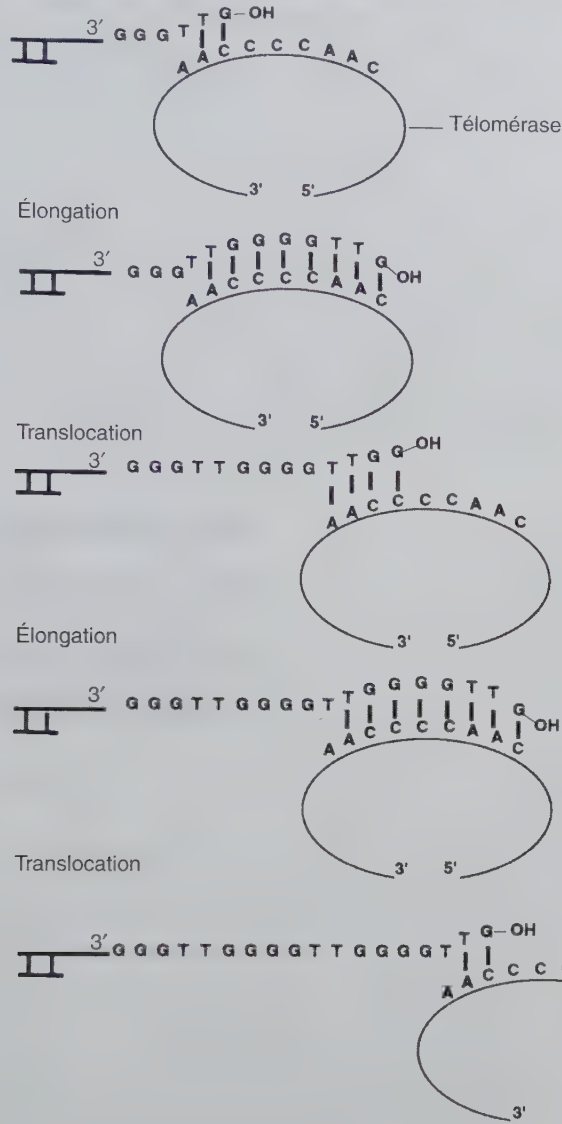


Fig. 4.18

Correction sur épreuves des mésappariements.

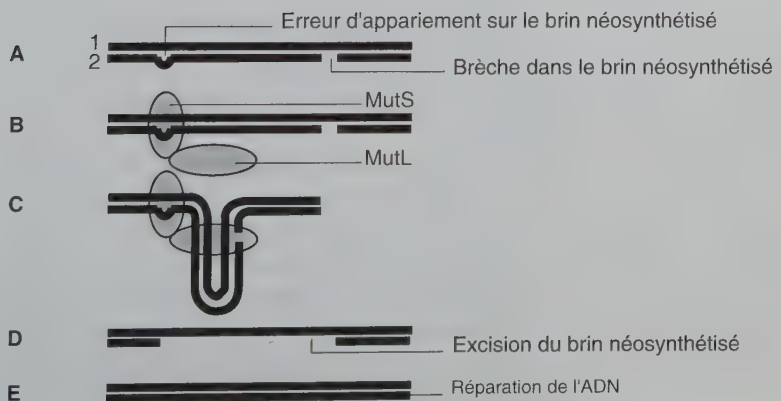
A. 1. Brin matriciel; 2. Brin néosynthétisé (mésappariement et brèche).

B. Deux protéines (MutS et MutL) interviennent dans la correction sur épreuves.

C. MutS repère les mésappariements, MutL les brèches.

D. Les anomalies étant repérées, le brin néosynthétisé est excisé.

E. Le brin est réparé.



néosynthétisé. S'il existe une zone d'interruption, MutL excise le brin au niveau du mésappariement, de telle sorte que le segment compris entre la zone d'interruption et le site de mésappariement est éliminé. L'ADN polymérase recommence la synthèse du segment éliminé.

■ En dehors de la phase S

En dehors de la phase S, une nucléase de réparation de l'ADN reconnaît la partie modifiée de la chaîne d'ADN endommagée (fig. 4.19). Elle élimine le nucléotide endommagé, en hydrolysant les liaisons phosphodiester qui les unissent au reste de la molécule. La chaîne d'ADN est interrompue au niveau du nucléotide éliminé.

Une ADN polymérase comble cette interruption immédiatement, en fabriquant une copie complémentaire de la chaîne matrice. Une ligase répare la zone de rupture en soudant l'un à l'autre les deux segments de la chaîne interrompue.

Fig. 4.19

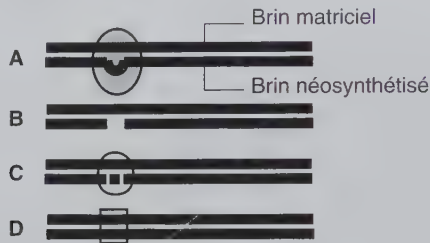
Schéma général du mécanisme de correction (en dehors de la phase S).

A. Reconnaissance et élimination de la lésion par une endonucléase.

B. La lésion a été « excisée ».

C. Une ADN polymérase comble l'interruption en mettant en place une base complémentaire.

D. Une ligase soude la base aux extrémités des deux fragments d'ADN.



Réparation sans excision

Dans l'épiderme, des enzymes, les *photolyases* (enzymes dont l'énergie est fournie par des photons), interviennent directement sur les lésions, sans exciser les bases ou le désoxyribose.

Excision-réparation de bases

Une série d'ADN glycosylases intervient dans ce mode de réparation. Chaque ADN glycosylase reconnaît une base altérée. Ces altérations comprennent des bases oxydées ou alkylées, des bases dont le cycle est ouvert, des cytosines désaminées, des adénines désaminées. Une ADN glycosylase élimine la base non conforme (excision), qu'il s'agisse d'une base purique ou pyrimidique : le site de l'ADN ainsi modifié devient un site AP (site apurique-apyrimidique). Le brin d'ADN est interrompu au niveau de l'excision. Il est alors constitué par deux segments. Ce mécanisme de correction pendant la phase S porte le nom de correction sur éprouves.

Une *AP-endonucléase*, qui appartient à un complexe enzymatique, élimine, par hydrolyse de la liaison phosphodiester, le désoxyribose qui était lié à la base précédemment excisée.

Une ADN polymérase (différente de celle intervenant dans la duplication) associe un nucléotide de forme complémentaire de celle du nucléotide qui était associé au nucléotide excisé.

Les deux segments du brin d'ADN sont reliés l'un à l'autre par l'action d'une ligase qui rétablit la continuité.

Excision-réparation d'un oligonucléotide

Un oligonucléotide, constitué d'une dizaine de nucléotides anormaux ou lésés, est éliminé par une excinuclease contenue dans un complexe enzymatique.

Une ADN polymérase, par complémentarité du brin matrice, remplace les nucléotides éliminés.

Une ligase rétablit la continuité du brin.

Le signal Sos

Une lésion importante de l'ADN peut provoquer un blocage de la réplication. Ce blocage induit la formation d'un signal. Ce signal active une protéine RecA (Rec : recombinaison), qui détruit un répresseur dont l'activité normale est de réprimer les gènes de la réponse SOS (les gènes de la réponse SOS codent des protéines de réparation de l'ADN). Le système de réparation de l'ADN est ainsi activé.

Les gènes

Un gène correspond à une partie de la molécule d'ADN qui est transcrite en ARN : sa transcription dépend d'une région de contrôle génique qui comprend le *promoteur* et des séquences régulatrices parfois très éloignées (50 kb) (certains auteurs placent, dans le gène, les séquences d'ADN qui contrôlent le fonctionnement de la transcription).

■ Structure

Les gènes de classe II, qui codent les protéines, contiennent des *introns* qui séparent des *exons* (fig. 4.20). Seuls les exons, raboutés après excision des introns lors de l'épissage, se retrouvent dans l'ARNm.

Le gène débute par un *site d'initiation* de la transcription et se termine à la fin du dernier exon. Ils sont représentés en gris sur la figure 4.20.

En amont du site où commence la lecture pour la transcription, c'est-à-dire du côté 5', se situe une région flanquante qui contient le promoteur, une séquence d'ADN spécifique qui contrôle le taux de transcription du gène.

Le promoteur, dans le sens communément admis, est constitué par :

- le *core promoter* (cœur du promoteur) qui est formé par une séquence TATA (ou boîte TATA) localisée 25 à 30 pb en amont du site d'initiation de la transcription, et, en général, une séquence CAAT, 70 à 80 pb en amont du site d'initiation (fig. 4.21); la boîte TATA, inconstante, est reconnue par la protéine TBP (TATA-binding protein; protéine de liaison de TATA); le core promoter permet la fixation de l'ARN polymérase, l'ouverture de la double hélice et le début de la synthèse de l'ARNm au nucléotide correct d'initiation; il dirige donc le taux basal de transcription;

- une région proximale, juste en amont du core promoter, qui contient des sites de fixation pour des facteurs de transcription. Cette région proximale diffère des régions régulatrices distales (voir paragraphe suivant) car, contrairement à ces dernières, elle ne peut être ni déplacée, ni inversée. Cette région proximale, par recrutement de facteurs de transcription spécifiques, participe à la régulation (positive ou négative) du taux de transcription.

■ Les **exons** sont souvent appelés « régions codantes du gène » et les introns « régions non codantes ». Bien que largement utilisées, ces expressions sont imprécises. En effet, aux extrémités 5' et 3' de tous les ARNm, se trouvent deux régions non traduites par le ribosome (5' et 3' UTR; untranslated region), de séquences plus ou moins longues, qui sont, dans la plupart des cas, contenues respectivement dans le premier et le dernier exon. La partie codante de l'ARNm (le cadre de lecture) ne commence en effet qu'à partir du codon initiateur de traduction et se termine au codon stop, tous deux plus ou moins éloignés des deux extrémités 5' et 3'. La position de ces codons n'a rien à voir avec les jonctions exon-exon dans l'ARNm mature. Dans certains cas, plusieurs exons peuvent être entièrement compris dans la région 5' non traduite. Ces régions exoniques non codantes 5' et 3' portent souvent des séquences de régulation de la traduction et/ou de la stabilité de l'ARNm. À l'inverse, un intron peut exceptionnellement être retenu dans l'ARNm et participer pour partie ou *in extenso* au cadre de lecture (ce cas particulier d'épissage alternatif est appelé rétention d'intron).

Fig. 4.20

Structure d'un gène. Le gène est constitué par une succession d'exons et d'introns. Les exons persistent dans la molécule d'ARN mature tandis que les introns ont été éliminés (épissage). En amont du gène, le répresseur, l'amplificateur et le promoteur.

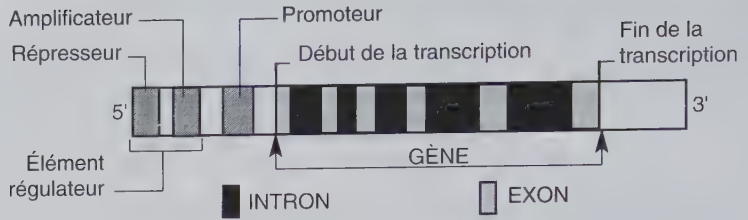
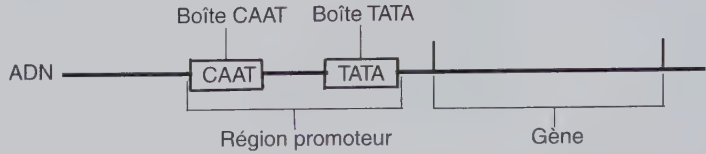


Fig. 4.21

Le cœur du promoteur. Le cœur du promoteur (core-promoteur) contient deux principales séquences situées en amont du gène. Il s'agit de la boîte TATA, qui fixe la protéine TBP dont la fonction est de fixer un cofacteur TF de l'ADN polymérase pour que l'initiation de la transcription s'effectue sur le nucléotide adéquat. Elle dirige l'ARN polymérase sur le site d'initiation. La boîte CAAT fixe aussi un cofacteur TF et intervient donc en plus de la boîte TATA.



■ Régions régulatrices distales

Des régions régulatrices (*amplificateur* et *répresseur*), parfois très éloignées (50 kb), contrôlent l'activité du promoteur. Elles se localisent en amont ou en aval du gène. Comme la région promotrice proximale, ces régions de l'ADN possèdent des séquences nucléotidiques qui sont reconnues par les facteurs de transcription. Elles s'en distinguent par le fait qu'elles peuvent agir indépendamment de leur orientation (3'-5' ou 5'-3') et de leur position.

■ Effets de position

Le déplacement d'un gène, de la région d'ADN où il est normalement actif vers les télomères (l'ADN des télomères est particulièrement condensé), provoque son inactivité. Cette extinction du gène est un effet de position.

L'ADN est un polymère de quatre nucléotides (l'acide adénylique, thymidylique, cytidylique et guanylique). L'ADN est une molécule bicaténaire formée par deux brins hélicoïdaux, antiparallèles, appariés l'un avec l'autre par l'intermédiaire de bases de forme complémentaire (A-T, C-G). La molécule d'ADN est associée aux histones groupées en nucléosomes. La réplication de l'ADN se fait à partir de chacun des deux brins : elle est rapide, précise, orientée, semi-conservative, bidirectionnelle. L'ADN polymérase lit chacun des brins : l'un est lu d'une manière continue dans le sens 3' → 5' (synthèse du brin avancé), l'autre d'une manière discontinue dans le sens 5' → 3' (synthèse de fragments d'Okazaki). L'ADN est réparé soit pendant la phase S (correction sur épreuve), soit en dehors de la phase S (sans excision ou avec excision des bases altérées ou incorrectes). Un gène comprend la partie de l'ADN qui est transcrite en ARN et le promoteur. Son activité est contrôlée par des régions régulatrices (amplificateurs et répresseurs).

Les ARN

L'ARN, contrairement à l'ADN, est toujours monocaténaire. Il possède les mêmes constituants que l'ADN, à l'exception du désoxyribose qui est remplacé par le ribose et d'une base pyrimidique, la thymine, qui est remplacée par l'uracile.

Les ARN regroupent les ARNm, les ARNt, les ARNr.

Les ARNm

L'ARNm est constitué par l'ensemble des exons du gène, mis en continuité lors de l'étape d'épissage des introns. La séquence ainsi constituée contient un cadre de lecture pour les ribosomes qui est la succession des codons (séquences de trois bases) responsables de l'ordre dans lequel les acides aminés seront assemblés. Le cadre de lecture est défini par le codon de début de lecture ou codon initiateur (AUG) et le codon de fin de lecture ou codon stop (UAA, UAG, UGA).

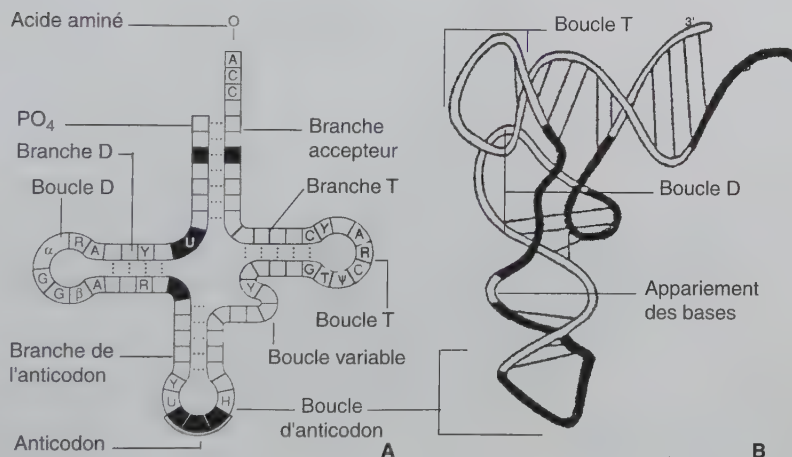
Les ARNt

L'ARNt, en forme de trèfle, se replie sur lui-même, car il possède, par places, des séquences autoccomplémentaires (fig. 4.22).

Fig. 4.22
Structure d'une molécule d'ARNt.

A. Structure primaire schématisée des molécules constituant l'ARNt.

B. Tentative de représentation tridimensionnelle de la molécule d'ARNt. L'anticodon est porteur de trois bases de formes complémentaires de celles du codon de l'ARNm placé dans le site A du ribosome.



Il comprend 3 boucles, une boucle D (ou boucle 1), une boucle anticodon (ou boucle 2), une boucle T (ou boucle 3), et 4 branches, une branche acceptrice qui s'associe à l'acide aminé qu'elle doit transporter, une branche D, une branche T et la branche de l'anticodon. La branche acceptrice ou *péricodon* (où se fixera spécifiquement un acide aminé) possède une extrémité 3' (de la molécule monocaténaire), dont la séquence terminale est toujours CCA, et une extrémité 5' voisine liée à une molécule de phosphate.

L'ARNr

Voir chapitre 8 : « Ribosomes et réticulum endoplasmique ».

202

Lors d'une augmentation de la température, les promoteurs des gènes de chocs thermiques sont reconnus par la sous-unité σ 32. Le promoteur des gènes de choc thermique possède des séquences -10 très différentes de celle des promoteurs standards : la région -35 est pratiquement la même que celle des promoteurs généraux avec quelques caractères qui les distinguent. Ainsi, en cas de choc thermique, il y a production coordonnée d'une série de protéines protectrices. Il en est de même pour la privation d'azote qui induit la synthèse de sous-unité σ 54.

Au cours de la recherche des sites promoteurs, l'ARN polymérase est liée à l'ADN qui demeure en double hélice. L'ADN en double hélice ne peut servir de matrice pour la synthèse d'ARN. La synthèse ne se fait que dans une région où les brins, bien que possédant des bases complémentaires ne sont plus appariés mais séparés l'un de l'autre. Les brins se séparent donc l'un de l'autre, mais sur une courte distance d'environ 17 paires de bases.

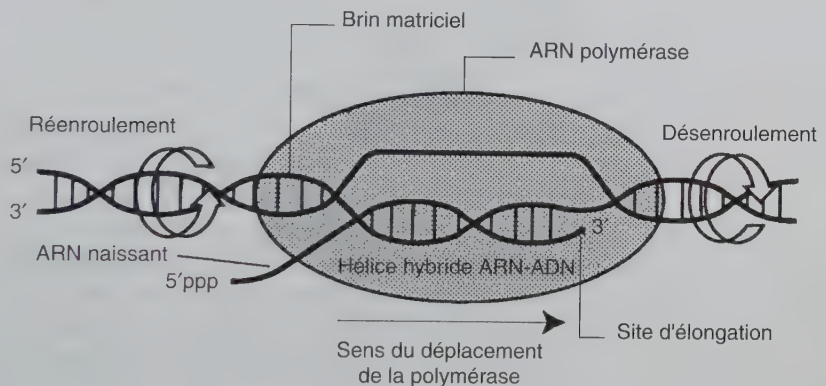
Lorsque l'ARN polymérase se fixe sur le promoteur, elle forme un complexe. Ce complexe est d'abord fermé (les deux brins sont encore appariés), puis il s'ouvre (les deux brins se séparent). Ce passage du *complexe fermé* au *complexe ouvert* est un événement essentiel dans la transcription.

■ La bulle de transcription : synthèse des chaînes d'ARN

La chaîne d'ARN commence par trois phosphates associés à une molécule de guanine ou à une molécule d'adénine (désigné respectivement par pppG ou pppA) (fig. 4.24).

Fig 4.24

Bulle de transcription.
Bulle de transcription et élongation de l'ARN qui forme une hélice hybride avec l'ADN partiellement déroulé.



La chaîne d'ARN est synthétisée dans la direction $5' \rightarrow 3'$: la région 5' est donc caractérisée par la présence soit de pppG, soit de pppA. La synthèse se fait en l'absence de toute amorce.

La phase d'élongation de l'ARN commence par la formation d'une première liaison phosphodiester. La molécule perd sa sous-unité σ .

La molécule d'ARN polymérase se lie plus fortement à la matrice. Elle reste liée à sa matrice d'ADN jusqu'à ce qu'elle atteigne un signal de terminaison.

L'ARN polymérase, l'ADN, et l'ARN naissant constituent la *bulle de transcription*. Le brin matriciel de l'ADN sélectionne les ribonucléotides corrects.

L'ARN néoformé constitue avec l'ADN libre de l'œil de répliation une hélice hybride d'une longueur de 12 pb, c'est-à-dire un tour d'hélice d'ADN.

Transcription de l'ADN chez les Eucaryotes

■ Les ARN polymérases

Chez les Eucaryotes, trois ARN polymérases interviennent dans la synthèse de l'ARN. Il s'agit de :

- l'ARN polymérase I intranucléolaire. Elle transcrit les gènes des ARN ribosomiques 18 S, 5,8 S et 28 S;
- l'ARN polymérase II qui synthétise les précurseurs des ARN messagers et des ARN de petite taille comme le snARN U1 de l'appareil d'épissage;
- l'ARN polymérase III qui synthétise l'ARNr 5 S et toutes les molécules d'ARNt.

La lecture du brin parental ADN se fait dans le sens 3' → 5'. La synthèse s'effectue donc dans le sens 5' → 3' en fonction des indications données par le brin parental. La synthèse débute en l'absence d'amorce. Les ARN polymérases eucaryotes, comme les ARN polymérases procaryotes, sont dépourvues d'activité nucléasique. Les éventuelles erreurs qui peuvent survenir au cours de la synthèse de l'ARN ne sont donc pas corrigées.

■ L'ARN polymérase II

Cette ARN polymérase, qui synthétise les ARN messagers, possède des caractéristiques qui appartiennent aussi aux ARN polymérases des Procaryotes :

- elles sont constituées par deux volumineuses sous-unités, RPB1 (220 kDa) et RPB2 (140 kDa). Ces sous-unités catalytiques sont identiques aux sous-unités β et β' de l'ARN polymérase procaryote. Le domaine carboxy-terminal de RPB1 est régulé par phosphorylation. Ce domaine reconnaît les signaux activateurs.
- elles contiennent entre 8 et 12 sous-unités.

Les promoteurs de l'ARN polymérase II

Ils sont localisés sur le côté 5' du site d'initiation de la transcription. Ce promoteur contient des séquences nucléotidiques particulières. L'une de celles-ci, la boîte TATA (TATA box) est située à -25 nucléotides du site d'initiation de l'ARN messager. La TATA box n'est pas suffisante pour déterminer une activité promotrice : elle est associée à d'autres éléments situés entre -40 et -110 nucléotides. Il s'agit de la CAAT box et de la GC box.

Seule, l'ARN polymérase II ne peut initier la transcription. Des facteurs de transcription désignés par le sigle TFII (transcription factor et II qui fait référence à l'ARN polymérase II).

Les facteurs TFII accompagnent et guident l'ARN polymérase II jusqu'au site d'initiation. Au niveau du site d'initiation, il se forme un complexe, l'*appareil basal de transcription* (fig. 4.25). Cet appareil basal est constitué par les facteurs TFIIA, B, D, E associés à l'ARN polymérase II.

Ce complexe se forme de la manière suivante : TFIID se fixe en premier sur la TATA box par l'intermédiaire d'un de ses constituants, la protéine TBP (TATA-binding protein; protéine de liaison à la boîte TATA). Elle a la forme d'une selle de cheval avec une face concave qui se lie à la boîte TATA, tandis que la face opposée convexe se lie aux facteurs de transcription. TFIIA et B rejoignent ensuite TFIID. Puis l'ARN polymérase et TFIIIE se fixent sur ces éléments.

Des facteurs supplémentaires s'assemblent sur l'appareil basal de transcription : il s'agit de protéines activatrices appartenant à des séquences stimulatrices situées parfois à distance de l'appareil basal de transcription. Mais l'ADN a la possibilité

Fig 4.25

L'appareil basal de transcription.

De haut en bas :

A. La molécule d'ADN et la boîte TATA.

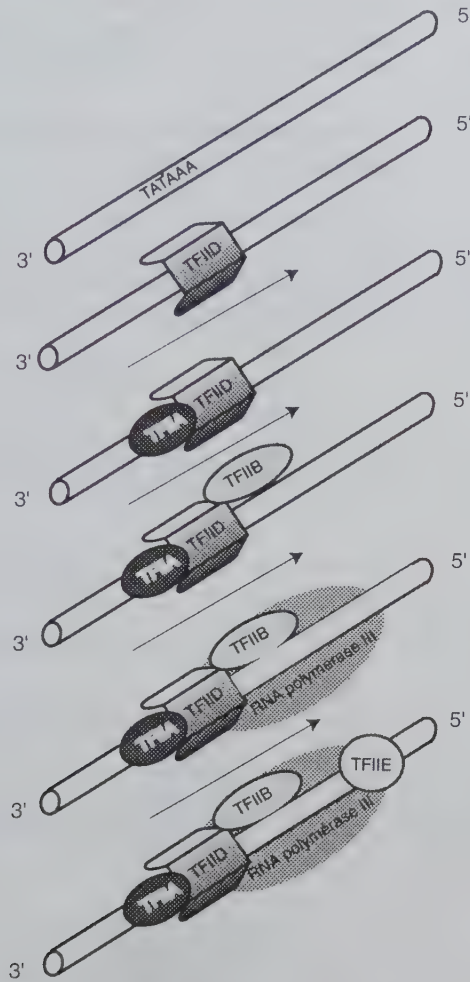
B. Le facteur de transcription TFIID se fixe sur la boîte TATA.

C. Le facteur TFIIA se combine au facteur TFIID.

D. Le facteur TFIIB se combine au facteur TFIID.

E. L'ARN polymérase s'associe au complexe protéique déjà formé.

F. Le facteur TFIIE s'associe pour finir de former l'appareil basal de transcription.



de se replier, de telle sorte que ces protéines activatrices (qui seules n'ont aucune activité promotrice) viennent interagir avec TFIID.

Élongation

L'ARN polymérase II se déplace le long de l'ADN en ouvrant une partie de la molécule d'ADN par un mécanisme de déroulement de l'hélice. Un des deux brins ainsi exposés sert de matrice : il est lu dans le sens 3' → 5'.

L'élongation de la molécule d'ARN se fait par l'appariement des bases complémentaires et par l'addition successive de ribonucléosides 5'-triphosphates [adénosine 5'-triphosphate (ATP), cytidine 5'-triphosphate (CTP), guanosine 5'-triphosphate (GTP), uridine 5'-triphosphate UTP]. Une chaîne d'ARN se forme et s'allonge dans le sens 5' → 3'.

Arrêt de la transcription

L'ARN polymérase II continue son chemin bien au-delà du nucléotide où aura lieu la polyadénylation (le mécanisme de l'arrêt de transcription est peu connu : les polymérases finissent par se décrocher, en des sites différents pour un même gène, au niveau de structures en épingle à cheveu). Le long transcrit primaire ainsi formé est clivé en un

point précis, une vingtaine de bases en aval d'un site AAUAAA, le signal de clivage. La poly(A) polymérase ajoute immédiatement de 100 à 250 A (selon l'organisme considéré) à cette extrémité 3'. L'ADN se rembobine immédiatement après lecture.

■ Visualisation en microscopie électronique de la transcription

Les gènes en cours de transcription peuvent être observés après extraction associée à une coloration négative, ou après un marquage autohistoradiographique. La transcription d'une fibre nucléosomique est réalisée par une multitude de molécules d'ARN polymérases (transcriptases) qui, les unes après les autres, commencent la lecture du gène.

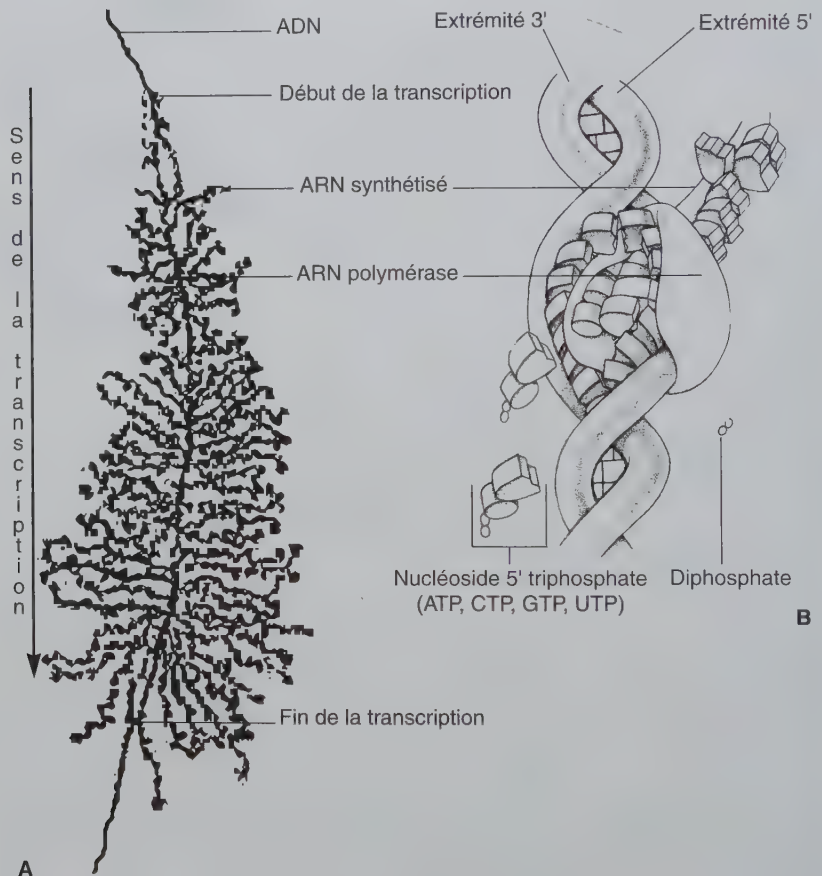
La longueur des molécules d'ARN est proportionnelle à la longueur de la distance de leur point de départ : c'est la raison pour laquelle, un gène lu par plusieurs ARN polymérases a un aspect d'« arbre de Noël » ou de « fronde de fougère ». Les images les plus caractéristiques concernent la transcription de l'ARNr (fig. 4.26).

Fig. 4.26

Transcription de l'ARNr.

A. Transcription d'une unité de transcription : chaque molécule d'ARN polymérase porte une molécule d'ARN primitif (transcrit primitif).

B. Organisation moléculaire d'une zone « lue » par l'ARN polymérase (ATP-adénosine 5' triphosphate, CTP-cytosine 5' triphosphate, GTP-guanosine 5' triphosphate, UTP-uridine 5' triphosphate).



■ Portion du génome transcrite

Chez l'Homme, moins de 10 % du génome est informationnel. Il s'agit des exons des gènes codant les protéines (gènes de classe II), des gènes ribosomaux (gènes de

classe I, qui sont répétés et rassemblés en batterie sur 5 des chromosomes où ils constituent les NORs) et les gènes des ARNt et d'autres petits ARN (gènes de classe III). Le reste est composé d'une part des introns (transcrits eux aussi mais épissés et qui occupent en moyenne 5 à 10 fois plus de place que les exons dans les gènes de classe II) et, d'autre part, de plusieurs types de séquences hautement répétées non transcrites (ADN satellite, dont une partie est regroupée au niveau des centromères et des télomères des chromosomes) ou moyennement répétées (séquences Alu et LINE-1, dispersées dans tout le génome humain) et transcrites à bas bruit (lorsqu'elles sont incluses dans un intron, par exemple). Le reste du génome n'appartenant à aucune de ces catégories, sans caractéristique de séquence apparente et de fonction inconnue, est parfois nommé ADN espaceur.

■ Les modifications des nucléosomes

L'ARN polymérase individualise la fibre d'ADN à tous les niveaux du brin en hélice autour des nucléosomes et les nucléosomes n'entravent pas la transcription. Il se produirait plusieurs modifications du filament nucléosomique : les octamères se séparent en tétramères d'histones en donnant un *filament* appelé *hémi-nucléosomique*; chaque *hémi-nucléosome* est entouré d'une spire d'ADN. Une acétylation des histones précède la transcription. Les protéines acides interviendraient dans la structuration fonctionnelle du nucléofilament, permettant l'expression des gènes programmés pour chaque type cellulaire.

■ Régulation de la transcription

Les facteurs de transcription contrôlent la transcription en se fixant spécifiquement (le plus souvent sous forme de dimères) sur les séquences régulatrices de l'ADN, répresseurs (*silencers*) ou amplificateurs (*enhancers*). Ces facteurs de transcription intracellulaires sont activés par des signaux extracellulaires.

Les facteurs de transcription et leur site de fixation sont différents pour chaque gène. La fixation des facteurs de transcription détermine la vitesse d'assemblage des protéines du complexe d'initiation sur le promoteur et, parfois, la vitesse d'élongation.

Les régions de contrôle sont souvent, chez les Mammifères, extrêmement complexes. Elles peuvent intéresser une étendue d'ADN comprenant 50 000 paires de bases et 5 ou 6 facteurs de transcription, comme c'est le cas pour la régulation du gène de la β -globine dans les cellules de la lignée érythrocytaire.

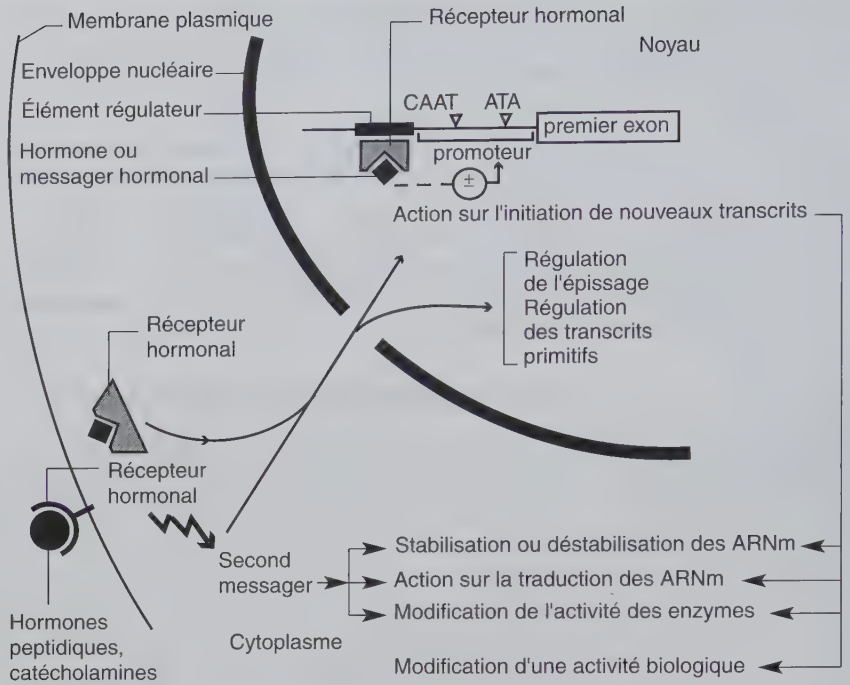
Séquences régulatrices et facteurs de transcription

Les séquences régulatrices (*amplificateurs* et *répresseurs*), qui contrôlent l'activité du promoteur, se localisent en amont ou en aval du gène (fig. 4.27). Ces séquences nucléotidiques sont reconnues par les facteurs de transcription. Par exemple, le premier facteur de transcription découvert est un répresseur bactérien désigné par l'abréviation Lac (pour lactose). Cette protéine reconnaît la séquence AATTGTGAGCGGATAACAATT de la région régulatrice et empêche la production de protéines intervenant dans le métabolisme du lactose dans un milieu ne contenant pas de lactose.

Ces protéines régulatrices forment, avec d'autres protéines, des complexes stables dans le cytosol. Les hormones stéroïdes et thyroïdiennes, pour ne citer qu'un exemple, possèdent un récepteur cytoplasmique. Ce récepteur est un facteur de transcription qui est activée par fixation des hormones stéroïdiennes ou

Fig. 4.27

Gène. Un exemple de régulation : la régulation hormonale. Le premier exon du gène est précédé de la boîte TATA et de la boîte CAAT (éléments « consensus ») : ces deux éléments sont séparés par des répétitions nucléotidiques très riches en GC (guanine-cytosine), qui jouent un rôle fondamental dans le positionnement et la fixation de l'ARN polymérase. (D'après A. Kahn, Médecine/Sciences, 1990.)



thyroïdiennes. Ces hormones pénètrent dans le cytoplasme, se combinent avec leur récepteur qui migre vers le noyau. Le complexe hormone/récepteur se fixe sur une séquence régulatrice située en amont du gène. Sa liaison provoque une activation de la transcription (fig. 4.27).

Par contre, les hormones peptidiques, facteurs de croissance et catécholamines ont des récepteurs membranaires. Leur fixation sur ce récepteur déclenche la transduction d'un signal qui aboutit en général à l'activation des facteurs de transcription par phosphorylation; par exemple :

- phosphorylation de CREB (cyclic AMP responsive element binding protein; protéine de liaison de l'élément sensible à l'AMP cyclique) par la PKA (activée par l'AMPc produit en réponse à de nombreux stimuli hormonaux). CREB se fixe alors sur le site CRE (cyclic AMP responsive element; élément sensible à l'AMP cyclique) des promoteurs des gènes cibles;
- phosphorylation en sérine des membres de la famille AP1 (jun, fos, fra, etc.) après activation de la voie ras et MAP kinase par les récepteurs à activité tyrosine kinase de certains facteurs de croissance;
- phosphorylation en tyrosine par la kinase JAK et translocation dans le noyau des facteurs de transcription STATs en réponse à l'activation des récepteurs aux cytokines.

Les domaines d'interaction avec l'ADN des facteurs de transcription

Les facteurs de transcription se fixent sur le grand sillon, qui leur donne un accès facile aux quatre paires de bases. Ils peuvent ainsi reconnaître les séquences des régions régulatrices et s'y fixer sans que l'ouverture de la molécule d'ADN soit nécessaire.

Les facteurs de transcription se classent en :

- protéines à motif *hélice-tour-hélice* : ce motif est constitué par une *hélice de reconnaissance* qui porte des chaînes latérales d'acides aminés dirigés vers l'ADN (elles

pénètrent dans le grand sillon de l'ADN et se fixent sur les bases de la région régulatrice), une chaîne d'acides aminés généralement courte, dénommée *tour*, et une *deuxième hélice* qui forme un angle précis avec l'hélice de reconnaissance;

- protéines à motif à *doigt de zinc* : elles sont constituées d'éléments répétitifs en forme de doigts de gant; chaque élément répétitif porte un motif constitué par une hélice α , un feuillet β réunis par le zinc; la partie de la chaîne peptidique repliée en forme de doigts contient un atome de zinc relié à deux cystéines et à deux histidines; elles peuvent contenir jusqu'à 13 doigts; les séquences d'acides aminés de ces protéines reconnaissent les séquences nucléotidiques des régions régulatrices; ces doigts, au niveau du grand sillon, établissent des contacts, par exemple entre les facteurs de transcription TFIIA (transcription factor IIIA) et les séquences régulatrices qui interviennent dans la synthèse de l'ARNr 5 S;

- protéines à *Leu zipper* (« fermeture éclair à leucine ») ou motif à répétition de leucines : il s'agit de protéines qui se fixent sur l'ADN sous la forme de dimères; elles sont formées de deux régions : une région *Leu zipper*, constituée par deux molécules hélicoïdales reliées en plusieurs points par des liaisons hydrophobes (ce qui évoque une fermeture éclair : zipper), qui sont des résidus de la leucine (Leu), et une région hélicoïdale basique, indispensable et nécessaire pour la liaison à l'ADN; ces molécules dimériques ont la forme d'un « Y ». Les branches des molécules leucine zipper se placent de part et d'autre de la molécule d'ADN dans le grand sillon, permettant aux chaînes latérales d'acides aminés de se fixer sur la séquence nucléotidique de la région régulatrice.

Amplificateurs

Les amplificateurs sont des séquences d'ADN toujours situées à distance (plusieurs kb de distance) du promoteur, sur lesquels la fixation de facteurs de transcription provoque l'augmentation du nombre de molécules d'ARN transcrites.

Lorsque le facteur de transcription se fixe sur le site d'amplification, la partie de la molécule d'ADN, qui sépare l'amplificateur du promoteur, forme une boucle (cette déformation est ATP-dépendante) de telle sorte que le facteur de transcription porté par l'ADN établit des contacts répétés avec le complexe de transcription qui est associé au promoteur. La multiplicité de ces contacts a le même effet qu'une augmentation de concentration des facteurs de transcription au voisinage du promoteur.

Répresseurs

Les répresseurs (silencers) sont des séquences d'ADN, sur lesquels la fixation des facteurs de transcription provoque l'inhibition de la transcription.

La répression de la transcription se fait aussi selon d'autres modalités :

- par *masquage de la surface d'activation* : le masquage de la surface d'activation par une protéine inhibitrice empêche le facteur de transcription activateur de se fixer sur la séquence régulatrice de l'ADN;

- par *interaction avec le complexe de transcription* : une protéine inhibitrice se combine directement avec les cofacteurs généraux de l'ARN polymérase (complexes TF) et inhibe leur assemblage;

- par *inhibition par compétition* : les protéines activatrices et inhibitrices, destinées à se fixer sur la même séquence régulatrice de l'ADN, entrent en compétition; le facteur de transcription répresseur, en se fixant sur cette séquence, empêche la fixation du facteur de transcription activateur;

— par *fixation sur deux séquences symétriques d'ADN* : le facteur de transcription répresseur, par exemple une protéine HLH (helix-loop-helix; hélice-boucle-hélice), en se fixant sur deux séquences symétriques d'ADN, inhibe tout décodage.

La maturation du transcrit primaire

La maturation de l'ARN est un ensemble de mécanisme qui transforme le transcrit primaire (ou ARN prémessager) en sa forme définitive, l'ARN messager.

Avant de devenir fonctionnel, l'ARN néoformé (transcrit primaire) doit subir une phase de maturation caractérisée par :

- la *coiffage* : le coiffage ou *capping* recouvre l'extrémité 5' du transcrit d'un acide guanylique méthylé sur un azote en position 7 ;
- la *polyadénylation* de l'extrémité 3' : une coupure nucléolytique sectionne le transcrit primaire en un point où seront ajoutés environ 200 résidus adényliques; le rôle de cette queue polyadénylée est mal connu; les ARNm-histones (ARNm qui transportent les informations pour la synthèse des histones) et les snRNAs ne sont pas polyadénylés;
- l'*épissage* : le transcrit primaire contient des introns et des exons (fig. 4.28); les introns sont éliminés par épissage au cours de la maturation de l'ARN. En raison de la présence des introns, dont certains sont très grands, la gamme des tailles des transcrits primaires est très étendue (entre 2 et 30 kb) d'où le nom hnRNA (heterogeneous nuclear RNA; ARN nucléaire hétérogène) qui les désigne.

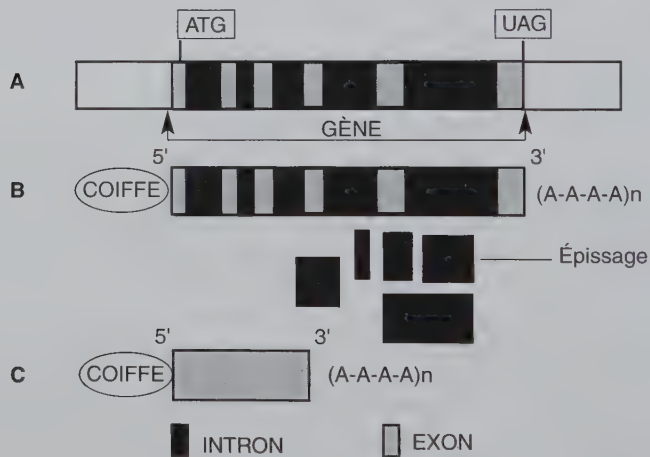
Fig. 4.28

Maturation du transcrit primaire.

A. Région de l'ADN à transcrire.

B. L'ARN néosynthétisé est une copie conforme de la région à transcrire. Une coiffe est accrochée en 5', une queue poly (A) est accrochée en 3'. Ce pré-ARNm est épissé (des snRNPs interviennent dans l'épissage). Les introns sont éliminés.

C. ARN mature.



■ Définition de l'épissage

L'épissage est l'enlèvement précis des introns des transcrits primaires par excision, qui met en œuvre un complexe de haut poids moléculaire, le spliceosome, formé par 50 protéines différentes et 5 snRNPs (small nuclear ribonucleoproteins; petites ribonucléoprotéines nucléaires).

Les séquences d'ARNm exoniques, situées de part et d'autre des introns, sont ressoudées ou *épissées* (le verbe « espisser » — 1631 — à l'origine de épisser, dérive

du néerlandais *splisten* ou de l'allemand *splissen* qui a donné *splice* en anglais, d'après *Le Robert électronique*). Le terme d'*épissage* (un néologisme) est utilisé pour décrire l'ensemble de ce mécanisme (excision et soudure). L'épissage se déroule en plusieurs étapes, de telle sorte qu'il existe plusieurs transcrits intermédiaires avant que ne soit formé l'ARN mature ou fonctionnel.

■ Le spliceosome

Les spliceosomes sont des structures constituées par des snRNPs (small nuclear ribonucleoproteins ou snurps) et par une cinquantaine de facteurs protéiques non snurps, qui éliminent les introns au cours de la maturation de l'ARNm.

Les composants du *spliceosome* occupent vingt à cinquante régions proches des sites de transcription, qui apparaissent sous la forme de taches lorsqu'ils sont mis en évidence par les techniques d'immunocytochimie. On observe aussi lors de ces expériences un marquage diffus du nucléoplasme (à l'exclusion du nucléole). Les taches (ou speckles) correspondent à des zones de stockage ou de maturation des composants du spliceosome, tandis que le marquage diffus, colocalisé avec les fibrilles périchromatiniennes observées en ME (voir plus loin), révèle le site effectif de l'épissage des transcrits primaires naissants.

Les *snRNPs* sont de petites particules nucléaires ribonucléoprotéiques qui contiennent de courtes molécules d'ARN (200 nucléotides). La fraction ARN des snRNPs, ou *snRNA*, se forme dans le noyau.

Un spliceosome se forme sur chaque intron de telle manière que les extrémités 3' et 5' de l'intron sont rapprochées au sein d'un site catalytique : ces deux extrémités sont coupées, les exons se soudent l'un à l'autre et l'intron est éliminé.

■ Rôle des protéines SR

Les protéines SR (serine arginine rich; riche en sérine et en arginine) interviennent dans le recrutement des snRNPs sur l'intron et participent donc à la formation du spliceosome.

Les protéines SR contiennent un domaine riche en dipeptides arginine/sérine, responsable des interactions des protéines SR entre elles et entre protéines SR et snRNPs, et un ou deux domaines RBD (RNA-binding domain; domaine de liaison avec l'ARN) d'interaction avec l'ARN pré-messager.

■ Rôle des protéines des hnRNPs

Les protéines des hnRNPs (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins; ribonucléoprotéines nucléaires hétérogènes) constituent des particules qui empaquettent les transcrits au fur et à mesure de leur croissance. Ces particules se formeraient au niveau des jonctions intron/exon. Cette abondante famille de protéines protégerait le transcrit primaire de la dégradation et favoriserait la formation des spliceosomes sur les exons en aidant à la reconnaissance des sites d'épissage.

Dans certains cas d'épissage alternatif, c'est-à-dire lorsque plusieurs sites d'épissage 3' ou plusieurs sites d'épissage 5' sont potentiellement reconnus par le spliceosome, les protéines des hnRNPs peuvent réprimer l'épissage à tel ou tel site alternatif, en entrant en compétition avec des protéines SR ou la grande sous-unité de U2AF (U2AF65) (U2AF : U2 auxiliary factor; facteur auxiliaire de U2).

■ On connaît actuellement 5 *snRNAs* désignés par les sigles U1, U2, U4, U5 et U6. Ces ARNs, à l'exception de U6, traversent les pores, gagnent le cytoplasme, où ils subissent une maturation caractérisée par une hyperméthylation de l'extrémité 5' et par un assemblage avec des protéines. Ils regagnent ensuite le noyau. U6 s'associe à U4 : le dimère U6/U4 se combine à U5 pour former le complexe U4/U6.U5.

■ La formation du spliceosome, chez les Eucaryotes, repose sur une série d'interactions moléculaires impliquant des membres de la famille des protéines SR (serine/arginine-rich; riche en sérine et en arginine).

■ Supposons que l'épissage concerne l'intron situé entre les exons 1 et 2. Les protéines SR se lient au pré-ARNm au niveau des sites d'épissage 5' (entre l'exon 1 et l'intron) et 3' (entre l'intron et l'exon 2) et provoquent l'assemblage d'un pré-spliceosome précoce ou complexe précoce E, qui contient U1 snRNP et la protéine de liaison à la région polypyrimidique, U2AF (U2 auxiliary factor; facteur auxiliaire de U2). U2AF est nécessaire à l'interaction de snRNP U2 avec le point de branchement.

Ce point de branchement est, avec les sites 3' et 5', un autre site important définissant l'intron. Il est constitué par une adénosine proche de la région polypyrimidique du site 3' d'épissage. Le snRNA de U1 snRNP reconnaît, par complémentarité, les séquences complémentaires de l'ARN pré-messager localisées au site 5' d'épissage. L'interaction du site d'épissage 5' avec U1 snRNP est facilitée par plusieurs polypeptides comprenant la protéine SR ASF (alternative splicing factor; facteur alternatif d'épissage) désignée aussi par le sigle SF2 (splicing factor 2; facteur d'épissage 2). SC35, autre protéine SR, crée ensuite un pont moléculaire entre U2AF et une des protéines de snRNP U1 : ceci est la base moléculaire du rapprochement de U1 et U2 et donc des sites 3' et 5' au sein du site catalytique. Les protéines SR interviennent également dans le recrutement du complexe U4/U6.U5 qui transforme le pré-spliceosome en spliceosome. Lorsque toutes les protéines du spliceosome sont assemblées, il se produit des remaniements importants avant la catalyse de la réaction : départ de U1 et U4, modifications des interactions des snRNA entre eux et des snRNA avec l'ARN pré-messager, qui aboutissent à la création d'un complexe C (catalysis). La première étape de l'élimination de l'intron implique une attaque nucléolytique sur le site d'épissage 5' qui sépare l'intron de l'exon 1. Les snRNA U2, U5 et U6 interviennent dans cette catalyse. On connaît mal actuellement les protéines intervenant dans la deuxième étape qui aboutit au clivage de l'intron au niveau de l'extrémité 3' de l'exon 1. Après élimination de l'intron, les deux exons, rapprochés spatialement au sein du spliceosome, se soudent l'un à l'autre.

■ Régulations post-transcriptionnelles

Après la transcription, chacune des étapes qui conduisent de l'ADN à la protéine surveille le résultat de la transcription grâce à un contrôle :

- de l'épissage;
- de l'édition;
- du transport de l'ARNm : l'ARNm doit être transporté depuis le noyau jusqu'au cytoplasme, grâce à l'intervention de divers mécanismes et en particulier son passage par les pores;
- de la traduction (par le choix des ARNm qui seront traduits);
- de la dégradation de certains ARNm;
- de l'activité des protéines synthétisées. Un excès d'une protéine définie interrompt, par un mécanisme de rétroaction (feedback), la transcription du gène responsable de la synthèse de cette protéine.

Édition

L'édition d'ARN est un mécanisme post-transcriptionnel qui englobe un ensemble de modifications de l'ARN (ARNm, t ou r).

Les ARNm (fig. 4.29) peuvent subir une addition post-transcriptionnelle ou une délétion d'uracile pour constituer des codons de début ou d'arrêt de lecture et ajouter des séquences supplémentaires de codification.

L'édition varie d'un ARNm à l'autre. Dans certains cas, l'adjonction ou la délétion se limite à quelques molécules d'uracile; dans d'autres, l'édition participe à la formation de plus de 50 % de la molécule d'ARN.

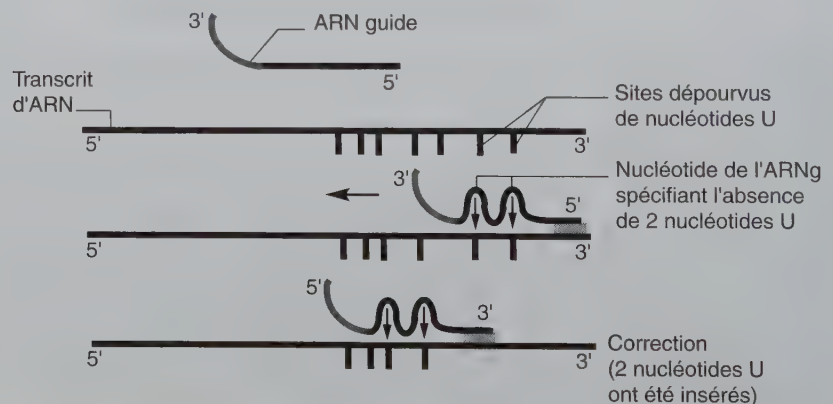
L'édition nécessite l'intervention d'ARNg (les ARNg ou ARN guides sont des transcrits, en général courts — 50 à 70 nucléotides — qui interviennent directement dans l'édition de l'ARNm). L'édition commence par la fixation d'une séquence d'ancrage d'un ARNg près de l'extrémité 3', qui s'apparie avec une séquence complémentaire de l'ARNm, à l'exception d'une zone (absence de base complémentaire).

Ce mésappariement très localisé activerait les endonucléases : ces endonucléases clivent la molécule d'ARNm située en face de la région de l'ARNg qui ne contient pas de base complémentaire de l'ARNm.

Le *site d'édition* (site de délétion ou d'addition des molécules d'uracile) se localise à l'extrémité 5' du fragment 3' d'ARNm. L'achèvement de l'édition par le premier ARNg crée un site d'ancrage, qui permet la fixation d'un second ARNg et ainsi de suite.

Fig. 4.29

Édition de l'ARN. Les ARNg possèdent en 3' une queue poly U. Cette queue fournit les uraciles aux sites de mésappariement avec l'ARNg qui signalent l'absence de U. La correction d'un transcrit nécessite plusieurs ARN guides.



■ Des expériences par marquage métabolique menées au début des années 70 avaient montré que seulement un vingtième des ARN transcrits sont convertis en ARNm cytoplasmiques. Le phénomène d'épissage des introns (découvert plus tard en 1977) ne rend que partiellement compte de cette perte de matériel. Il existe donc une étape intranucléaire de tri (dégradation, inhibition de l'épissage ou du transport vers le cytoplasme) dont la nature n'est pour l'instant pas connue.

Régulation globale du transfert des ARNm vers le cytoplasme

Seule une fraction des ARN synthétisés dans le noyau atteint le cytoplasme. Il s'effectue donc un tri intranucléaire soit par dégradation de l'ARN, soit par blocage de son passage dans les pores.

Le transport des ARNm aboutit à une localisation adaptée, spécifique, en fonction de la protéine qu'il code, grâce à un signal localisé dans la région 3' UTR (untranslated region 3'; région non traduite 3'). Ce signal permet à l'ARNm d'atteindre les régions du cytoplasme où sa traduction est nécessaire. Il délivre ainsi les protéines « à domicile ». Il s'agit là d'une forme particulière de régulation post-transcriptionnelle.

Régulation globale du taux de traduction

La phosphorylation de eIF-2 (eucaryotic initiation factor 2; facteur d'initiation 2) et celle de eEF-2 (eucaryotic elongation factor 2; facteur d'élongation 2) réduisent l'activité de la traduction. La phosphorylation de eIF-2 est corrélée, au cours du cycle cellulaire, à l'entrée des cellules dans la phase quiescente G0, au cours de laquelle les synthèses protéiques sont réduites à 20 % de celles des cellules en prolifération. Une diminution temporaire du taux de synthèse protéique est aussi observée lors de l'entrée en mitose : elle est corrélée à la phosphorylation de eEF-2.

Le contrôle négatif de la traduction

La fixation de protéines répressives de la traduction sur l'extrémité 5' de l'ARNm inhibe sa traduction. L'aconitase bloque la traduction de l'ARNm codant la ferritine (ARNm ferrique). La ferritine est une protéine qui assure le stockage du fer. L'augmentation de la concentration ferrique du cytoplasme détache l'aconitase de l'ARNm codant la ferritine et augmente d'une manière considérable la production de ferritine.

Rôle de la queue poly(A)

Les pré-ARNm, polyadénylés dans le noyau, qui, après maturation, passent dans le cytoplasme, possèdent des queues poly(A) d'environ 200 nucléotides. Une longueur minimum de 30 nucléotides assure non seulement la stabilité des ARNm, mais aussi leur traduction. Les protéines de fixation, qui se lient à l'extrémité poly(A) de l'ARNm, fixent la grande sous-unité des ribosomes. La petite sous-unité s'accroche à l'extrémité 5'. Or, la forme de la molécule d'ARNm, à ce moment-là, est telle, que les deux extrémités sont voisines et que les deux sous-unités ribosomales peuvent s'associer pour commencer la lecture de la molécule dans le sens 5' → 3'.

La dégradation des ARNm

Les ARNm sont instables. Leur durée de vie chez les Vertébrés est d'une trentaine de minutes à dix heures. Les ARNm les plus instables contiennent des séquences qui stimulent leur autodestruction par des endonucléases.

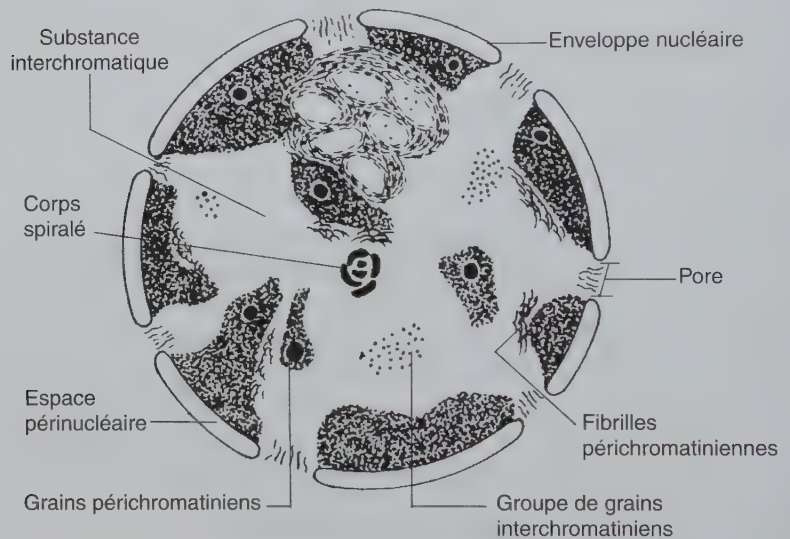
Cette dégradation sélective des ARNm est souvent couplée à leur traduction. Ce couplage traduction/dégradation est un mécanisme qui évite que les ARNm ne soient dégradés avant qu'ils n'aient été traduits au moins une fois. Par exemple, les ARNm codant pour les histones portent des signaux proches de la région 3', qui activeraient une nucléase liée au ribosome. La lyse de l'ARNm ne se produit alors qu'après la fin de la synthèse.

L'ARN, toujours monocaténaire, contient les mêmes constituants que l'ADN, à l'exception du désoxyribose et de la thymine qui sont respectivement remplacés par le ribose et l'uracile. Chaque ARNm est la copie des exons d'un gène fonctionnel. Les ARNt reconnaissent les acides aminés. Les ARN proviennent de la transcription de l'ADN par les ARN polymérases I, II, III. Ces transcriptases reconnaissent le promoteur d'un des deux brins, qui est lu dans le sens 3' → 5'. Plusieurs ARN polymérases lisent simultanément un gène (image en arbre de Noël). Les facteurs de transcription contrôlent l'activité du promoteur, sans ouvrir la molécule d'ADN, en se fixant sur les séquences régulatrices par l'intermédiaire du grand sillon. Les transcrits primaires subissent un épissage au sein des spliceosomes qui éliminent les introns. Des régulations post-transcriptionnelles peuvent s'exercer sur l'épissage, l'édition, le transport de l'ARN, le degré de polyadénylation, la dégradation de l'ARNm.

Les espaces interchromatiniens

L'organisation de ces espaces (fig. 4.30), peu colorables par les colorants basiques, a été mise en évidence par les techniques histochimiques. Ils contiennent diverses molécules et en particulier des RNPs. Ces ARN associés à des protéines sont, sous cette forme, protégés contre les *nucléases* (enzymes nucléaires qui lysent les acides nucléiques). Les espaces interchromatiniens sont aussi occupés par certains segments des fibres chromatinienues et diverses structures : les *fibrilles périchromatiniennes*, les *groupes de grains interchromatiniens*, les *grains périchromatiniens* et les *corps nucléaires*.

Fig. 4.30
Substance interchromatique.
Représentation du noyau en
microscopie électronique.
(D'après Marc MAILLET, *Élé-
ments de Cytologie animale*,
Bordas, Paris, 1970.)



Les fibrilles périchromatiniennes

Les fibrilles périchromatiniennes occupent les espaces interchromatiniens. Leur diamètre est de 3,5 nm, leur longueur de 100 nm. Elles sont de nature ribonucléoprotéique et, selon l'expression de Fakan, sont « l'expression morphologique de la transcription des gènes ». Autrement dit, elles représentent les transcrits naissants; on y détecte d'ailleurs l'ARN polymérase II, la poly(A) polymérase, les protéines des hnRNPs qui empaquettent ces transcrits naissants et les composants du spliceosome qui s'associent à eux.

Les grains interchromatiniens et périchromatiniens

Les études immunohistochimiques en MO des facteurs d'épissage ont identifié 20 à 50 petites taches (speckles) dans le noyau (voir « Le spliceosome »). Ces taches correspondent morphologiquement aux groupes de grains interchromatiniens étudiés en ME.

■ Les groupes de grains interchromatiniens

Ce sont des groupes de particules de 20 à 25 nm et des bâtonnets de même diamètre, liés par les fibrilles périchromatiniennes : ils apparaissent ainsi comme des chaînes constituant un réseau lâche. On peut observer des images de transition entre les fibrilles périchromatiniennes, qui sont au contact des masses de chromatine, et les grains interchromatiniens. Les groupes de grains interchromatiniens sont des compartiments de stockage et/ou d'assemblage des composants du spliceosome tandis que les fibrilles périchromatiniennes adjacentes sont le lieu effectif de l'épissage des transcrits naissants. Il a été démontré récemment que certains composants du spliceosome (les protéines SR en particulier) effectuent sans cesse la navette entre ces deux structures nucléaires créant un cycle contrôlé par des réactions de phosphorylation/déphosphorylation.

■ Les grains périchromatiniens

Ils sont :

- plus rares que les granules interchromatiniens (50 granules par section de noyau de $40 \mu\text{m}^2$), mais plus gros (40 à 45 nm),
- entourés d'un halo clair de 25 nm d'épaisseur.

Localisés dans les espaces situés au voisinage des pores, entre les masses chromatiques, ils sont constitués de fibrilles très fines (3 nm), entortillées. Parfois, ces granules sont unis les uns aux autres par des faisceaux très fins de fibrilles. Ils contiennent eux aussi des composants du spliceosome (protéines SR) et des protéines des hnRNPs. Leur nature est encore incertaine. Il pourrait s'agir de particules de mRNPs (c'est-à-dire d'ARNm associé à des protéines, issu de la maturation des hnRNPs) en transit vers le pore nucléaire. Le fait qu'ils contiennent des protéines des hnRNPs et des protéines SR ne doit pas surprendre : certains membres de ces deux familles accompagnent les ARNm matures jusque dans le cytoplasme avant de retourner dans le noyau pour un nouveau cycle (voir « Importation et exportation *via* les pores nucléaires »).

Les corps spirales

Ces corps spirales (coiled bodies : CBs) ont un diamètre de 0,2 μm . Ce sont des agrégats sphériques (de 0,3 à 1,5 μm de diamètre) de fibres entortillées. Ces fibres sont colorables comme les granules inter et périchromatiniens. Elles contiennent des fibrilles très fines de 5 nm, irrégulièrement enroulées autour de l'axe des fibres. Il s'agit de formations fibrillaires homogènes, sphériques, possédant un halo.

Ces corps spirales contiennent la fibrillarine (protéine spécifique du nucléole, de 34 kDa), la p80-coïline (protéine de 80 kDa), une ADN topoisomérase I et des protéines associées aux organisateurs nucléolaires.

Ils contiennent aussi des composants du spliceosome, tels que des particules snRNPs et le facteur d'épissage U2AF, composé de deux sous-unités, une protéine de 65 kDa (U2AF65) qui se lie à la zone polypyrimidique du

pré-ARNm nécessaire à l'épissage *in vitro* et une protéine associée de 35 kDa (U2AF35). Les corps spiralés ne sont cependant pas le lieu de l'épissage des pré-ARNm, qui est réalisé sur les fibrilles périchromatiniennes.

Les fibrilles périchromatiniennes contiennent de l'ARN polymérase II, des protéines des hnRNP et des molécules d'ARN, transcrits récents de l'ADN. Les groupes de grains interchromatiniens sont des compartiments d'assemblage des facteurs d'épissage. Les grains périchromatiniens et les corps spiralés contiennent également des facteurs d'épissage.

La matrice nucléaire

La matrice nucléaire correspond au matériel insoluble, qui persiste malgré toute une série d'extractions biochimiques et qui constitue une charpente nucléaire.

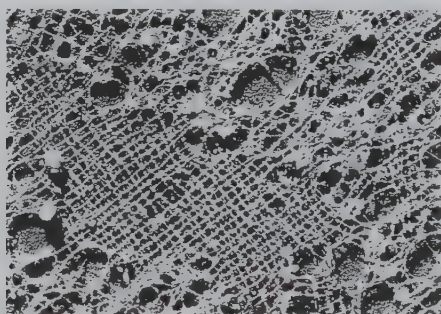
Les constituants de la matrice

La matrice nucléaire (fig. 4.31) est constituée par :

- des *lamines nucléaires*, nucléofilaments qui appartiennent à la famille des filaments intermédiaires et qui sont soit libres, soit fixés sur des récepteurs de la face interne de la membrane interne;
- des *protéines fibrillaires* disposées en un réseau sous-membranaire associé au petit anneau nucléoplasmique des pores nucléaires;
- un *réseau fibreux* dont les constituants sont mal connus, mis à part les protéines NuMA (nuclear mitotic apparatus; appareil nucléaire mitotique) : ces protéines sont présentes dans le noyau pendant la phase G1. Elles interviennent au cours de la mitose et au moment de la reconstitution du noyau.

Fig. 4.31

Disposition des filaments de lamine sur la face interne de la membrane interne du noyau (d'après ALBERTS).



Les lamines nucléaires

■ Pour certains auteurs, les **lamines nucléaires** ne font pas partie des filaments intermédiaires.

Les lamines nucléaires sont des protéines fibrillaires, qui font partie de la famille des filaments intermédiaires et qui se répartissent soit en une couche protéique fibrillaire dense accolée à la face interne de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire (fig. 4.27), la *lamina nucléaire*, soit en un réseau très discret dans le nucléoplasme.

Chez les Mammifères, il existe trois protéines, les lamines A, B, C (dimères qui possèdent une région en forme de bâtonnet et deux têtes globulaires). Ces dimères

ont la propriété de s'associer les uns avec les autres pour former des filaments dont le diamètre est analogue à celui des filaments intermédiaires (IFs) cytoplasmiques. Les lamines A et C existent dans les cellules différenciées, les lamines B dans les cellules indifférenciées.

■ Structure

Les filaments de lamine s'organisent en treillis à mailles carrées pour constituer la lamina nucléaire.

L'épaisseur de la lamina nucléaire varie, suivant les espèces, entre 15 et 60 nm : elle se confond parfois avec la couche d'hétérochromatine périphérique. Elle est formée par des fibres épaisses, enroulées autour de canaux en forme d'entonnoirs dirigés vers les pores. Ces canaux pourraient desservir plusieurs pores. À distance du pore, le diamètre du canal est compris entre 120 et 640 nm ; à son voisinage, il est de 25 nm. Un réseau sous-membranaire de nature inconnue est situé en dedans de la lamina nucléaire : il semble s'insérer sur le petit anneau nucléoplasmique des pores nucléaires.

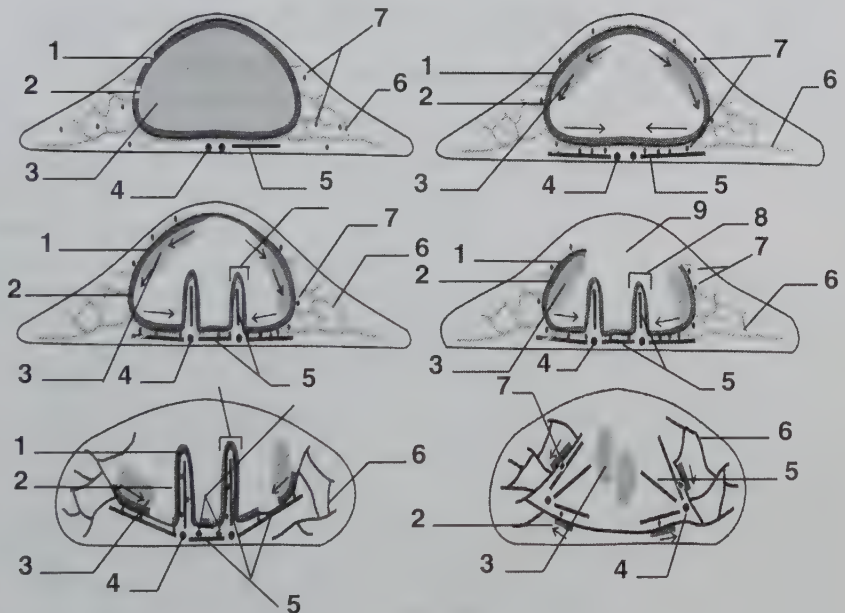
■ Dynamique

Lorsque la cellule se divise par mitose, une phosphorylation de résidus sérine des lamines provoque un désassemblage de la lamina nucléaire en tétramères de lamines A, B, C (fig. 4.32).

Fig. 4.32

Dynamique de l'enveloppe nucléaire et de la lamina.

1. Enveloppe nucléaire. 2. Lamina. 3. Chromatine. 4. Centrosome. 5. Microtubule. 6. Réticulum endoplasmique. 7. Moteurs moléculaires. 8. Invaginations. 9. Rupture de l'enveloppe nucléaire.



C. Prométaphase : invaginations de l'enveloppe nucléaire et étirement de la lamina.

D. Prométaphase : rupture de la lamina et perméabilisation de l'enveloppe nucléaire.

E. Prométaphase : fragmentation de l'enveloppe nucléaire et dispersion des protéines de l'enveloppe nucléaire.

F. Prométaphase : mouvement des fragments de lamina en direction des centrosomes.

Redessiné d'après Joël Beaudouin, Nathalie Daigle, La

dynamique de l'enveloppe nucléaire, M/S sciences et médecine, édition EDK.

Des invaginations de l'enveloppe nucléaire se forment : elles possèdent à leur base les centrosomes. Elles sont provoquées par des microtubules qui, en s'allongeant, repoussent l'enveloppe nucléaire. Ces invaginations provoquent un étirement de la lamina qui se rompt par place en même temps que l'enveloppe nucléaire. Les protéines de l'enveloppe nucléaire se dispersent, se détachent des chromosomes et migrent vers le réticulum endoplasmique. Ces mouvements dépendent de la dynéine.

■ Liaisons aux fibres nucléosomiques

Classiquement, les fibres d'hétérochromatine se disposent en couches sur la face interne de la lamina. L'extrémité monocaténaire de l'ADN s'insère dans la lamina.

Les protéines NuMA

NuMA (236 kDa) (nuclear mitotic apparatus; appareil mitotique nucléaire) est une protéine intranucléaire associée au domaine péricentrosomal du fuseau mitotique, qui, au cours de la mitose, se distribue dans chacune des cellules filles. Elles existent également dans le noyau au cours de la phase G1 (voir chapitre 5 « Le cycle cellulaire »).

NuMA possède une tête globulaire et une queue, séparées par une hélice de 1 500 acides aminés. L'absence du domaine globulaire inhibe la cytodierèse et provoque l'assemblage de multiples petits noyaux (micronuclei).

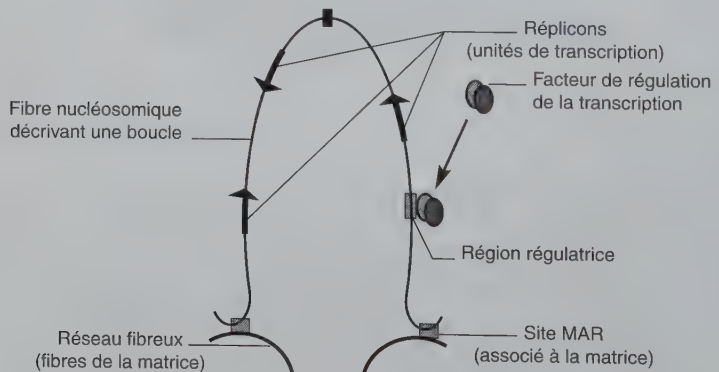
Contrôle de l'ADN par la matrice nucléaire

■ Disposition des molécules d'ADN

Les molécules d'ADN ne se disposent pas au hasard dans le noyau. L'étude des chromosomes du noyau interphasique montre que les centromères se placent au contact du nucléole ou des nucléoles, tandis que les télomères entrent en contact avec la périphérie du noyau et s'insèrent dans la lamina nucléaire.

Les molécules d'ADN dessinent des boucles nucléosomiques : leurs extrémités superenroulées s'associent au réseau fibreux de la matrice par des sites dénommés SARs (scaffold-associated regions; régions associées à l'échafaudage) ou MARs (matrix-associated regions; régions associées à la matrice) (fig. 4.33).

Fig. 4.33
Rapport des fibres nucléosomiques avec la matrice.



■ Conditionnement de la réplication et de la transcription par la matrice

Les ARN polymérases sont fixées sur le réseau fibrillaire de la matrice (il en est de même pour les ADN polymérases) : elles restent donc immobiles au cours de la transcription. C'est la molécule d'ADN qui se déplace.

Ces sites de transcription sont au nombre de 20 à 50 : des sites d'épissage (voir « Maturation de l'ARN pré-messager ») sont souvent localisés dans les mêmes régions.

La charpente nucléaire comprend les lamines, sur lesquelles s'insèrent les chromosomes, des protéines fibreuses sous-membranaires et des protéines NuMA. Elle contrôle la disposition des molécules d'ADN ainsi que la réplication et la transcription.

■ L'enveloppe nucléaire

L'enveloppe nucléaire est une citerne du RE (fig. 4.34), caractéristique des cellules eucaryotes, qui limite un volume clos dont la constitution diffère fondamentalement du cytoplasme : elle isole l'ADN pendant la période interphasique, permet sa réplication ou sa transcription dans un compartiment séparé du cytoplasme, contrôle les échanges dans les deux sens entre le noyau et le cytoplasme.

Il ne s'agit donc pas d'une simple limite, mais d'une structure élaborée entre les compartiments nucléaire et cytoplasmique. Elle est impliquée non seulement dans les échanges nucléocytoplasmiques, mais aussi dans l'organisation du contenu nucléaire, dans le maintien de la forme du noyau, dans la réplication de l'ADN, la croissance du noyau, dans le transport des ARN et probablement dans d'autres mécanismes que nous ignorons encore.

L'épaisseur totale de l'enveloppe nucléaire est approximativement de 35 nm.

La membrane externe

La membrane externe, d'une épaisseur totale de 7,5 nm, est trilamellaire (un feuillet osmiphobe compris entre deux feuillets osmiphiles). Des ribosomes s'accrochent sur la face externe de cette membrane qui est en continuité avec celle du RE et qui entre en rapport avec la corbeille périnucléaire constituée par des filaments intermédiaires. Elle contient 70 % de protéines et 30 % de lipides.

La membrane externe contient une glucose-6-phosphatase, deux chaînes de transport d'électrons (cytochrome b_5 , cytochrome P450) non couplées à un mécanisme de phosphorylation. Les enzymes et les cytochromes (transporteurs d'électrons) sont très enchâssés dans la double couche lipidique, tandis que la glucose-6-phosphatase et les glycoprotéines se placent au voisinage de l'espace périnucléaire. De plus, comme dans toutes les membranes du RE, la membrane externe nucléaire renferme des récepteurs (IP3R) des molécules d'Ins 1,4,5-P3 (inositol 1,4,5-triphosphate).

L'espace périnucléaire

Un espace périnucléaire, lieu de stockage des ions calcium, situé entre les deux membranes, a une épaisseur irrégulière (10 à 20 nm). Cette zone vectrice communique avec les cavités du RE.

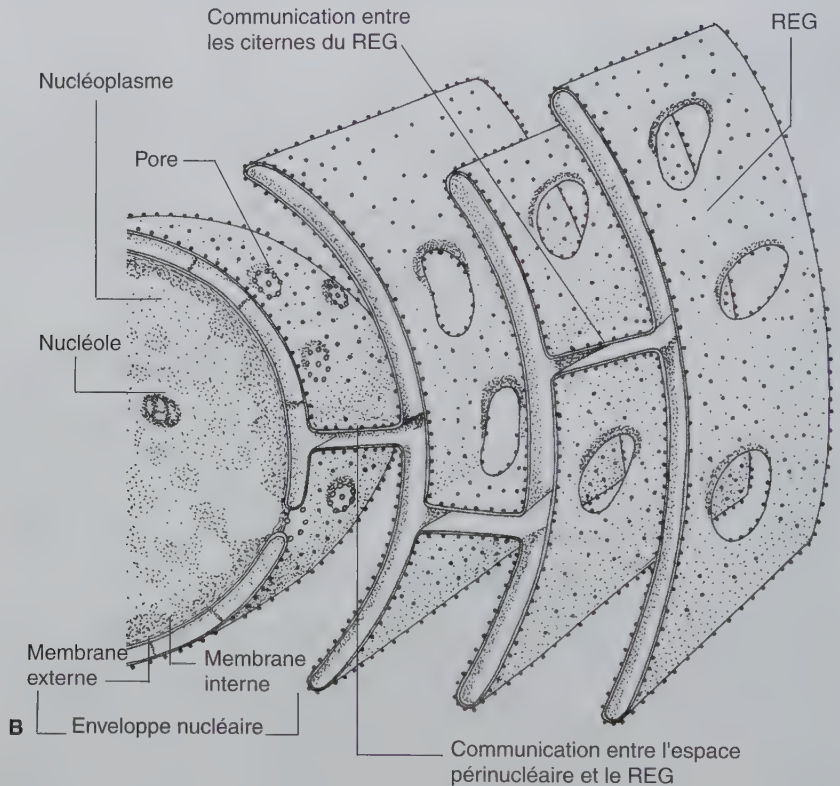
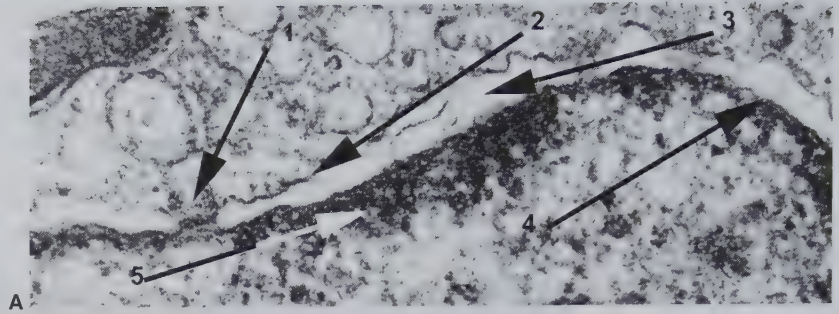
Fig 4.34

Enveloppe nucléaire.

A. Photomicrographie en microscopie électronique.

1. Pore nucléaire. 2. Membrane nucléaire externe. 3. Espace périnucléaire. 4. Membrane nucléaire interne. 5. Chromatine marginale.

B. Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire et de ses rapports avec le REG.



La membrane interne

La membrane interne a une structure voisine de la membrane externe. Cependant, ses activités enzymatiques sont moins riches que celles de la membrane externe.

■ Les sites de fixation des lamines

La membrane interne contient des molécules protéiques intramembranaires jouant le rôle de sites de fixation pour les molécules de lamine et aussi pour les protéines histones des fibres nucléosomiques. Ainsi, la protéine p58 intramembranaire

phosphorylée fixe la lamine B. Sa déphosphorylation libère la molécule de lamine qui lui est liée.

■ Les canaux calciques transmembranaires

La membrane interne contient des canaux calciques transmembranaires. La fixation de leur ligand Ins 1,4,5-P₃ (produit au cours du cycle phosphoinoside qui se déroule dans le noyau) libère des ions calcium contenus dans l'espace périnucléaire : ces ions se déversent dans le nucléoplasme. De nombreuses enzymes nucléaires requièrent, en effet, la présence de Ca⁺⁺. Cependant la majorité du calcium pénètre dans le nucléoplasme en passant par les pores nucléaires.

L'enveloppe nucléaire est une dépendance du RE : la face externe de la membrane externe est associée à des ribosomes, la face interne de la membrane interne aux lamines par l'intermédiaire de sites de fixation. L'espace périnucléaire contient du calcium : l'activation des IP₃R de la membrane interne libère les ions calcium qui passent dans le nucléoplasme.

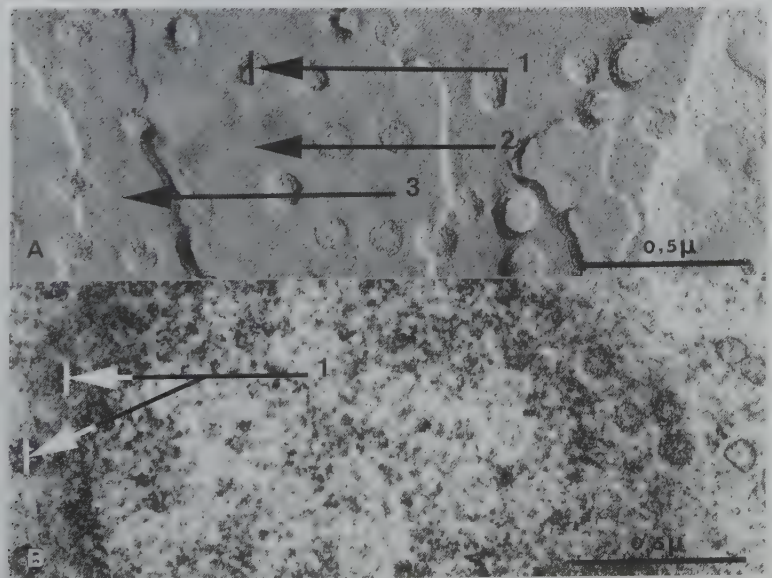
Les pores nucléaires

Un pore nucléaire (fig. 4.35) est une structure complexe (existant dans tous les noyaux) constituée par une zone d'interruption de l'enveloppe nucléaire (c'est le pore proprement dit, de 124 nm de diamètre), qui contient le NPC (nuclear pore complex; complexe du pore nucléaire) formé par des protéines chargées positivement. Le PM de ce complexe est de 125.10⁶ Da. Les pores interviennent dans la régulation des échanges entre le noyau et le cytoplasme.

Fig 4.35

Enveloppe nucléaire.

A. Freezing-etching. 1. Pore nucléaire. 2. Face externe de la membrane externe. 3. Face externe la membrane interne. B. Photomicrographie en microscopie électronique à transmission : 1. Coupe tangentielle de pores.



Dynamique

Les pores ne sont pas des structures statiques permanentes. Les pores sont des structures dynamiques, susceptibles de disparaître au cours de la mise au repos de la cellule ou de réapparaître lorsque les échanges sont augmentés entre le noyau et le cytoplasme.

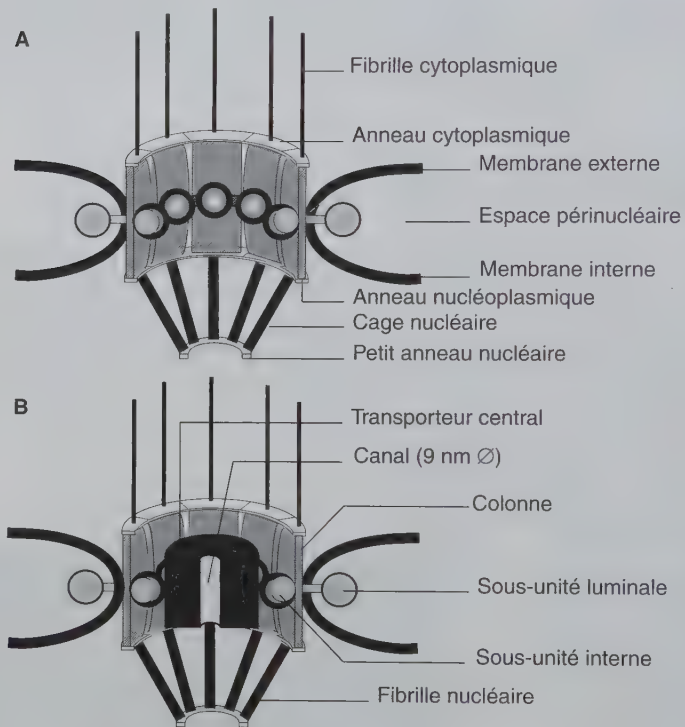
Structure tridimensionnelle

Le NPC (nuclear pore complex; complexe du pore nucléaire) est un assemblage tripartite comprenant un « complexe rayonné » placé entre un *anneau cytoplasmique* et un *anneau nucléoplasmique*. Le complexe rayonné entoure le pore central occupé par le transporteur encore appelé « complexe central du pore ». Le NPC a la forme d'un anneau cylindrique d'un diamètre externe de 124 nm (fig. 4.36). Il est enchâssé dans l'enveloppe nucléaire. Il déborde légèrement la surface de la membrane externe et de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire.

Fig. 4.36
Vue tridimensionnelle du NPC.

A. NPC. Le transporteur n'est pas représenté afin de ne pas masquer les sous-unités du complexe rayonné. Le complexe rayonné est constitué de 8 groupes de 3 sous-unités : la sous-unité luminale située dans l'espace périnucléaire, la colonne et la sous-unité interne qui vient au contact du transporteur.

B. NPC représenté avec le transporteur qui est traversé par un canal.



■ Les protéines importées sont initialement liées aux **filaments cytoplasmiques** avant de se déplacer en direction du canal central. Les protéines Nup180 et Nup214 (Nup: nucléoporine) forment une partie de ces filaments. Ces protéines interagissent avec les transporteurs des protéines (les importines) et pourraient donc jouer le rôle de site d'accrochage sur la face cytoplasmique du pore pour les complexes à importer dans le noyau.

■ L'anneau cytoplasmique

L'anneau cytoplasmique est constitué de 8 sous-unités (diamètre : 120 nm, hauteur : 25 nm, 32 MDa). Ces sous-unités sont disposées de manière symétrique par rapport à son centre. Sur la face cytoplasmique de chacune de ces sous-unités, s'insèrent des **filaments cytoplasmiques** qui se perdent dans le cytoplasme. Cet anneau pourrait être en relation avec les éléments du cytosquelette de la corbeille périnucléaire, qui joueraient un rôle d'ancrage.

■ **gp210** possède une extrémité amino-terminale glycosylée, située dans la lumière de l'espace périnucléaire voisin du complexe de pore, un simple domaine transmembranaire et une courte terminaison carboxy-terminale qui fait partie du complexe de pore nucléaire. La glycoprotéine 210 pourrait jouer un simple rôle de maintien des filaments rayonnés comme une bande adhésive. Cependant, l'introduction d'un anticorps anti-gp210, dans l'espace périnucléaire, inhibe les transports à travers le NPC. Pom152 isolée chez la Levure, possède une région amino-terminale (175 résidus) et une région carboxy-terminale (1 142 résidus) placées respectivement du côté du pore et du côté de l'espace périnucléaire. La surproduction de cette protéine provoque une inhibition de la croissance cellulaire. Pom121 a été également isolée chez la Levure. Elle fait probablement partie des filaments rayonnés. La plus grande partie de la molécule est située du côté du pore.

■ **L'anneau nucléoplasmique** contient une protéine Nup116 porteuse d'une séquence répétitive d'acides aminés GLFG (glycine, leucine, phénylalanine, glycine), caractéristique de la sous-famille de nucléoporines à laquelle elle appartient. Cette protéine est impliquée dans le maintien soit de l'anneau nucléoplasmique, soit des deux anneaux. Son absence inhibe le transport de l'ARNm.

■ **Le complexe central** est inconstant dans les expériences d'isolement de pores et d'imagerie. Certains y voient donc une macromolécule en transit, d'autres un bouchon (il est d'ailleurs appelé *central plug* dans la littérature anglaise) dont les mouvements pourraient ouvrir ou fermer le pore et réguler les mouvements passifs des molécules de poids moléculaire intermédiaire (10 kDa). Enfin, certains biologistes le considèrent comme faisant partie intégrante du pore mais il subirait de fortes déformations lors du passage de macromolécules : son diamètre intérieur pourrait alors être beaucoup plus grand.

L'anneau cytoplasmique contient diverses protéines, en particulier une glycoprotéine gp210 et des protéines pom152 et 121 (pore membrane protein; protéine de la membrane du pore 152 et 121 kDa).

Huit filaments cytoplasmiques sont attachés aux sous-unités de l'anneau cytoplasmique (un filament par sous-unité) et s'étendent à une certaine distance dans le cytoplasme.

■ L'anneau nucléoplasmique

L'anneau nucléoplasmique a une structure voisine de l'anneau cytoplasmique (21 MDa). Il est constitué lui aussi de 8 sous-unités protéiques. Sur la face nucléaire de chacune de ces sous-unités, s'insèrent des filaments nucléoplasmiques qui se terminent au contact d'un petit anneau nucléoplasmique d'un diamètre de 30 à 40 nm. L'ensemble filaments/petit anneau nucléoplasmique constitue une sorte de cage, le *panier fibreux*. Les molécules du réseau de la lamina pourraient s'ancrer sur cet anneau et jouer un rôle de soutien.

■ Le complexe rayonné

Le complexe rayonné (52 MDa) lie les anneaux au transporteur central. Il est placé entre deux anneaux, l'anneau cytoplasmique et l'anneau nucléoplasmique qu'il réunit au transporteur central. Le domaine externe de chaque rayon s'étend dans la lumière de l'espace périnucléaire : il est appelé *domaine luminal*. Le domaine interne se termine au contact du transporteur.

■ Le complexe central ou canal central

Une volumineuse particule, appelée transporteur ou complexe central du pore, occupe le centre du complexe rayonné. Ce transporteur est traversé par un canal de 9 nm de diamètre. Les fonctions de ce complexe central sont mal connues.

■ Les canaux périphériques

Ils sont au nombre de 8, compris entre les filaments rayonnés (sous-unités internes) et les deux anneaux cytoplasmique et nucléoplasmique. Les ions et les petites molécules transiteraient par ces canaux.

Importation et exportation *via* les pores nucléaires

Les pores contrôlent les transports nucléocytoplasmiques, aussi bien dans le sens cytoplasme → noyau (importation) que dans le sens noyau → cytoplasme (exportation). Le transport à travers les pores est une activité essentielle de l'enveloppe nucléaire. Ainsi, une cellule HeLa (appartenant à une lignée cellulaire isolée et mise en culture à partir d'un carcinome de l'utérus d'une patiente nommée Helen Lane), qui contient 10 millions de ribosomes et se divise toutes les quatre heures, doit importer 560 000 protéines ribosomales et exporter 14 000 sous-unités ribosomales, ce qui signifie que chaque minute, dans chaque pore, 100 protéines ribosomales et 3 ribosomes traversent le pore.

■ Les transports passifs

Les transports passifs n'entraînent pas de dépense d'énergie.

Les ions franchissent ainsi les pores nucléaires : la concentration en Na^+ et K^+ atteint, dans le noyau, le double de celle du cytoplasme. Les petites molécules, d'un poids moléculaire inférieur à 5 kDa, entrent dans le noyau en empruntant la même voie que les ions. Il s'agit des acides aminés, des mono- ou des disaccharides. Le transport passif intéresse aussi les protéines dont le PM est inférieur à 44 kDa. Ces transports s'effectuent dans les deux sens, peut-être par les canaux latéraux (tous les biologistes ne sont pas d'accord sur cette éventualité).

■ Les transports actifs

Les transports actifs intéressent des molécules d'un PM supérieur à 44 kDa. La vitesse de passage est inversement proportionnelle à la dimension de la molécule : les molécules de 20 kDa mettent 2 à 3 minutes, celles de 40 kDa 30 minutes pour franchir le pore. Les mouvements de protéines ont lieu tant dans le sens cytoplasme → noyau (*importation*) que dans le sens noyau → cytoplasme (*exportation*). De plus, de nombreuses protéines cellulaires et virales font la navette entre le cytoplasme et le noyau : il s'agit de certaines des protéines des hnRNPs qui participent au transport de l'ARNm, de facteurs de transcription et des protéines Rev (regulation of expression of viral proteins; régulation de l'expression des protéines virales) des rétrovirus.

L'importation des protéines à NLS

Les protéines cytoplasmiques destinées au noyau sont désignées par les termes de protéines caryophiles ou nucléaires : il s'agit des enzymes de la réplication ou de la transduction, de certaines des protéines des futures RNPs, des complexes ligands/récepteurs hormonaux à transloquer, des facteurs de transcription. Ces protéines portent une séquence signal d'adressage nucléaire, NLS (nuclear localization signal; signal de localisation nucléaire), responsable de la sélectivité du transport nucléaire à travers les pores.

Les séquences signal NLS sont formées par 4 à 8 acides aminés (la lysine et l'arginine qui sont associées à la proline). Ces séquences sont chargées positivement et localisées en n'importe quel point de la protéine. Elles marquent constamment aussi bien les protéines cytoplasmiques à importer que les protéines nucléaires séjournant dans le noyau. Les protéines porteuses du signal NLS sont reconnues dans le cytoplasme par l'*importine* (aussi dénommée caryophérine) (fig. 4.37). L'importine est constituée par deux sous-unités : l'*importine α* et l'*importine β* séparées dans le cytoplasme. La protéine NLS se combine à l'*importine α*. Le complexe protéine à NLS/*importine α* s'associe à l'*importine β*. Le complexe ainsi formé traverserait le pore nucléaire par interactions successives avec les nucléopores. L'importine libère son cargo dans le nucléoplasme : les sous-unités *α* et *β* repassent dans le nucléoplasme et peuvent assurer un autre transport.

L'exportation des protéines à NES (nuclear export signal; signal d'exportation nucléaire)

La voie d'exportation des protéines nucléaires vers le cytoplasme a été découverte grâce à l'étude d'un système viral, le HIV (VIH). Le virus détourne cette voie de transport des protéines cellulaires pour assurer l'exportation de ses ARN partiellement ou pas épissés dans le cytoplasme. Ce transport ne peut en effet être réalisé par la machinerie de transport des ARNm cellulaires, car ces ARN viraux sont immatures (ils sont nécessaires à l'expression des protéines de l'enveloppe en fin de cycle viral et à la constitution du stock d'ARN génomique à emballer dans les

■ Dans le cytoplasme, la protéine caryophile se lie à l'*importine α* par son NLS, après démasquage du signal NLS par des protéines chaperonnes Hsp. Le domaine IBB (importine binding domain; domaine de liaison avec l'importine) de l'*importine α*, situé près de l'extrémité carboxy-terminale, interagit avec l'*importine β* : il se forme un complexe protéine caryophile/*importine α*/*importine β* qui se fixe sur l'anneau cytoplasmique sans dépense d'énergie. La translocation (traversée du canal du pore) est GTP-dépendante.

Une petite protéine G, la GTPase Ran (ras-related nuclear protein; protéine nucléaire apparentée à ras) intervient dans le contrôle de la direction du transport. Elle existe en effet sous deux formes (liées au GTP ou au GDP) distribuées de part et d'autre du pore. Dans le cytoplasme, Ran, sous l'action de ses protéines activatrices (GAP), hydrolyse le GTP : la forme cytoplasmique est donc RanGDP. Au contraire, dans le noyau, sous l'action du facteur d'échange de Ran (RCC1), le GDP est remplacé par du GTP. La forme nucléaire est donc RanGTP. Dans le cytoplasme, en présence de RanGDP, le complexe importines/protéine à NLS est stabilisé, ce qui permet l'adressage au pore puis la translocation. Arrivé dans le noyau, le complexe est désormais associé à RanGTP. Il est alors destabilisé : la protéine à NLS est relarguée dans le nucléoplasme.

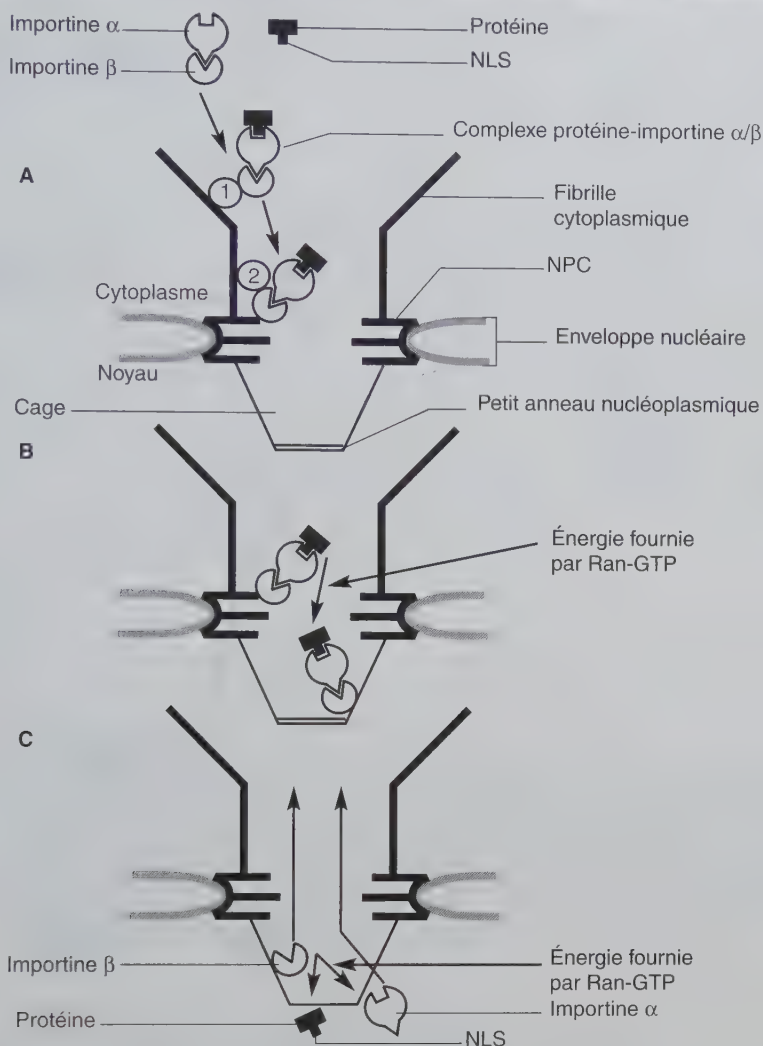
Fig. 4.37

Importation des protéines dans le noyau.

A. Reconnaissance de la protéine par l'hétérodimère d'importine α/β . Arrimage de la protéine aux fibrilles du NPC. 1. et 2. Fixation du complexe protéine-importine α/β sur les fibrilles cytoplasmiques et l'anneau cytoplasmique.

B. Translocation du complexe.

C. Libération de la protéine et recyclage du transporteur.



nouveaux virions). Le VIH code une protéine Rev (regulation of expression of viral proteins; régulation de l'expression des protéines virales), qui, en interagissant avec une séquence RRE (Rev responsive element; élément de réponse à Rev) contenue dans ses ARN incomplètement épissés, autorise leur exportation.

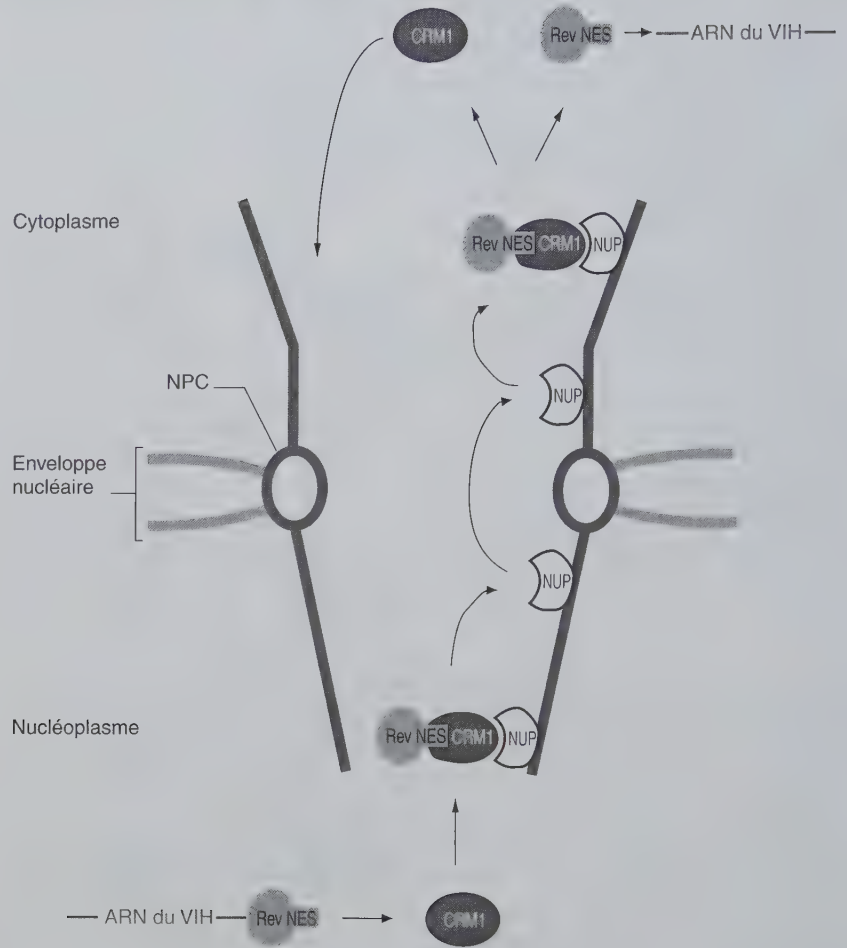
Rev contient un signal d'exportation, NES, riche en leucine, responsable de l'adressage, à la machinerie de transport, des protéines vers le cytoplasme. Une protéine de la famille des importines, CRM1 (ou exportine-1), est le transporteur qui reconnaît le NES et adresse la protéine Rev et les ARN viraux au pore nucléaire (fig. 4.38).

Des NES ont été trouvés par la suite dans plusieurs protéines cellulaires qui sont exportées vers le cytoplasme par cette voie CRM1-dépendante.

Si nous comparons l'exportation avec l'importation nucléaire, il est peut-être plus facile de considérer Rev comme un adaptateur entre l'ARN viral et la machinerie d'exportation des protéines, CRM1 étant l'équivalent des importines, NES étant l'équivalent de NLS.

Fig. 4.38

Exportation nucléaire dépendant de Rev. Le complexe Rev/ARN partiellement épis-sé du VIH est pris en charge dans le noyau par le trans-porteur CRM1 *via* le signal d'exportation NES de Rev. Ce complexe est transloqué dans le cytoplasme par interactions successives avec les nucléoporines (NUP) du complexe du pore nucléaire (NPC). CRM1 retourne dans le noyau tandis que l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme. Cette voie est normale-ment empruntée dans la cellule non infectée par les protéines cellulaires possédant un NES.



Le cas particulier des protéines à domaine M9

Cette voie, récemment identifiée, concerne certaines des protéines des hnRNPs, comme hnRNP A1, qui font la navette entre noyau et cytoplasme. Ces protéines possèdent une séquence signal, différente de NLS ou de NES, qui assure à elle seule le mouvement cyclique d'importation et d'exportation. Ce signal, dénommé M9, est constitué par un domaine de 38 acides aminés, riche en glycine et en résidus aromatiques. Il est reconnu par un récepteur cytoplasmique spécifique, la *transportine*. La translocation dans le noyau du complexe transportine/protéine à domaine M9 dépend également de la GTPase Ran. Le transporteur, qui assure le retour dans le cytoplasme des protéines « navettes » à domaine M9, distinct de la transportine, n'est pas identifié à l'heure actuelle.

L'exportation des ARN

Plusieurs voies de transport, spécifiques de chaque classe d'ARN, sont décrites.

Les ARNt sont exportés par un transporteur spécifique, l'*exportine-t*.

Dans les œufs de *Xenopus laevis*, l'exportation de l'ARN 5 S dépend de protéines possédant un NES semblable à celui de Rev. Deux protéines, les protéines TFIIA et L5 interviennent dans l'exportation.

■ Le rôle de la **protéine cellulaire TAP** dans l'exportation des ARNm a été découvert grâce à l'étude de systèmes viraux. Il s'agit des rétrovirus simples tels que le virus simien D et le virus de Mason-Pfizer. Comme les rétrovirus complexes (VIH), ils doivent exporter des ARN non épissés au cours de leur cycle viral mais ne codent pas, eux, d'homologues de Rev. Leurs ARN possèdent une séquence nécessaire à leur transport dans le cytoplasme. Cette séquence interagit avec une très haute affinité avec TAP. Il s'est ensuite avéré que, dans la cellule non infectée, ce sont les ARNm qui interagissent normalement avec cette protéine.

Un complexe protéique nucléaire CBC (cap-binding protein complex; complexe protéique se liant à la coiffe), lié à la coiffe des snRNA, est nécessaire à l'exportation de ces derniers dans le cytoplasme (où ils subiront leur maturation particulière). Ce complexe est ajouté cotranscriptionnellement à tous les transcrits de l'ARN polymérase II, comprenant l'ARNm et la plupart des snRNA. CBC comprend deux protéines, CBP80 et CBP20.

L'exportation de l'ARNm obéit à plusieurs conditions : l'ARNm doit avoir achevé sa maturation (dans des conditions normales, un ARNm possédant encore des introns ne peut être exporté); l'épissage doit être terminé. Il ne doit pas présenter d'anomalie de la coiffe. Le rôle de CBC dans le transport des ARNm ne semble pourtant pas primordial. En revanche, les protéines des hnRNPs, telles que hnRNP A1, qui accompagnent l'ARNm lors de leur passage du noyau au cytoplasme, sont de bons candidats à un rôle dans l'adressage de l'ARNm au pore. Une protéine cellulaire récemment découverte, la **protéine TAP** (transporter associated protein, protéine transporteuse associée à des antigènes), qui interagit directement avec les ARNm et possède un signal d'exportation, est aussi impliquée. Le signal d'exportation de TAP, cependant distinct des NES riches en leucine, est pris en charge par le transporteur CRM1, ce qui suggère qu'une voie de transport spécifique est empruntée par les ARNm.

L'ARNm, avec ses protéines accompagnatrices comme hnRNP A1, se fixe par l'intermédiaire de sa coiffe sur l'anneau nucléaire, puis il engage son extrémité 5' dans le complexe central et traverse le pore : une fois dans le cytoplasme, il abandonne les protéines accompagnatrices, se combine avec des protéines uniquement cytoplasmiques et gagne les ribosomes.

Les pores sont construits à partir d'une unité centrale en forme de disque, le « plug-spoke » complex (complexe rayon-bouchon) placé en sandwich entre les anneaux nucléoplasmique et cytoplasmique. Le NPC (côté nucléoplasmique) est attaché à la lamina et au panier fibreux. Huit fibres émanent de l'anneau cytoplasmique. Un granule central (inconstant), le transporteur, occupe l'axe du NPC.

Le nucléole

Le nucléole est un organite nucléaire, non limité par une membrane, responsable de la synthèse des acides ribonucléiques des ribosomes, présent dans le noyau au cours de la totalité des phases G1, S, G2 et disparaissant pendant la mitose.

Sa fonction principale est la biogenèse des ribosomes, un processus qui nécessite :

- la transcription de l'ADNr par l'ARN polymérase I en un pré-ARNr 45 S dont le clivage donne trois des quatre ARNr, les ARNr 5,8 S, 18 S et 28 S (le 4e, l'ARNr 5 S est synthétisé en dehors du nucléole par l'ARN polymérase III);
- la maturation de l'ARNr néoformé et son assemblage immédiat, dans le noyau, avec des protéines ribosomales d'origine cytoplasmique.

Les cellules eucaryotes, au cours de leur évolution, ont développé un nucléole en dépit du fait que leurs ancêtres, les Procaryotes, étaient capables de synthétiser des ribosomes en l'absence de cette structure. Le nucléole renforce l'efficacité des synthèses.

Morphologie en microscopie optique

En MO, cet organite (fig. 4.39) apparaît sous la forme d'un granule réfringent, sphérique ou ovale, entouré plus ou moins complètement d'un *anneau de chromatine*. Le nucléole comprend en effet :

Fig 4.39

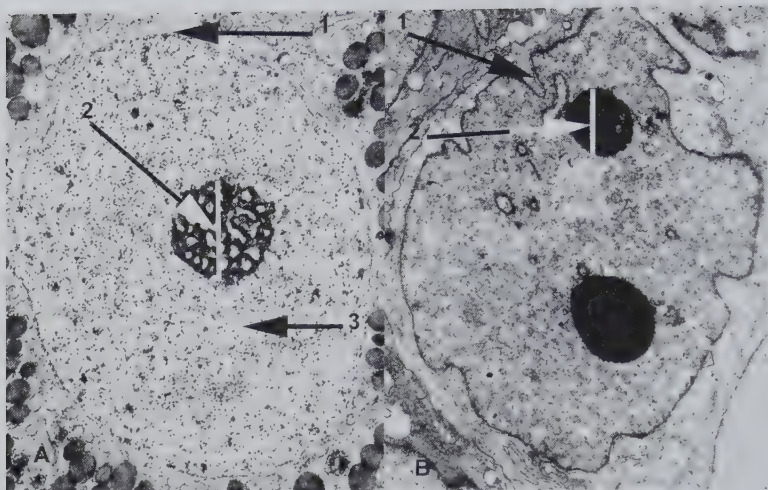
Le nucléole.

A. 1. Enveloppe nucléaire.

2. Nucléole réticulé. 3. Nucléoplasme.

B. 1. Enveloppe nucléaire.

2. Nucléole compact.



– la *chromatine périnucléolaire*, qui se dispose sous la forme d'un croissant entourant plus ou moins complètement le corps nucléolaire : elle présente des propriétés physiques singulières qui permettent d'isoler des nucléoles intacts par ultracentrifugation (le calcium durcit cette zone de chromatine; en l'absence de calcium le nucléole se gonfle et perd ses caractères morphologiques);

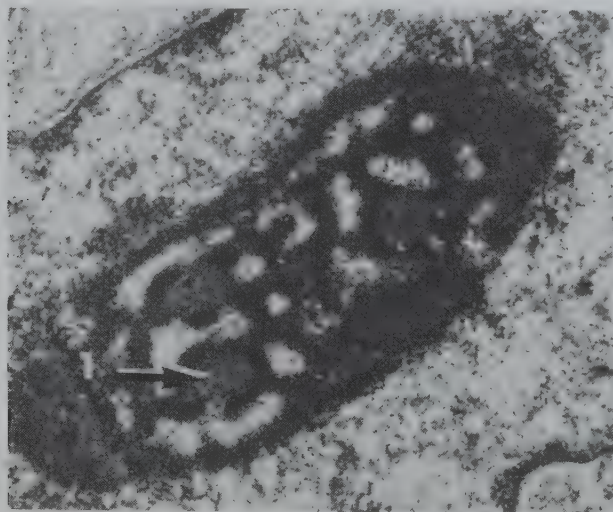
– le *corps nucléolaire*, en général sphérique, qui correspond à la partie du nucléole entourée de chromatine périnucléolaire. Les colorations par l'azur C, le bleu de toluidine, le montrent sous l'aspect d'un corps dense, homogène, dont la taille (1 à 2 μm en moyenne) varie dans les cellules normales.

Morphologie en microscopie électronique

La microscopie électronique révèle les constituants macromoléculaires du nucléole (constituants fibrillaires et granulaires), leur disposition, leur organisation dans le nucléole, ainsi que leur rapport avec l'ADN (fig. 4.40). Nous nous limiterons à la description des *nucléoles réticulés*, forme la plus fréquente chez l'Homme.

Fig. 4.40

Nucléole réticulé ($\times 30\,000$).
Noter la présence de 3 centres fibrillaires dont l'un est indiqué par le chiffre 1. (Cliché du Service de Microscopie électronique, Département de Biologie humaine, Directeur : Pr Marc MAILLET, Tours.)



Les constituants nucléolaires se répartissent dans une matrice dense, à distribution réticulée, chaque maille du réseau ayant une épaisseur de 0,1 à 0,2 μm de diamètre. Entre les mailles se détachent des surfaces claires (dénommées vacuoles par le Comité de la nomenclature nucléolaire, terme qui prête à confusion; les termes d'interstice nucléolaire, nucleolar interstitia, semblent mieux convenir).

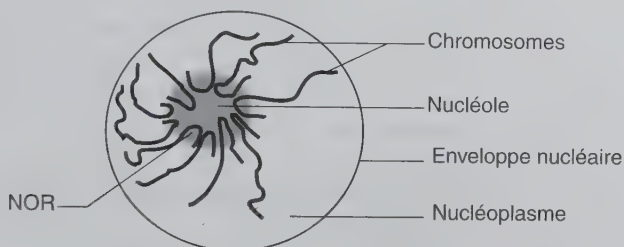
Organisation du nucléole

■ Les NORs

Le nucléole contient de grandes boucles d'ADN, appartenant à cinq paires de chromosomes (fig. 4.41). Chacune de ces boucles contient un groupe de gènes d'ARNr (une quarantaine environ par chromosome, soit 200 par génome haploïde). L'ADNr (ADN dont la transcription est l'ARNr 45 S) est en effet un gène amplifié. Chacun de ces groupes constitue un *centre organisateur nucléolaire* ou NOR (nucleolar organizing center).

Fig. 4.41

Les centres organisateurs. Les NORs, portés par les bras courts des chromosomes acrocentriques au niveau d'une zone de constriction secondaire, sont situés dans le nucléole.



Les NORs sont localisés dans les *constrictions secondaires* des bras courts des chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21, 22.

Les gènes qui entrent dans la constitution de NOR sont séparés par des *espaces intergéniques* non transcrits. Chaque gène comprend des *espaces intragéniques* (qui sont transcrits). Deux de ces espaces sont situés à l'extrémité 5' et 3' de chaque gène, deux séparent les segments d'ADNr qui donneront, par transcription, l'ARNr 45 S, d'où dérivent après maturation les ARNr 18 S, 5,8 S et 28 S. Ces groupes de gènes sont disposés en tandem.

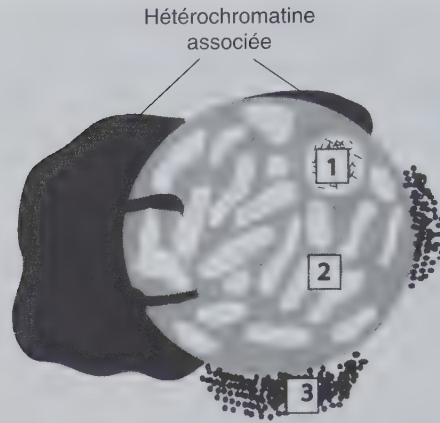
■ Les trois régions nucléolaires

Chez les Eucaryotes, le nucléole est organisé en trois régions distinctes, clairement visibles en microscopie électronique (fig. 4.42) :

- une région plus claire, le *centre fibrillaire*, qui contient des protéines impliquées dans la transcription, c'est-à-dire, l'ARN polymérase I, l'ADN polymérase I, les facteurs de transcription UBF (upstream-binding factor; facteur de transcription en aval qui est un facteur auxiliaire augmentant l'activité de la polymérase I) et une protéine, la *nucléoline*;
- une zone dense située autour du centre fibrillaire, zone appelée *composant fibrillaire dense*, qui contient une protéine, la *fibrillarine*, associée à des snoRNPs (small nucleolar RNPs; petites ribonucléoprotéines nucléolaires) et impliquée dans le clivage du pré-ARNr et dans l'assemblage post-transcriptionnel des préribosomes;
- une troisième zone, qui entoure la précédente : c'est le *composant granulaire* qui contient des *préribosomes*.

Fig 4.42

Représentation schématique des trois régions nucléolaires.
1. Centre fibrillaire.
2. Composant fibrillaire dense (les sites de transcription sont localisés entre le centre fibrillaire et le composant granulaire et le composant granulaire).
3. Composant granulaire (stockage des préribosomes).



Synthèse des ARN ribosomaux

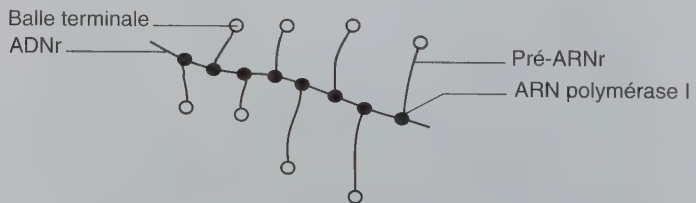
Le nucléole est le siège de la synthèse de 3 ARNr. L'ADNr se localise essentiellement dans la région dense fibrillaire qui entoure le centre fibrillaire. C'est dans cette zone que s'effectue la transcription. Les unités de transcription de l'ADNr sont liées au centre fibrillaire contenant l'ARN polymérase I et l'ADN topoisomérase.

■ Transcription par l'ARN polymérase I

De nombreuses molécules d'ARN polymérase I lisent l'ADNr dans le sens $3' \rightarrow 5'$. Les transcrits en cours de formation sont ancrés aux gènes de l'ARNr par des particules espacées de 10 à 14 nm, qui contiennent de l'ARN polymérase I : leur extrémité $5'$ transporte un granule d'un diamètre de 25 nm, la « balle terminale ». Les transcrits, pour un seul gène, sont si nombreux qu'ils se disposent perpendiculairement les uns aux autres, de telle sorte que chaque unité de transcription a la forme caractéristique en « sapin de Noël » (voir fig. 4.26). La cime de l'arbre correspond au site où commence la transcription. Ces *balles terminales* (fig. 4.43) sont des complexes qui interviennent dans la maturation des pré-ARNr : elles sont constituées par U3 snoRNP et des protéines qui s'assemblent étroitement avec l'extrémité $5'$ de l'espaceur transcrit.

Fig. 4.43

Transcription d'un gène d'ARNr. Un gène codant l'ARNr est lu simultanément par plusieurs complexes de transcription. Les molécules de pré-ARNr naissantes portent, à leur extrémité, un granule, « la balle terminale », formé de complexes intervenant dans la maturation.



■ Contrôle de la transcription

La *nucléoline*, une protéine de liaison avec l'ARN, est une protéine navette entre le noyau et le cytoplasme. Elle intervient dans la régulation de la transcription.

Lorsqu'elle est phosphorylée, elle libère les histones H1 et permet la transcription : déphosphorylée, elle inhibe la transcription de l'ADN en ARNr 45 S.

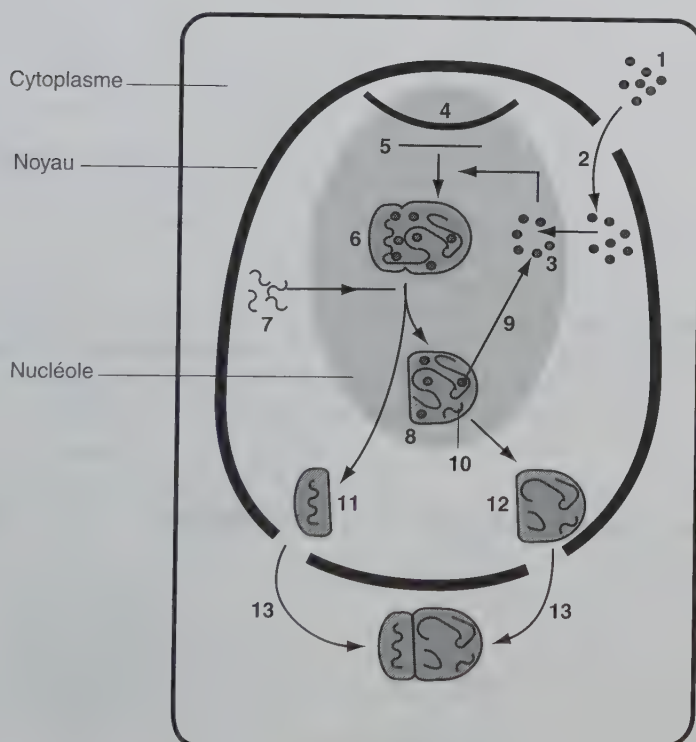
La transcription dépend également de la quantité de ribosomes présents dans le cytoplasme. Le *thioacétamide* (CH_3CSH_3) induit une biosynthèse accrue de l'ARNr. Or, le thioacétamide provoque des lésions de la membrane lysosomale, ce qui entraîne une destruction massive des ribosomes : leur quantité baisse de 50 à 75 %. Le nucléole répond par une hypertrophie accompagnée d'une production accrue d'ARNr. Il existerait un système de rétroaction (feed-back) ; les ribosomes eux-mêmes, ou un produit ribosomal, auraient un effet inhibiteur. Leur destruction lèverait donc l'inhibition.

Assemblage des protéines ribosomales

Les protéines des futurs ribosomes s'assemblent dans le nucléole (fig. 4.44). Les protéines ribosomales sont synthétisées dans le cytoplasme : certaines pénètrent dans le noyau grâce à une séquence NLS. Les protéines destinées aux nucléoles sont porteuses d'un domaine riche en glycine et en arginine (GAR) et d'un domaine RRM (RNA recognition motif ; motif de reconnaissance de l'ARN) capable d'interagir avec un motif de reconnaissance de l'ARN.

Fig. 4.44

Le nucléole et la synthèse des ribosomes. 1. Protéines ribosomales situées dans le cytoplasme. 2. Importation des protéines ribosomales dans le nucléole. 3. Passage des protéines ribosomales dans le nucléole. 4. Boucle d'ADN porteuse de gènes codant pour l'ARNr. 5. Précurseur de l'ARNr 45 S. 6. Particule constituée de RNPs assemblées autour du précurseur de l'ARNr 45 S. 7. ARNr 5 S synthétisé hors du nucléole : il gagne le nucléole pour s'incorporer dans la future grande sous-unité. 8. Grande sous-unité non mature. 9. Recyclage des nucléotides excisés et des protéines intervenant dans la maturation. 10. ARNr 5 S. 11. Petite sous-unité. 12. Grande sous-unité. 13. Transport et activation des sous-unités.



L'importation dans le nucléole dépend de multiples interactions de la protéine porteuse des domaines RRM et GAR avec des macromolécules déjà présentes dans le nucléole. Par exemple, la nucléoline est une protéine navette caryophile qui possède un signal NLS. Elle ne peut pénétrer dans le nucléole qu'en se combinant soit avec de l'ARN, soit avec une protéine nucléolaire. Il en est de

même pour la protéine Rex, une protéine (homologue de Rev), du rétrovirus humain HTLV1, qui pénètre dans le nucléole en se combinant avec une protéine nucléolaire, la protéine B23, un facteur présumé d'assemblage des ribosomes. Cette protéine B23 appartient à ce groupe de protéines navettes entre le noyau et le cytoplasme.

L'assemblage des protéines ribosomales sur l'ARNr démarre avant que la transcription de l'ARN précurseur ne soit terminée.

L'ARNr 5 S (ARN synthétisé hors du nucléole par action de l'ARN polymérase III à partir d'un groupe de gènes extranucléolaires disposés en tandem) et l'ARNr 45 S sont insérés dans un complexe protéique (formé par les protéines ribosomales) comprenant déjà la presque totalité des 80 polypeptides qui constituent le ribosome.

Des protéines de liaison, comme la *nucléoline*, ainsi que des petites particules ribonucléoprotéiques, par exemple U3 snoRNP, s'incorporent au nucléole pour contrôler l'assemblage des protéines en un ribosome.

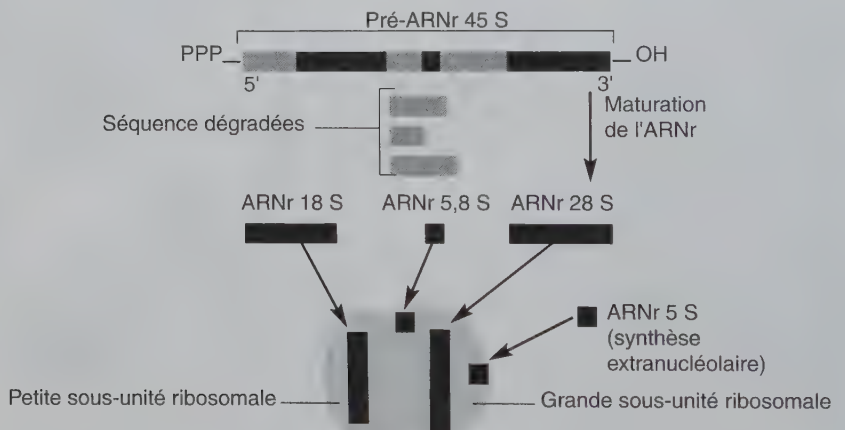
L'U3 snoRNP contient une protéine, la *fibrillarine* (34 kDa), indispensable au déroulement des diverses étapes de la maturation et à la méthylation des ARNr.

■ Maturation de l'ARNr

L'ARNr transcrit à partir de l'ADNr est une molécule de grande taille (45 S), qui contient les ARNr 18 S, 5,8 S et 28 S, séparés par des espaceurs intragéniques transcrits.

La maturation de l'ARNr (fig. 4.45), qui se déroule dans un préribosome, se caractérise par une perte de fragments d'ARN (et des protéines associées), par un clivage des espaceurs intragéniques par des nucléases (donc, selon un mécanisme très différent de l'épissage des introns des gènes de classe II).

Fig. 4.45
Maturation du pré-ARNr 45 S.
Formation des ARNr 18 S, 5,8 S
et 28 S.



Le clivage des espaceurs intragéniques non transcrits

Il dépend de divers facteurs dont on connaît mal le mécanisme d'action. Il s'agit de complexes formés par les snoRNA avec des protéines nucléolaires, par exemple la fibrillarine chez la Levure, la nucléoline chez l'Homme, NopI (nucleolar protein; protéine nucléolaire) chez la Levure. Le clivage de l'ARNr 18 S, chez la Levure,

dépend de l'action combinée de NopI (un homologue chez la Levure de la fibrillarine) et de Gar1 (glycinamide ribonucléotide).

Le clivage des espaceurs transcrits

Le pré-ARNr, avant de subir la série de coupures endo et exonucléolytiques qui libèrent les ARNr mûrs, subit des modifications de deux types : une conversion des molécules d'uridine en pseudo-uridines et des méthylations, principalement sur le ribose mais aussi sur quelques bases, dont on ignore encore la signification. Puis, le pré-ARNr se clive en un précurseur destiné à la petite sous-unité (ARN 18 S) et un précurseur destiné à la grosse sous-unité qui contient déjà l'ARNr 5 S fabriqué en dehors du nucléole : des complexes snoRNPs/protéines interviennent dans le clivage. Le clivage du précurseur d'ARNr de la grosse sous-unité aboutira à la formation des ARNr 5,8 S et 28 S. Les deux sous-unités migrent séparément vers le cytoplasme en empruntant un pore. La maturation des ribosomes s'achève quand les sous-unités sont dans le cytoplasme.

Dynamique des nucléoles au cours du cycle cellulaire

Les nucléoles sont indispensables à un déroulement normal de la mitose.

Des altérations importantes des nucléoles provoquent le blocage des cellules à la phase G2, phase qui précède la mitose (phase M). L'irradiation du nucléole par un microfaisceau d'UV inhibe la division cellulaire. De même, si la synthèse protéique est bloquée par l'actichrome ou le cycloheximide au cours de la prophase, juste avant la disparition du nucléole, la mitose se déroule mais les noyaux ne peuvent se reformer.

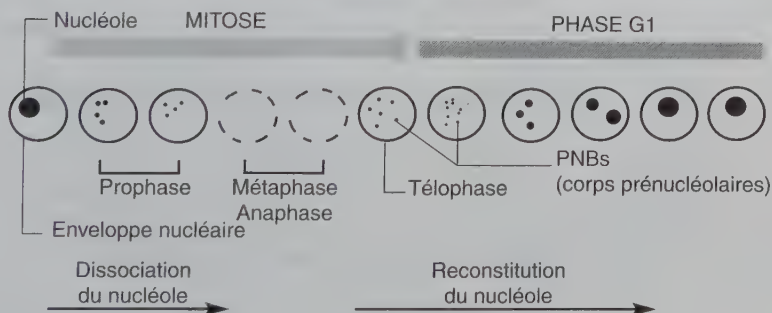
■ Rôle de l'ADNr dans la formation du nucléole

L'insertion d'un gène de l'ARNr dans une région euchromatique conduit à la formation d'un nucléole au niveau du site d'insertion. La formation initiale d'un nucléole requiert la transcription de l'ADNr par l'ARN polymérase I.

Au cours du cycle cellulaire, le nucléole décroît, puis disparaît pendant la prophase pour réapparaître à la télophase. Pendant la mitose, la synthèse de l'ARNr est stoppée, alors que les protéines qui interviennent dans la transcription de l'ADNr (ARN polymérase, ADN polymérase, UBF) restent associées à NOR (fig. 4.46).

Fig. 4.46

Le nucléole au cours du cycle cellulaire. Le noyau est représenté isolément : son enveloppe disparaît au cours de la métaphase et réapparaît à la télophase.



La reconstruction post-mitotique des nucléoles dépend de l'interaction de deux entités, les PNBs (pre-nucleolar bodies; corps prénucléolaires) et le NOR.

Les PNBs apparaissent au cours de la télophase : ils sont au nombre de 10 pour chacun des futurs noyaux. Ils sont dispersés dans les noyaux au cours du début de

la phase G1. Les PNBs contiennent des protéines caractéristiques du composant granulaire dense. Lorsque la transcription de l'ADNr est achevée, les PNBs s'agglomèrent autour des NORs du nucléole qui se reforme. Il se forme alors, dans chacune des cellules filles, 10 PNBs, qui grossissent rapidement et fusionnent en un nucléole interphasique.

■ Conditions du maintien de l'intégrité structurale

Le maintien de l'intégrité structurale dépend de l'activité transcriptionnelle des facteurs de transcription, des polymérases, des pré-ARNr naissants, des protéines et des snoRNA qui leur sont associés.

La polymérase I joue un rôle structural : ainsi, des levures mutantes dépourvues de polymérase I ne possèdent plus de nucléole mais des corps denses très riches en fibrillarine, appelés *corps mini-nucléolaires*, qui ressemblent à des fragments du composant fibrillaire dense induit par une inhibition de la transcription de l'ADNr.

Volume nucléolaire et activité cellulaire

Le nucléole subit des variations morphologiques dont certaines sont physiologiques (elles dépendent des conditions de fonctionnement normal de la cellule) et d'autres sont anormales ou pathologiques (elles apparaissent soit au cours de processus morbides, d'intoxication par des substances chimiques diverses, soit après emploi d'agents physiques).

Les augmentations de volume sont induites, par exemple, par des substances physiologiques comme les hormones qui contrôlent normalement l'activité cellulaire.

■ Un exemple de régulation de l'activité nucléolaire

Les androgènes contrôlent l'activité nucléolaire des cellules glandulaires prostatiques. La prostate, glande annexe du tractus génital mâle, dépend étroitement d'un type d'hormones, les *androgènes*, sécrétées par le testicule. Chez l'adulte, après castration, la prostate régresse. Cette régression est réversible : un traitement de substitution par la testostérone fait disparaître l'atrophie. Privées d'androgènes, les cellules n'élaborent qu'une quantité minime de protéines, insuffisante pour maintenir leur volume habituel, car le nucléole régresse et ne synthétise plus un nombre suffisant de ribosomes. L'injection d'androgènes provoque une stimulation nucléolaire, accroît la synthèse d'ARNr 45 S et augmente donc le nombre des ribosomes.

Variations morphologiques pathologiques

Dans des conditions pathologiques, le nucléole subit des altérations qui entraînent soit une inhibition, soit une stimulation anormale de son activité.

■ L'inactivation nucléolaire

L'inactivation nucléolaire provoque :

- soit une augmentation du nombre des nucléoles (cellules polyploïdes, cellules néoplasiques, déroulement anormal d'une mitose qui se caractérise par l'absence de cytodierèse et la reconstitution d'un seul noyau),
- soit une diminution des nucléoles (hypotrophie nucléolaire qui s'observe au cours de blocages par l'actinomycine, l'asparaginase, la daunomycine, la nogalomycine),

- soit l'expulsion nucléolaire qui est un phénomène plus rare exprimant la souffrance cellulaire,
- soit une vacuolisation nucléolaire, phénomène rare survenant après action, par exemple, de l'amphotéricine B,
- soit une fragmentation, altération pathologique survenant au cours de la phase de post-synthèse (phase G2) et provoquée par divers agents (daunomycine, ribonucléase, sarcolysine).

■ La ségrégation nucléolaire

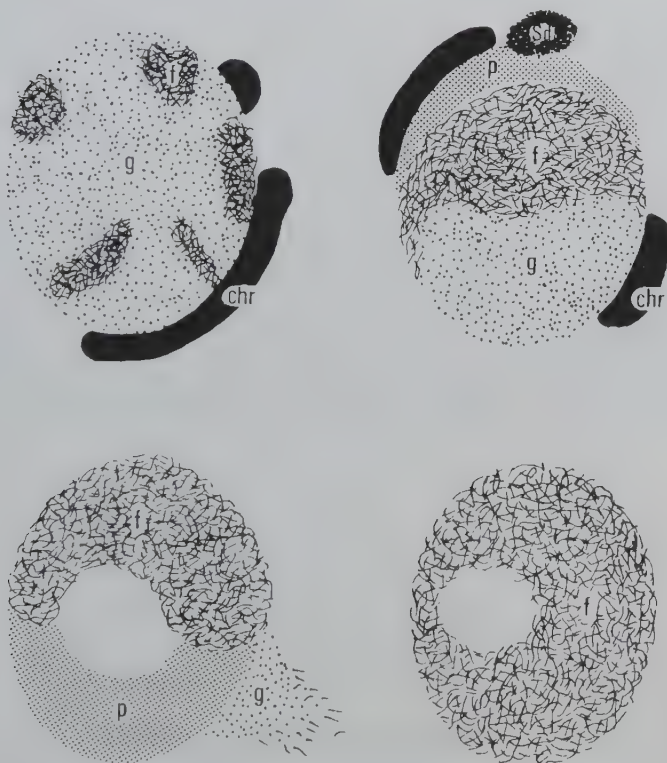
La ségrégation nucléolaire se définit par une séparation des divers constituants du nucléole (éléments fibrillaires, granulaires, matrice).

La ségrégation des nucléoles, bien que pressentie par les études en microscopie optique, mérite une place particulière : elle n'est visible qu'en microscopie électronique et elle accompagne la majorité des altérations précédemment énumérées. On distingue, en fonction de la dimension des zones occupées spécifiquement par l'un des constituants nucléolaires, de leur unité ou de leur multiplicité :

- une macroségrégation, (fig. 4.47),
- une microségrégation.

Fig. 4.47

Évolution de la ségrégation du matériel nucléolaire. f : fibrilles, g : granules, p : *pars amorpha*, Sd : substance dense, chr : chromatine associée. (Cliché de H. BUSCH et K. SMETANA; *The nucleolus*, Academic Press, 1970.)



La macroségrégation

La macroségrégation, qui intéresse surtout les nucléoles réticulés, se déroule en trois étapes.

Première étape. — 4 zones distinctes apparaissent dans le corps nucléolaire, par regroupement de chacun des éléments. Les éléments fibrillaires se groupent en une masse plus ou moins compacte, tandis que les éléments granulaires, les protéines de la matrice en font autant. Le nucléole est alors constitué par l'association de 4 zones ayant chacune leurs propres caractères morphologiques, qui permettent de les différencier. On distingue :

- une zone fibrillaire et une zone granulaire, toutes deux contenant de l'ARN;
- une *pars amorphe* de nature protéique;
- une substance dense, voisine du nucléole : sa composition n'est pas connue; elle pourrait cependant être constituée de ribonucléoprotéines disposées d'une manière très dense.

Deuxième étape. — La *pars amorphe* augmente de volume, tandis que la masse granulaire diminue et que la masse fibrillaire persiste.

Troisième étape. — Le corps nucléolaire ne renferme plus qu'une volumineuse masse fibrillaire.

La microségrégation

La microségrégation aboutit à la formation d'agrégats nucléolaires de petites dimensions. Ces agrégats multiples sont constitués soit d'éléments fibrillaires entourés de granules, soit d'éléments granulaires entourés de fibrilles. Les *micro-sphérules* sont des petites formations arrondies, formées d'éléments fibrillaires très denses, distribuées à la périphérie nucléaire. Elles s'apparentent aux agrégats nucléolaires décrits précédemment.

Agents causaux

La ségrégation s'observe après action d'agents chimiques ou physiques qui bloquent la formation de l'ARNr 45 S. Cet arrêt de la synthèse est provoqué :

- soit par altération du système ARN polymérase,
- soit par rupture des molécules d'ADN (chaleur, rayons X ou UV).

Les substances qui bloquent la formation de l'ARNr 45 S sont nombreuses. Seules quelques-unes sont données à titre purement indicatif. Ce sont :

- des antibiotiques antimétaboliques (actinomycine D, mitomycine C, chloromycine, cycloheximide, daunomycine, puromycine, rifamycine, etc.),
- des antimétaboliques non antibiotiques (acridine orange, adénosine, bromure d'éthidium, fluorouracile, nicotinamide, moutarde à l'azote, etc.),
- des substances carcinogènes,
- des toxines microbiennes,
- des agents physiques (chaleur, rayons X, UV).

■ L'hypertrophie nucléolaire

L'hypertrophie nucléolaire indique habituellement une stimulation du nucléole, d'origine physiologique, toxique ou pathologique. Elle s'accompagne d'une disparition des espaces clairs et des éléments fibrillaires, d'une augmentation de l'aspect compact, due à une élévation de la concentration des éléments granulaires et de la quantité d'ARNr 45 S.

Agents causaux

Ces agents sont variés; ils regroupent :

- le thioacétamide, la phytohémagglutinine, la pilocarpine, etc.;
- les radiations;
- les infections par l'adénovirus.

Transformation cellulaire et nucléoles

Le nucléole représente, pour les cytopathologistes, un organite de choix, puisque ses modifications structurales microscopiques font partie d'un ensemble de critères qui permettent de placer, sur une cellule, l'étiquette de cellule cancéreuse. Cette transformation du nucléole, dont nous connaissons mal le mécanisme, intéresse le volume qui est augmenté, le nombre, la forme. Il faut cependant insister sur le fait que ces altérations nucléolaires ne sont pas spécifiques du cancer, qu'elles ne sont pas suffisantes à elles seules pour affirmer le diagnostic, et qu'il est nécessaire qu'elles soient associées à d'autres modifications nucléaires ou cytoplasmiques. Cependant, les caractères nucléolaires sont une aide précieuse dans l'approche du diagnostic.

Le nucléole comprend un corps nucléaire sphérique associé à de la chromatine périnucléolaire. Le nucléole est le siège de la transcription des ADNr en pré-ARNr par l'ARN polymérase I. Le nucléole contient 200 gènes d'ARNr appartenant à 5 chromosomes (par génome haploïde). Ces gènes forment les NORs. Chaque nucléole comprend un centre fibrillaire entouré par le composant fibrillaire dense et le composant granulaire. La transcription de l'ADN en ARNr 45 S est contrôlée par la nucléoline et par le nombre des ribosomes. Les protéines ribosomales d'origine cytoplasmique commencent à s'assembler sur le pré-ARN en cours de synthèse. L'ARNr 45 S mûrit sans épissage. Les uridines des pré-ARNr sont converties en pseudo-uridines, tandis que le ribose est méthylé.

Les ARNr modifiés sont clivés en deux molécules, l'une pour la petite sous-unité (ARNr 18 S), l'autre pour la grosse sous-unité où elle subira un autre clivage (5,8 S et 28 S). Les protéines nucléolaires portent le signal GAR (glycine-arginine). Les altérations nucléolaires (UV, cycloheximide) inhibent la mitose. Les androgènes administrés à des animaux castrés rétablissent le volume du nucléole des cellules granulaires prostatiques. L'inactivation nucléolaire, en fonction de sa cause, s'accompagne d'une augmentation ou d'une diminution du nombre des nucléoles, d'une vacuolisation ou d'une fragmentation. La macroségrégation divise le nucléole en quatre zones : fibrillaire et granulaire (riches en ARN), amorphe et dense. L'hypertrophie nucléolaire signe généralement une hyperactivité nucléolaire.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

A	adénine (code à une lettre des acides aminés)
ADN	Acide DéoxyriboNucléique
ADNr	ADN ribosomal
AMP	Adénosine MonoPhosphate
AMPc	Adénosine MonoPhosphate cyclique
ARN	Acide RiboNucléique
ARNg	ARN guide
ARNm	ARN messenger
ARNr	ARN ribosomal
ARNt	ARN de transfert

ARS	Autonomous Replication Sequence; séquence autonome de réplication
ASF	Alternative Splicing Factor; facteur alternatif d'épissage
ATP	Adénosine TriPhosphate
BPS	Binding Protein Signal; signal de liaison des protéines
C	cytosine (code à une lettre des ac. aminés)
CB	Coiled Body; corps spiralé
CBC	Cap Binding protein Complex; complexe protéique se liant à la coiffe
CBP	Cap Binding Protein; protéine de liaison de la coiffe
CDP	Cytidine DiPhosphate
CRE	Cyclic AMP Responsive Element; élément sensible à l'AMP cyclique
CREB	Cyclic AMP Responsive Element Binding protein; protéine de liaison de l'élément sensible à l'AMP cyclique
CTP	Cytidine TriPhosphate
eEF	eucaryotic Elongation Factor; facteur d'élongation
eIF	eucaryotic Initiation Factor; facteur d'initiation
FAD	Flavine Adénosine Dinucléotide
G	guanine (code à une lettre des ac. aminés)
GAR	Glycine/ARginine
gp	glycoprotéine
GTP	Guanosine TriPhosphate
GTPase	Guanosine TriPhosphatase
HeLa	Helen Lane
HIV	Human Immunodeficiency Virus; virus de l'immunodéficience humaine
HLH	Helix-Loop-Helix; hélice-boucle-hélice
HMG	High-Mobility Group; groupe de haute mobilité
hnRNA	heterogeneous nuclear RNA; acide ribonucléique nucléaire hétérogène
hnRNP	heterogeneous nuclear RiboNucleoProtein; ribonucléoprotéine nucléaire hétérogène
hRip	human Rev interacting protein; protéine humaine interagissant avec Rev
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
HTLV	Human T cell Leukemia Virus; virus de la leucémie humaine à cellule T
IBB	Importine β Binding domain; domaine de liaison de l'importine β
Ins 1,4,5 P3	Inositol 1,4,5-triPhosphate
IP3R	Inositol 1,4,5-triPhosphate Receptor; récepteur de l'inositol 1,4,5-triphosphate
kb	kilobase (1 000 bases)
Leu zipper	Leucine zipper; fermeture éclair à leucine
MAP	Microtubule-Associated Protein; protéine associée au microtubule
MAR	Matrix-Associated Region; région associée à la matrice
ME	Microscopie Electronique
MO	Microscopie Optique

MUT	Mutator; mutation
NAD	Nicotinamide Adénosine Dinucléotide
NADP	Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate
NB	Nuclear Body; corps nucléaire
NBP	Nuclear Binding Protein; protéine nucléaire de liaison
NES	Nuclear Export Signal; signal d'exportation nucléaire
NLS	Nuclear Localization Signal; signal de localisation nucléaire
Nop	Nucleolar protein; protéine nucléolaire
NOR	Nuclear ORganizing center; centre d'organisation nucléaire
NPC	Nuclear Pore Complex; complexe du pore nucléaire
NuMA	Nuclear Mitotic Apparatus; appareil nucléaire mitotique
Nup	Nucléoporeine
ORC	Origine Recognition Complex; complexe de la reconnaissance de l'origine
OriC	Origine de réplication d' <i>Escherichia Coli</i>
PHA	PhytoHémAgglutinine
PKA	Protéine Kinase A
PNB	Pre-Nucleolar Body; corps prénucléolaire
pom	pore membrane protein; protéine membranaire du pore
R	Arginine
Ran	Ras-related nuclear protein; protéine nucléaire apparentée à Ras
Ras	Rat sarcoma; sarcome du rat
RBD	RNA-Binding Domain; domaine de liaison avec l'ARN
RE	Réticulum Endoplasmique
RecA	Recombinaison A
REG	Réticulum Endoplasmique Granulaire
rep	replication
Rev	Regulation of expression of viral protein; régulation de l'expression des protéines virales
RNP	Rapport NucléoPlasmatique
RNP	RiboNucléoProtéine
RRE	Rev Response Element; élément de réponse à Rev
RRM	RNA Recognition Motif; motif de reconnaissance de l'ARN
SAR	Scaffold-Associated Region; région associée à l'échafaudage
SF	Splicing Factor; facteur d'épissage
snoRNA	small nucleolar RNA; petit acide ribonucléique nucléolaire
snRNA	small nuclear RNA; petit acide ribonucléique nucléaire
snoRNP	small nucleolar RNP; petite ribonucléoprotéine nucléolaire
snRNP	small nuclear RNP; petite ribonucléoprotéine nucléaire
Snurp	Small nuclear ribonucleoprotein; petite ribonucléoprotéine nucléaire
Sos	Son of sevenless (voir explication p. 60)
SR	Serine/arginine-Rich; riche en sérine et en arginine
SSB	Single Strand Binding protein; protéine se liant à un simple brin
T	Thymine
TAP	Transporter Associated Antigen Protein; protéine transporteuse associée à des antigènes

TATA	Thymine/Adénine/Thymine/Adénine
TBP	TATA-Binding Protein; protéine de liaison à la boîte TATA
TF	Transcription Factor; facteur de transcription
U2AF	U2 Auxiliary Factor; facteur auxiliaire de U2
UBF	Upstream-Binding Factor; facteur de liaison en aval
UDP	Uridine DiPhosphate
UTP	Uridine TriPhosphate
UTR	UnTranslated Region; région non traduite

■ 1. À propos du noyau :

- ☐ 1. la transcription de l'ADN ne se produit que dans le noyau.
- ☐ 2. l'enveloppe nucléaire est une citerne du RE.
- ☐ 3. la structure nucléaire est maintenue par des éléments du cytosquelette.
- ☐ 4. les hématies anucléées sont des cellules eucaryotes.
- ☐ 5. des zones de communications spécialisées assurent le passage des molécules élaborées dans le cytoplasme.

■ 2. Les érythrocytes :

- ☐ 1. se différencient dans la moelle osseuse.
- ☐ 2. sont des cellules procaryotes, car dépourvues de noyau.
- ☐ 3. sont des cellules eucaryotes qui ont perdu leur noyau.
- ☐ 4. proviennent de la différenciation de cellules souches, les réticulocytes.
- ☐ 5. se différencient à partir des érythroblastes.

■ 3. À propos du noyau :

- ☐ 1. la forme du noyau est liée à l'activité cellulaire.
- ☐ 2. le volume nucléaire varie au cours du cycle cellulaire.
- ☐ 3. le volume nucléaire augmente au cours de l'activité cellulaire.
- ☐ 4. en dehors de la mitose et de la phase préparatoire à la mitose, le volume reste relativement constant pour un type cellulaire donné.
- ☐ 5. des noyaux polyploïdes ont le même volume que des noyaux diploïdes.

■ 4. Les nucléotides sont des constituants :

- ☐ 1. des désoxyribonucléotides.
- ☐ 2. de l'ADN et de l'ARN.

- ☐ 3. du coenzyme A.

- ☐ 4. de l'ATP.

- ☐ 5. de l'AMPc.

■ 5. La réplication de l'ADN :

- ☐ 1. conserve chacun des deux brins.
- ☐ 2. dépend de l'ADN réplicase.
- ☐ 3. dépend de l'ADN polymérase qui lit un brin dans le sens 3' → 5' et l'autre dans le sens 5' → 3'.
- ☐ 4. aboutit normalement à la formation de deux molécules d'ADN ayant la même structure et la même organisation.
- ☐ 5. se produit à partir d'un point initiateur situé dans une zone de séparation appelée œil de réplication.

■ 6. L'ADN nucléaire est associé d'une manière permanente :

- ☐ 1. aux histones (en dehors de la phase de réplication).
- ☐ 2. aux protéines leu zipper.
- ☐ 3. aux protéines à doigt de zinc.
- ☐ 4. aux lamines nucléaires.
- ☐ 5. aux ADN polymérases.

■ 7. Au cours de la réplication de l'ADN :

- ☐ 1. l'énergie est fournie par l'ATP.
- ☐ 2. l'œil de réplication est stabilisé par des molécules SSB.
- ☐ 3. l'hélicase, une molécule indépendante du réplisome, crée un œil de réplication.
- ☐ 4. une nucléase réversible sectionne la chaîne d'ADN en aval de la réplicase.
- ☐ 5. le réplisome lit et réplique une chaîne d'ADN dans le sens 3' → 5'.

■ 8. Au niveau de l'œil de réplication :

- ☐ 1. le brin parental orienté dans le sens 3' $\rightarrow$ 5' est lu et aboutit à la synthèse du brin tardif.
- ☐ 2. l'ADN polymérase reconnaît l'extrémité 3' grâce à une courte amorce d'ADN synthétase.
- ☐ 3. la réplication de l'autre brin est lue dans le sens 5' $\rightarrow$ 3' par l'ARN polymérase ADN-dépendante qui élabore le brin avancé après avoir synthétisé une amorce d'ARN.
- ☐ 4. le brin avancé synthétisé est décrit sous le nom de fragment d'Okazaki.
- ☐ 5. la réplication se fait toujours à partir de plusieurs yeux de réplication.

■ 9. Au cours de la correction sur épreuve de l'ADN :

- ☐ 1. un mésappariement crée une protubérance sur la molécule d'ADN.
- ☐ 2. une protéine MutS reconnaît une zone d'interruption du brin synthétisé.
- ☐ 3. une autre protéine MutL reconnaît une zone d'interruption du brin synthétisé.
- ☐ 4. la protéine MutL excise le segment compris entre le site de mésappariement et la zone d'interruption.
- ☐ 5. l'ADN polymérase recommence la synthèse du brin éliminé.

■ 10. Les ADN glycosylases reconnaissent :

- ☐ 1. des bases alkylées.
- ☐ 2. des bases possédant un cycle ouvert.
- ☐ 3. des cytosines désaminées.
- ☐ 4. des adénines désaminées.
- ☐ 5. les bases altérées et les éliminent.

■ 11. À propos des corrections des erreurs de la réplication effectuées en dehors de la phase S :

- ☐ 1. des ADN glycosylases reconnaissent la ou les bases altérées qu'elles sont susceptibles de reconnaître.
- ☐ 2. une ADN glycosylase élimine par excision la base non conforme.

- ☐ 3. le site modifié par l'ADN glycosylase ou site AP n'interrompt pas la molécule d'ADN.
- ☐ 4. la glycosylase élimine le désoxyribose par lyse de la liaison phosphodiester.
- ☐ 5. la même ADN polymérase intervient pendant la duplication et remplace le nucléotide excisé.

■ 12. Les gènes possèdent :

- ☐ 1. un promoteur qui contient une séquence TATA, inconstante, reconnue par TBP.
- ☐ 2. des introns, séquences codantes.
- ☐ 3. des exons qui sont éliminés par excision.
- ☐ 4. une activité transcriptionnelle indépendante des régions régulatrices.
- ☐ 5. une activité transcriptionnelle dépendant de régions régulatrices qui agissent directement sur les séquences codantes.

■ 13. L'ARNt :

- ☐ 1. est toujours monocaténaire.
- ☐ 2. possède des séquences auto-complémentaires.
- ☐ 3. possède une branche acceptrice dont la séquence terminale de l'extrémité 3' est toujours CCA.
- ☐ 4. fixe un nucléotide sur la branche acceptrice.
- ☐ 5. est associé par son extrémité 5' à une molécule de phosphate.

■ 14. Les ARNm matures :

- ☐ 1. sont toujours des copies de régions fonctionnelles du gène.
- ☐ 2. possèdent un codon de début de lecture UAG.
- ☐ 3. sont porteurs d'un des deux codons de fin de lecture UAA et UAG.
- ☐ 4. s'achèvent en 5' par une séquence poly(A).
- ☐ 5. se replient sur eux-mêmes après avoir été lus par un ribosome.

■ 15. Au cours de la transcription :

- ☐ 1. le promoteur devient fonctionnel lorsqu'une ou plusieurs protéines de liaison s'associent à l'ADN.

- ☐ 2. les facteurs TF d'initiation de la transcription, combinés avec l'ARN polymérase, se fixent sur l'ADN.
- ☐ 3. les facteurs TF d'initiation de la transcription se fixent sur l'ADN indépendamment de l'ARN polymérase.
- ☐ 4. une seule molécule d'ARN polymérase transcrit le gène.
- ☐ 5. plusieurs molécules d'ARN polymérase transcrivent le gène.

■ 16. À propos de la transcription de l'ADN :

- ☐ 1. une phosphorylation des histones précède la transcription.
- ☐ 2. la fibre nucléosomique se transforme en une fibre dite héminucléosomique.
- ☐ 3. les protéines acides permettent l'expression des gènes programmés pour chaque type cellulaire.
- ☐ 4. les protéines acides inhibent l'expression des gènes programmés pour chaque type cellulaire.
- ☐ 5. l'ARN polymérase individualise la fibre d'ADN à tous les niveaux entre les nucléosomes.

■ 17. Les facteurs de transcription :

- ☐ 1. contrôlent la transcription en se fixant sur le cœur du promoteur.
- ☐ 2. contrôlent la transcription en se fixant sur des séquences spécifiques.
- ☐ 3. modifient l'ordonnement du code génétique.
- ☐ 4. se fixent sur les séquences régulatrices en ouvrant la molécule d'ADN.
- ☐ 5. se fixent sur les séquences régulatrices sans ouvrir la molécule d'ADN.

■ 18. Au cours de l'amplification de la transcription :

- ☐ 1. le facteur de transcription se fixe sur le cœur du promoteur.
- ☐ 2. l'ADN compris entre l'amplificateur et le promoteur forme une boucle.
- ☐ 3. le facteur de transcription établit un seul contact avec le complexe de transcription.
- ☐ 4. le facteur de transcription se fixe sur le site d'amplification.

- ☐ 5. le facteur de transcription établit des contacts répétés avec le site de transcription.

■ 19. La répression de la transcription peut se faire par :

- ☐ 1. fixation d'une séquence inhibitrice sur le promoteur.
- ☐ 2. masquage de la surface d'activation.
- ☐ 3. inhibition par compétition.
- ☐ 4. fixation d'un facteur de transcription répresseur sur deux séquences symétriques d'ADN.
- ☐ 5. interaction avec le complexe de transcription.

■ 20. La polyadénylation de l'extrémité 3' :

- ☐ 1. intéresse tous les ARNm.
- ☐ 2. intéresse les ARNm histones.
- ☐ 3. intéresse les snRNAs.
- ☐ 4. intervient au cours de la maturation des ARN.
- ☐ 5. est associée à l'épissage au cours de la maturation.

■ 21. À propos de l'épissage :

- ☐ 1. les exons sont enlevés de l'ARN pré-messager.
- ☐ 2. les introns sont enlevés de l'ARN pré-messager.
- ☐ 3. des protéines SR contrôlent la formation du spliceosome.
- ☐ 4. il intéresse tous les ARN.
- ☐ 5. il dépend des snRNPs.

■ 22. L'édition :

- ☐ 1. intéresse les ARNm.
- ☐ 2. intéresse les ARNt.
- ☐ 3. intéresse les ARNr.
- ☐ 4. est un mécanisme post-transcriptionnel.
- ☐ 5. est un mécanisme cotranscriptionnel.

■ 23. À propos de l'ARNm :

- ☐ 1. tous les ARNm atteignent le cytoplasme.
- ☐ 2. l'ARNm est traduit dans n'importe quelle région du cytoplasme contenant des ribosomes.

- ☐ 3. l'ARNm est traduit en plus forte quantité lorsque eIF2 est phosphorylé.
- ☐ 4. l'ARNm de la ferritine est traduit grâce à l'aconitase.
- ☐ 5. une longueur des queues poly(A) supérieure à 30 Å déstabilise les ARNm.

■ 24. Les ARNm :

- ☐ 1. ont une durée de vie généralement inférieure à 10 heures.
- ☐ 2. sont dégradés par des endonucléases.
- ☐ 3. contiennent des séquences régulatrices qui accélèrent leur destruction.
- ☐ 4. subissent souvent une dégradation couplée à la traduction.
- ☐ 5. sont toujours monocaténares.

■ 25. À propos des nucléosomes :

- ☐ 1. ils occupent toujours la même place sur une molécule donnée d'ADN.
- ☐ 2. l'histone H1 impose un empilement des nucléosomes.
- ☐ 3. les zones dépourvues de nucléosomes contiennent les régions de régulation des gènes.
- ☐ 4. les histones H1 se détachent de la fibre nucléosomique au cours de la transcription.
- ☐ 5. les histones H1 peuvent provoquer une condensation locale de l'ADN.

■ 26. La forme constitutive de la chromatine :

- ☐ 1. existe toujours sous forme d'hétérochromatine.
- ☐ 2. possède parfois une structure génique.
- ☐ 3. contient des gènes toujours réprimés.
- ☐ 4. reste condensée pendant tout le cycle cellulaire.
- ☐ 5. est constituée par des séquences d'ADN qui ne sont jamais transcrites.

■ 27. La forme facultative de l'hétérochromatine :

- ☐ 1. contient des gènes réprimés, les mêmes dans les différents types cellulaires.

- ☐ 2. possède des gènes qui ne s'expriment que dans certains types cellulaires.
- ☐ 3. reste toujours sous la forme d'hétérochromatine.
- ☐ 4. est une des bases moléculaires de la différenciation cellulaire.
- ☐ 5. se décondense au niveau des gènes qui ne s'expriment pas.

■ 28. La matrice nucléaire :

- ☐ 1. contrôle la disposition de l'ADN.
- ☐ 2. conditionne la réplication.
- ☐ 3. conditionne la transcription.
- ☐ 4. contient des protéines NuMA pendant la phase G1.
- ☐ 5. se désassemble au début de la mitose : en particulier, une phosphorylation des résidus sérine provoque un désassemblage de la lamina.

■ 29. La membrane externe de l'enveloppe nucléaire contient :

- ☐ 1. une glucose-6-phosphatase.
- ☐ 2. du cytochrome b_5 .
- ☐ 3. du cytochrome P450 couplé à un mécanisme de phosphorylation.
- ☐ 4. des glycoprotéines.
- ☐ 5. des récepteurs IP3-R.

■ 30. La membrane interne de l'enveloppe nucléaire :

- ☐ 1. a une activité enzymatique moins riche que la membrane externe.
- ☐ 2. contient des protéines p38, sites de fixation de la lamine B.
- ☐ 3. contient des récepteurs d'IP3.
- ☐ 4. contient des canaux calciques.
- ☐ 5. assure le passage de la totalité du Ca^{++} contenu dans le nucléoplasme.

■ 31. Le NPC :

- ☐ 1. est un assemblage protéique enchâssé dans le pore.

- ☐ 2. est un assemblage protéique comprenant un complexe rayonné, un anneau cytoplasmique et un anneau nucléoplasmique.
- ☐ 3. contient des pom152 et 121.
- ☐ 4. contient une gp210 dont l'inactivation inhibe les transports à travers le NPC.
- ☐ 5. contient une protéine Nup116 impliquée dans le transport de l'ARNm.

■ 32. Les pores nucléaires :

- ☐ 1. transportent passivement les ions et les molécules de PM inférieur à 43 kDa.
- ☐ 2. transportent activement les protéines porteuses de signaux.
- ☐ 3. assurent l'importation de protéines porteuses du signal NLS.
- ☐ 4. assurent l'exportation des protéines porteuses du signal NES.
- ☐ 5. importent et exportent les protéines des hnRNPs qui sont porteuses du domaine M9, riche en sérines.

■ 33. Dans des conditions physiologiques normales, le noyau exporte :

- ☐ 1. les ARN non liés à des protéines.
- ☐ 2. les ARNm qui contiennent encore des introns.
- ☐ 3. tous les ARNm élaborés.
- ☐ 4. les ARNm combinés avec Rev.
- ☐ 5. les snRNAs combinés avec CBC.

■ 34. À propos de l'exportation des ARN du VIH :

- ☐ 1. tous les ARN du VIH nécessitent la présence de Rev pour être exportés.
- ☐ 2. dans une cellule infectée par le VIH, les ARN viraux partiellement épissés contiennent une séquence RRE : cette séquence, en se liant à Rev, permet l'exportation des ARNm.
- ☐ 3. les ARN non épissés du VIH sont dégradés dans le cytoplasme.
- ☐ 4. Rev possède un signal NES.

- ☐ 5. Rev interagit avec le transporteur CRM1.

■ 35. Le nucléole est le lieu où s'effectue :

- ☐ 1. la transcription de l'ADNr en pré-ARNr.
- ☐ 2. l'épissage de l'ARNr en ARN 5,8 S, 18 S et 28 S.
- ☐ 3. le clivage en ARN 5 S, 5,8 S, 18 S et 28 S.
- ☐ 4. l'assemblage avec des protéines d'origine cytoplasmique.
- ☐ 5. la maturation du pré-ARNr en ARNr.

■ 36. Le nucléole humain contient :

- ☐ 1. une matrice dense à distribution souvent réticulée.
- ☐ 2. les boucles de 5 paires de chromosomes (13, 14, 15, 21, 22).
- ☐ 3. les gènes amplifiés de 5 chromosomes.
- ☐ 4. cinq NORs : chacun d'entre eux est localisé dans les constriction secondaires des bras courts des chromosomes acrocentriques.
- ☐ 5. des gènes comprenant des espaceurs intragéniques qui sont transcrits.

■ 37. Le nucléole contient :

- ☐ 1. le centre fibrillaire qui contient un composant fibrillaire dense et une protéine, la nucléoline.
- ☐ 2. un composant granulaire qui contient les ribosomes.
- ☐ 3. des molécules d'ARN polymérase II.
- ☐ 4. de l'ADN topoisomérase.
- ☐ 5. des snoRNPs.

■ 38. La transcription de l'ADNr :

- ☐ 1. dépend de la nucléoline.
- ☐ 2. dépend de la fibrillarine.
- ☐ 3. intéresse les espaceurs de l'ADNr.
- ☐ 4. dépend de la quantité de ribosomes présents dans le cytoplasme.
- ☐ 5. est réalisée simultanément par plusieurs molécules d'ARN polymérase I.

■ 39. Dans le nucléole :

- ☐ 1. le clivage de l'ARNr 45 S a lieu lorsqu'il est inséré dans les protéines ribosomales.
- ☐ 2. l'ARN 5 S est synthétisé par action de l'ARN polymérase III.
- ☐ 3. la nucléoline s'incorpore au nucléole pour contrôler l'assemblage des protéines en un ribosome.
- ☐ 4. la fibrillarine contrôle les étapes de la maturation et la méthylation des ARNr.
- ☐ 5. le pré-ARN subit une conversion des molécules d'uridine en pseudo-uridine.

■ 40. Au cours de la mitose :

- ☐ 1. la synthèse d'ARNr se poursuit jusqu'à la télophase.
- ☐ 2. les protéines ARN polymérases, ADN polymérases, UBF restent associées aux NORs.
- ☐ 3. la reconstruction des nucléoles dépend de l'interaction des PNBs et des NORs.
- ☐ 4. les PNBs apparaissent au cours de la métaphase.
- ☐ 5. les PNBs fusionnent lorsque la transcription de l'ADNr est terminée.

1.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. La transcription de l'ADN se déroule également dans les mitochondries.

2.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. Les érythrocytes sont des cellules eucaryotes qui, au cours de leur différenciation, ont perdu leur noyau.

4. Les érythrocytes proviennent des normoblastes qui ont perdu leur noyau.

3.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Le rapport nucléoplasmatique augmente dans les cellules tétraploïdes, ce qui confirme l'augmentation du volume nucléaire dans les cellules polyploïdes.

4.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

5.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. 3. L'ADN polymérase réplique l'ADN en lisant les deux brins dans le sens 3' → 5' : le brin orienté dans le sens 3' → 5' en premier, le brin orienté dans le sens 5' → 3' de manière retardée.

6.

1	2	3	4	5
V	F	F	F	F

2. 3. 4. 5. L'ADN s'associe d'une manière intermittente à des protéines régulatrices de la transcription, des protéines intervenant dans la duplication ou la transcription et les protéines du nucléosquelette (lamîne).

7.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. L'hélicase n'est pas une molécule indépendante : elle fait partie du réplisome, qui ne peut commencer la lecture de l'ADN que lorsque la molécule de primase lui est adjoindue.

8.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	F

1. Le brin 3' → 5' de l'œil de réplication permet la synthèse du brin avancé.

2. L'ADN polymérase ne reconnaît l'extrémité 3' que s'il existe une amorce d'ARN qui est synthétisée par une primase.

3. 4. La réplication de l'autre brin se fait d'une manière discontinue, grâce à la formation successive de plusieurs amorces d'ARN qui sont le point de départ des fragments d'Okasaki.

5. La réplication de l'ADN des cellules procaryotes se fait à partir d'un seul œil de réplication.

9.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

10.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

11.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Le brin d'ADN est interrompu au niveau du site AP.

4. Une AP endonucléase élimine le désoxyribose.

5. Une ADN polymérase (différente de celle de la duplication) remplace le nucléotide excisé.

12.

1	2	3	4	5
V	F	F	F	F

2. 3. Les introns sont des séquences non codantes éliminées par épissage.

4. L'activité transcriptionnelle des gènes dépend de leur position par rapport aux régions régulatrices et 5. ces dernières exercent leur contrôle indirectement via le cœur du promoteur.

13.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Un ARNt fixe spécifiquement un acide aminé à transporter sur sa branche acceptrice.

14.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	F

2. 3. Les ARNm possèdent un codon de début de lecture AUG et un des trois codons de fin de lecture (UAA, UAG, UGA).

5. Les ARNm se replient sur eux-mêmes avant la lecture par le ribosome.

15.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. Les facteurs TF d'initiation de la transcription se fixent sur l'ADN indépendamment de l'ARN polymérase.

4. Plusieurs ARN polymérases lisent le gène simultanément.

16.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. L'acétylation des histones précède la transcription.

4. Les protéines acides, intervenant dans la structuration de l'ADN, permettent l'expression des gènes programmés.

17.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	V

1. 3. 4. Les facteurs de transcription reconnaissent des séquences régulatrices des gènes, proximales ou distales par rapport au cœur du promoteur, sans ouvrir la molécule d'ADN.

18.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Le facteur de transcription se fixe sur le site d'amplification, distal ou proximal.

3. 5. Le facteur de transcription établit des contacts répétés avec le complexe de transcription.

19.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. Des facteurs de transcription répriment la transcription en se fixant sur un « silencer ».

20.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. 2. 3. Les ARNm histones et les snRNAs ne sont jamais polyadénylés.

21.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Seuls les introns sont éliminés par les spliceosomes.

4. L'ARNr ne subit pas d'épissage.

22.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. C'est un mécanisme post-transcriptionnel.

23.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	F

1. Une partie seulement atteint le cytoplasme.

2. Certains ARNm sont porteurs de séquences d'adressage dans leur partie 3' UTR' qui leur permettent d'atteindre les régions cytoplasmiques où leur traduction est nécessaire.

3. La phosphorylation de eIF2 réduit l'activité de la traduction de l'ARNm.

4. L'aconitase inhibe la traduction de l'ARNm-ferritine.

5. Une longueur des queues poly(A) inférieure à 30 Å n'assure pas la stabilité des ARNm.

24.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

25.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

26.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. 3. Elle ne contient pas de gènes.

27.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Ce ne sont pas les mêmes gènes qui sont réprimés d'un type cellulaire à un autre.

3. Elle se décondense dans les types cellulaires où les gènes qu'elle contient s'expriment.

5. Elle reste toujours condensée au niveau des gènes qui ne s'expriment pas.

28.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

29.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. Le cytochrome P450 n'est pas couplé à un mécanisme de phosphorylation.

30.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. La majorité du Ca^{++} pénètre dans le nucléoplasme en passant par les pores nucléaires.

31.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

32.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Le domaine M9 est riche en glycine et en résidus aromatiques.

33.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	V

1. Les ARN sont toujours associés à des protéines lors de leur exportation.

2. Ils ne contiennent pas d'intron.

3. Un pourcentage important d'ARNm n'est pas exporté.

4. Rev, une protéine virale, ne prend en charge que les ARN du VIH.

34.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. Seuls les ARN partiellement ou non épissés nécessitent la présence de Rev pour être exportés.

3. Les ARN non épissés du VIH, nommés ARN génomiques, constituent son matériel génétique : ils sont inclus dans les particules virales nouvellement synthétisées dans le cytoplasme.

35.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. Le pré-ARNr n'est pas épissé, il ne contient pas d'introns.

3. Il est clivé en ARN 5,8 S, 18 S et 28 S. L'ARN 5 S est synthétisé dans une autre région du noyau.

36.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

37.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. Les centres fibrillaires sont des régions claires qui contiennent l'ARN polymérase I, l'ADN polymérase I, les facteurs UBF et la nucléoline.

2. Le composant granulaire contient les pré-ribosomes.

3. Le nucléole contient de l'ARN polymérase I.

38.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. La fibrillarine associée aux snoRNPs est impliquée dans le clivage du pré-ARNr.

39.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. L'ARN 5 S est synthétisé en dehors du nucléole par action de l'ARN polymérase III.

40.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. La synthèse d'ARNr s'interrompt pendant la prophase pour reprendre à la télophase.

4. Les PNBs (prenucleolar bodies; corps prénucléolaires) apparaissent au cours de la télophase.

5. La transcription de l'ADNr ne peut se faire qu'au tout début de la prophase et non au cours de la mitose.

- 1. Citez deux types cellulaires anucléés existant chez les Eucaryotes.
- 2. Les acides nucléiques sont-ils, dans la cellule, les seules molécules contenant des mononucléotides?
- 3. Citez les molécules qui constituent une molécule d'ADN.
- 4. Quelle est la structure schématique d'un nucléoside?
- 5. Qu'est-ce qui caractérise l'appariement des bases?
- 6. Quel caractère possède la liaison phosphate qui unit les désoxyribonucléotides dans l'ADN?
- 7. Quelles sont les protéines non histones qui s'associent d'une manière intermittente avec l'ADN nucléaire?
- 8. Au cours de la réplication de l'ADN, quel brin joue le rôle de matrice?
- 9. Le mécanisme de la réplication de l'ADN des cellules eucaryotes et procaryotes est sensiblement le même. Il existe cependant des différences : citez-en deux.
- 10. Décrivez le mécanisme de formation d'un fragment d'Okazaki.
- 11. Quels sont les trois caractères de la réplication de l'ADN?
- 12. Par quoi sont dirigées les unités de réplication de l'ADN de Levure?
- 13. Quelles molécules corrigent les mésappariements des bases pendant la phase S?
- 14. Quel rôle joue MutL dans la correction des erreurs de réplication de l'ADN?
- 15. Tous les exons sont-ils traduits en protéines?
- 16. Dans quelle région d'un chromosome un gène devient-il inactif?
- 17. Indiquez la définition des ARNm.
- 18. Quel rôle jouent les différentes ARN polymérases dans les cellules eucaryotes?
- 19. À quelle condition les ARN polymérases reconnaissent-elles le promoteur?
- 20. Quels sont les caractères morphologiques d'un gène en cours de transcription?
- 21. Citez un exemple de protéine régulatrice et son mode d'action.
- 22. Quel est le mode de fixation des protéines régulatrices sur les régions régulatrices de l'ADN?
- 23. Quels événements se produisent au cours de la maturation de l'ARNm?
- 24. Quelle est la fonction des spliceosomes? Décrivez schématiquement leur mécanisme d'action.
- 25. Quel est le mécanisme qui permet la localisation spécifique de l'ARNm en fonction de la protéine qu'il code?
- 26. Que provoque, chez les Vertébrés supérieurs, la phosphorylation de eIF2?
- 27. Quel est le résultat de l'action de l'aconitase sur la traduction des ARNm?
- 28. Quel rôle joue la polyadénylation des ARNm?
- 29. Quel mécanisme assure la dégradation des ARNm codant les histones immédiatement après leur synthèse?
- 30. Quelles sont les fonctions du conditionnement de l'ADN en fibres chromatiniennes compactes?
- 31. Quelle est la constitution d'un nucléosome?

- **32.** Quel rôle joue l'histone H1?
- **33.** Quelle est la localisation des sites de régulation des gènes?
- **34.** Quel rôle joue les protéines HMG?
- **35.** Quels sont les caractères de l'hétérochromatine facultative?
- **36.** Quels sont les ARN transcrits à partir de l'euchromatine?
- **37.** Énumérez les constituants de la charpente nucléaire.
- **38.** Quel est le mode de fixation des lamines sur la membrane interne?
- **39.** Quel rôle joue les protéines NuMA?
- **40.** Décrivez la disposition des molécules d'ADN dans le noyau.
- **41.** Énumérez schématiquement les principaux rôles de l'enveloppe nucléaire.
- **42.** Que produit la fixation d'Ins 1,4,5-triphosphate sur certains récepteurs de la membrane interne nucléaire?
- **43.** Citez chacun des éléments de l'assemblage tripartite de NPC.
- **44.** Quelles sont les molécules susceptibles d'être transportées passivement par le complexe central du pore?
- **45.** Citez quelques protéines susceptibles de faire la navette entre le cytoplasme et le noyau.
- **46.** Quelles sont les protéines transportées par l'importine?
- **47.** Quelle molécule assure le transport, vers le noyau, des protéines à domaine M9?
- **48.** Quels sont les caractères des protéines à domaine M9?
- **49.** Quels sont les ARN qui traversent les pores sous forme de ribonucléoprotéines?
- **50.** Dans quel cas les pré-ARN qui contiennent les introns peuvent-ils quitter le noyau?
- **51.** Quelles sont la structure et la localisation des séquences signal NLS?
- **52.** Quelle est la principale fonction des nucléoles?
- **53.** Quelles sont les polymérases qui interviennent dans la transcription de l'ADN?
- **54.** Quelles sont les structures chromosomiques qui interviennent dans la formation des nucléoles : sur quels chromosomes sont-elles localisées?
- **55.** Dans quelle région nucléolaire s'effectue la transcription de l'ADNr?
- **56.** Quelle est la constitution biochimique des centres fibrillaires?
- **57.** Donnez la signification des balles terminales?
- **58.** Quel rôle joue la nucléoline?
- **59.** Dans quelle région du noyau les protéines des futurs ribosomes s'assemblent-elles?
- **60.** Quel est le mécanisme d'assemblage des protéines ribosomales sur l'ARNr?
- **61.** Énumérez les principaux événements qui interviennent dans la maturation de l'ARNr.
- **62.** Quelles sont les particularités des protéines destinées à être assemblées avec les ARNr?

1. Chez les Mammifères, les hématies et les kératinocytes des couches superficielles de l'épiderme.

2. Non. L'ATP, NAD⁺, NADPH⁺, FAD, AMPc contiennent aussi des mononucléotides.

3. Une molécule d'ADN résulte de la combinaison équimoléculaire de phosphate, d'un pentose (2-désoxy-D-ribose), d'une base purique (adénine ou guanine) ou d'une base pyrimidique (cytosine ou thymine).

4. Un nucléoside est formé par la combinaison du 2-désoxy-D-ribose (pour l'ADN) ou du ribose (pour l'ARN) avec une base purique (A ou G) ou avec une base pyrimidique (C ou T). Dans l'ARN, la thymine est remplacée par l'uracile.
5. L'exclusivité de cet appariement qui se fait par complémentarité stérique.
6. La liaison phosphate réunit le carbone 3' d'un désoxyribose au carbone 5' d'un désoxyribose voisin.
7. Les protéines régulatrices de la transcription (protéines à doigts de zinc, à Leu Zipper, etc.), les protéines enzymatiques (ARN polymérases, ADN polymérases et primases), les lamines.
8. Les deux.
9. La vitesse de polymérisation est plus rapide chez les cellules procaryotes. Il existe un seul œil de réplication dans les cellules procaryotes.
10. Dans l'œil de réplication, le brin d'ADN orienté dans le sens 5' → 3' est à l'origine de la formation de ces fragments. L'ARN polymérase ADN-dépendante lit une séquence de la chaîne d'ADN matrice située en aval de la fourche de réplication : elle synthétise une amorce d'ARN. L'ADN polymérase III reconnaît l'extrémité 3'-OH de l'amorce, s'y fixe, lit l'ADN dans le sens 3' → 5' et synthétise un segment d'ADN de 2 000 nucléotides.
11. La réplication de l'ADN est semi-conservative, orientée, bidirectionnelle.
12. Le système de réplication est dirigé par un complexe multiprotéique ORC (origine recognition complex) qui se fixe sur des séquences spécifiques qui définissent les origines de réplication.
13. MutL, ADN polymérase, MutS.
14. MutL recherche une zone d'interruption sur la région voisine de l'ADN néosynthétisé. La partie comprise entre la zone d'interruption et le mésappariement reconnu par MutS est éliminée et l'ADN polymérase recommence la synthèse du segment éliminé.
15. Non. Les exons situés au début et à la fin du gène ne sont que partiellement traduits. Ils portent les extrémités 5' et 3' non codantes (5' et 3' UTR) dont l'étendue est définie par la position des codons d'initiation et de terminaison de la traduction.
16. Dans les télomères : extinction d'un gène par effet de position.
17. Les ARNm sont les copies des régions fonctionnelles d'un gène.
18. L'ARN polymérase I élabore les ARNr. L'ARN polymérase II élabore les ARNm et snRNA. L'ARN polymérase III élabore l'ARN 5 S.
19. L'ARN polymérase ne reconnaît le promoteur que si une ou plusieurs protéines de liaison TF (appelées aussi cofacteurs généraux des ARN polymérases) sont associées à l'ADN.
20. Un gène est lu par une multitude de transcriptases. Les chaînes d'ARN ont une longueur proportionnelle à leur distance du point de départ de la lecture du gène, d'où un aspect en arbre de Noël.
21. Les hormones thyroïdiennes ou stéroïdiennes se fixent sur un récepteur cytoplasmique qu'elles activent. Le complexe gagne le noyau et se fixe sur la séquence régulatrice d'un gène.
22. Les protéines régulatrices se fixent sur la séquence nucléotidique de la région régulatrice sans ouvrir la molécule d'ADN. Elles se fixent sur le grand sillon qui donne facilement accès aux bases.
23. Polyadénylation de l'extrémité 3', coiffage de l'extrémité 5' par un acide guanylique méthylé, épissage (élimination des introns).
24. Ils interviennent au cours de l'épissage. Les spliceosomes (complexes constitués par des Snurps) s'assemblent sur chaque intron de l'ARN pré-messager. Chaque intron est excisé au niveau de ses extrémités et les exons se soudent les uns aux autres.
25. Certains ARNm possèdent une séquence d'adressage localisée dans la région 3' non codante (3' UTR). Cette séquence permet à l'ARNm d'atteindre la région cytoplasmique où la traduction est nécessaire.
26. L'entrée des cellules en phase G0.
27. L'aconitase bloque la traduction de l'ARNm codant la ferritine.
28. Elle assure la stabilité des ARN et leur traduction.

29. L'ARNm codant les histones possède des signaux proches de l'extrémité 3' qui active une nucléase liée au ribosome.

30. Diminution du volume nucléaire, limitation et contrôle de l'accès à l'information génétique.

31. Octamère (sphérique ou cylindrique) formé par une paire de chacune des histones suivantes : H2A, H2B, H3, H4.

32. Contrôle du degré d'enroulement et de condensation de la fibre nucléosomique.

33. Dans les régions dépourvues d'histones.

34. Les protéines HMG interviennent dans la décondensation ou le déroulement des fibres nucléosomiques afin de permettre la transcription de l'ADN.

35. L'hétérochromatine facultative contient des gènes réprimés qui diffèrent d'un type cellulaire à un autre. Par exemple, les gènes de la cytokératine sont réprimés dans les fibroblastes.

36. ARNt, ARNm, snRNA et ARNr 5 S.

37. Les constituants de la matrice nucléaire : lamines nucléaires, protéines fibrillaires associées au petit anneau nucléoplasmique des pores nucléaires, un réseau fibreux contenant des protéines NuMA (nuclear mitotic apparatus).

38. La membrane interne contient des récepteurs. Par exemple, la p58 fixe les lamines B sur la face interne de la membrane interne.

39. Elles interviennent dans la cytodièrese (l'absence du domaine globulaire l'inhibe et provoque l'assemblage de micronuclei).

40. Les télomères s'insèrent sur la lamina, les centromères se placent au contact du ou des nucléoles.

41. Limitation d'un volume clos de constitution différente de celle du cytoplasme. Isolement de l'ADN pendant l'interphase. Contrôle des échanges. Organisation du contenu nucléaire. Maintien de la forme du noyau. Transport des ARN et protéines.

42. Ces récepteurs sont des canaux calciques. La fixation d'Ins 1,4,5-triphosphate libère le calcium contenu dans l'espace périnucléaire, calcium qui se déverse dans le nucléoplasme.

43. Le NPC est un assemblage tripartite comprenant un complexe rayonné, un anneau cytoplasmique et un anneau nucléoplasmique.

44. Les ions (Na^+ , K^+), les petites molécules dont le $\text{PM} < 5 \text{ kDa}$ et les protéines de $\text{PM} < 43 \text{ kDa}$.

45. Certaines protéines des hnRNPs. Des facteurs de transcription. La protéine Rev.

46. Les protéines porteuses du signal NLS.

47. La transportine.

48. Elles font la navette entre noyau et cytoplasme. Le domaine M9 est différent de NLS et NES et est constitué par 38 acides aminés, reconnus par un récepteur spécifique.

49. Tous les ARN.

50. Dans une cellule infectée par le HIV-1. L'ARNm HIV-1 contient une séquence RRE qui est une séquence de liaison pour plusieurs molécules Rev.

51. Les séquences signal NLS sont formées par 4 à 8 acides aminés (la lysine et l'arginine qui sont associées à la proline). Ces séquences sont chargées positivement et localisées en n'importe quel point de la protéine.

52. La biosynthèse des ribosomes.

53. L'ARN polymérase I qui intervient dans la synthèse, dans le nucléole, du pré-ARNr : le pré-ARNr donne naissance, sans épissage, à l'ARNr 5,8 S, 18 S et 28 S. L'ARN polymérase III qui intervient dans la synthèse, en dehors du nucléole, de l'ARN 5 S.

54. Les NORs, localisés sur les constriction secondaires des bras courts des chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21, 22.

55. Dans le centre fibrillaire.

56. ARN polymérase I, facteur de transcription UBF, nucléoline.

57. Les balles terminales sont des complexes qui interviennent dans la maturation des pré-ARNr (formés par U3 snoRNP et des protéines associées à l'extrémité 5' de l'espaceur transcrit).

58. *Phosphorylée, elle permet la transcription de l'ADNr en ARNr 45 S en se détachant de l'histone 1. Déphosphorylée, elle inhibe la transcription.*

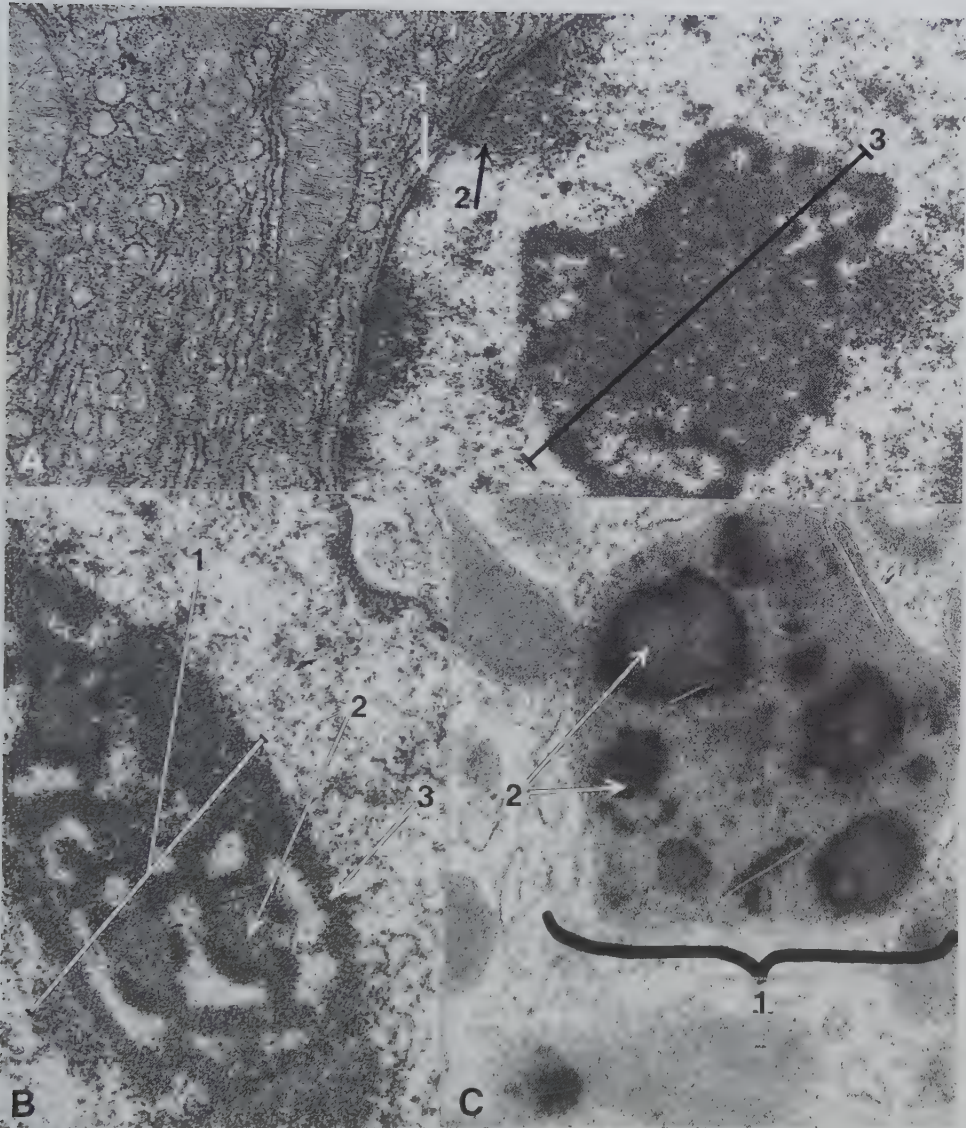
59. *Dans le nucléole.*

60. *L'assemblage des protéines ribosomales sur l'ARNr démarre avant que la transcription ne soit*

terminée. La nucléoline, U3 snoRNP contrôlent cet assemblage en ribosome.

61. *Clivage des espaceurs intragéniques par des endonucléases (et non par épissage), perte de protéines associées et de fragments d'ARN.*

62. *Ces protéines possèdent un domaine GAR riche en glycine et en arginine et un domaine RRM.*



■ Cliché A :

Flèche 1 : membrane plasmique.

Flèche 2 : jonction intercellulaire (plaque dense).

Flèche 3 : noyau.

■ Cliché B :

Flèche 1 : zone granulaire.

Flèche 2 : zone fibrillaire.

Flèche 3 : nucléole.

■ Cliché C :

Flèche 1 : noyau multinucléolé.

Flèche 2 : nucléoles.

■ Cliché A :

Flèche 1. *F* : enveloppe nucléaire.

Flèche 2. *F* : hétérochromatine périphérique.

Flèche 3. *F* : nucléole.

Flèche 2. *F* : zone granulaire.

Flèche 3. *V*.

■ Cliché B :

Flèche 1. *F* : nucléole.

■ Cliché C :

Flèche 1. *F* : lysosome.

Flèche 2. *F* : contenu dense d'un lysosome.

Les facteurs de croissance

L'interphase

La phase M

Les chromosomes

Les mitoses
et les agents mitotiques

Contrôle du cycle cellulaire

L'apoptose

Jusqu'en 1950, les biologistes ne disposaient d'aucune information sur ce qui se passait dans la cellule entre deux mitoses, c'est-à-dire pendant l'interphase. L'autohistoriographie et les techniques de synchronisation des cellules en culture, qui permettent de disposer de cellules se divisant en même temps, ont considérablement facilité l'étude du métabolisme au cours de l'interphase. L'utilisation, sur des cultures synchronisées, des techniques d'autohistoriographie (Howard et Pelc, 1953) montre que la réplication de l'ADN ne se déroule pas, comme on le croyait, pendant la prophase, mais pendant une période limitée de l'interphase. Le modèle de Howard et Pelc, qui décompose l'interphase en un stade antérieur à la synthèse de l'ADN (G1), un stade de synthèse de l'ADN (S) et un stade séparant cette synthèse de l'entrée en prophase (G2), est toujours admis. Cette notion de cycle cellulaire est essentielle en pathologie et en thérapeutique : en particulier, l'efficacité d'une chimiothérapie anticancéreuse dépend du moment où elle intervient dans le cycle cellulaire.

Toutes les cellules, à l'exception des hématies, des cellules nerveuses et des fibres musculaires squelettiques, sont susceptibles de se diviser en deux cellules filles ayant les mêmes caractères morphologiques et physiologiques que la cellule mère.

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation, par division de la cellule mère, et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles grâce à la mitose (fig. 5.1). Il comprend l'*interphase* et la *phase M* ou *mitose*.

Il intervient dans le maintien du patrimoine génétique, de l'information qu'il transmet et dans la prolifération cellulaire. Cette multiplication cellulaire est déclenchée par des facteurs protéiques endocrines (sécrétés à distance de la cellule cible), autocrines (sécrétés par la cellule elle-même et agissant sur la cellule qui les a sécrétés), paracrines (sécrétés par des cellules situées dans le voisinage).

Fig 5.1

Le cycle cellulaire. Pendant le cycle cellulaire, la cellule passe par les phases G1, S, G2, M. Cette dernière phase s'achève par la formation de deux cellules filles A1 et A2 qui peuvent suivre la même évolution.

Phase G1 : phase au cours de laquelle la quantité d'ADN correspond à $2n$ chromosomes. Phase G0 : la cellule sort du cycle cellulaire. Phase S : phase de réplication de l'ADN. Phase G2 : la cellule contient le double de la quantité d'ADN d'une cellule en phase G1. Phase M : mitose qui aboutit à la formation de deux cellules.



Les facteurs de croissance

Il existe, chez les Vertébrés, une cinquantaine de substances susceptibles de déclencher le cycle cellulaire donc la mitose. Ces substances portent le nom de facteurs de croissance. Elles agissent à des concentrations très faibles de l'ordre de 10^{-12} à 10^{-9} M. Les plus connues sont :

- EGF (epithelial growth factor; facteur de croissance épithélial) : c'est un facteur de croissance de cellules épithéliales. Il appartient aux groupes des crinopectines, petites protéines constituées par 53 acides aminés, qui stimulent la prolifération de nombreux types de cellules. C'est un facteur de croissance non spécifique de l'épiderme : il intervient aussi dans la croissance d'autres types cellulaires. Il se fixe sur un récepteur membranaire EGF-R (epithelial growth factor receptor; récepteur du facteur de croissance épithélial), qui est un récepteur à activité tyrosine kinase.
- PDGF (platelet-derived growth factor; facteur de croissance dérivé des plaquettes) : c'est un facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, d'origine plaquettaire. Il a été isolé à l'origine des plaquettes sanguines comme étant une substance mitogène des cellules endothéliales. Il agit également sur la multiplication des fibroblastes et des fibres musculaires lisses.
- NGF (nerve growth factor) : c'est un facteur de croissance nerveux. Il contrôle la croissance de neurones. Il intervient essentiellement dans la différenciation morphologique et biochimique de ces neurones. Ce facteur a une action trophique indispensable à la surface de neurones sympathiques et sensoriels au cours de l'ontogenèse.
- IGF (insulin-like growth factor; facteur de croissance apparenté à l'insuline) : IGF-1 et IGF-2 sont deux facteurs de croissance qui jouent le rôle de l'intermédiaire de l'hormone de croissance. Ils interviennent au cours du développement embryonnaire. En culture, ils stimulent la prolifération d'un très grand nombre de variétés cellulaires.
- FGF (fibroblast growth factor; facteur de croissance des fibroblastes) : ce facteur appartient aux crinopectines. Les FGFs interviennent non seulement dans la croissance des fibroblastes, mais également dans celle des cellules endothéliales et des myoblastes. Les récepteurs des facteurs de croissance des fibroblastes sont une famille de protéines à tyrosine kinase.
- les facteurs de croissance actifs sur les lignées hématopoïétiques comme les CSF (colony-stimulating factor : facteur de croissance des colonies cellulaires) : ils regroupent G-CSF (actif sur la croissance des granulocytes), M-CSF (actif sur la croissance des monocytes les macrophages), etc.

L'interphase

L'*interphase* est la période comprise entre la fin d'une division et le début de la suivante : elle correspond, en général, à la plus grande partie du cycle. Le noyau est alors mécaniquement inactif, c'est-à-dire qu'il ne se divise pas. L'interphase se décompose en une *phase G1* (G : initiale de gap, intervalle), une *phase S* (synthesis; synthèse) et une *phase G2*. La durée de cette phase non proliférative varie en fonction de la nature et des conditions physiologiques de la cellule : les cellules intestinales se divisent deux fois par jour, les cellules hépatiques une à deux fois par an. Ce sont là des cas extrêmes.

La *phase M* ou mitose est une phase au cours de laquelle la cellule se divise pour donner naissance à deux cellules filles strictement semblables.

■ La détermination de la durée des différentes phases du cycle cellulaire a été rendue possible par l'étude de cultures cellulaires synchrones, c'est-à-dire des cultures dans lesquelles les cellules sont toutes au même stade de leur cycle. La méthode de cytométrie en flux permet d'isoler des cellules se trouvant au même stade de leur cycle. On utilise la méthode des mutants conditionnels qui, hélas, ne peut être appliquée qu'à un nombre limité de types cellulaires. Des souches cellulaires thermosensibles sont mises en culture. Les cellules interrompent leur développement à une phase précise du cycle lorsque la température est modifiée. Il suffit de rétablir la température pour obtenir une culture de cellules synchrones. La quantité d'ADN qui caractérise les phases G1, S et G2 est étudiée par la cytophotométrie qui combine la spectrophotométrie et la cytologie. La thymidine tritiée a également été employée : les cellules sont incubées dans la thymidine tritiée pendant un temps extrêmement court. Seules les cellules en phase S donnent une image visible par autoradiographie.

La phase G1

■ Définition

La phase G1 correspond à l'intervalle qui sépare la fin de la mitose et le début de la synthèse de l'ADN.

La phase G1 n'existe pas lors des premières divisions qui suivent la fécondation. Elle apparaît relativement tôt au cours du développement embryonnaire. Au cours de la phase G1, la cellule « décide » si elle poursuit ou non le cycle.

■ Durée

Elle varie en fonction de la nature de la cellule (en général de 1 heure chez l'embryon à 6 mois-1 an dans le foie chez les Mammifères) : sa durée diminue sensiblement pour les cellules cancéreuses. D'une manière générale, la phase G1 est la phase dont la durée est la plus variable.

Les mécanismes, qui contrôlent la croissance et la différenciation chez les êtres multicellulaires, sont liés à la machinerie de la phase G1.

Au cours de cette phase, importante pour la régulation du cycle cellulaire, la cellule contrôle son environnement et sa propre taille qui double avant la phase S. Le passage de la phase G1 à la phase S est décisif, car il engage, de façon irréversible, la cellule dans le processus qui conduit à la division (normale ou pathologique). Il dépend de points de contrôle (START chez la Levure, point de restriction G ou R dans les cellules des Vertébrés).

La cellule, à la fin de la phase G1-pm (G1-post-mitose), peut interrompre sa progression dans le cycle et entrer en phase G0 où elle reste des jours, des semaines ou des années sans se multiplier. Elle peut retourner en phase G1, au même point de la phase G1-pm.

■ La phase G1 est une phase de synthèse

La cellule néoformée contient la quantité d'ADN caractéristique de l'espèce, correspondant dans les cellules somatiques à 2 N chromosomes (par exemple 23×2 , soit 46 dans l'espèce humaine); cette quantité reste constante pendant toute la phase G1. À ce stade, les chromosomes sont formés par un filament sinueux de chromatine, spiralé ou non.

La phase G1 est une phase de synthèse, au cours de laquelle la réplication de l'ADN ne se produit pas. Les cellules viennent de se diviser : leur volume cytoplasmique est faible. La cellule synthétise donc des molécules d'ARN (ARNm, ARNr, ARNt) et assure la production des protéines nécessaires à l'accroissement de la cellule. Durant cette phase, chaque chromosome est formé d'une molécule d'ADN (double hélice) associée aux histones.

■ Le point de restriction

Le point G ou R est le point qui sépare deux parties fonctionnellement différentes de la phase G1, G1-pm (G1-post-mitose) et G1-ps (G1-post-synthèse) (fig. 5.2). G1-pm couvre l'intervalle qui court de la fin de la mitose au point R. G1-ps définit la période qui commence au point R et qui s'achève au début de la synthèse.

Phase G1-pm

La durée de G1-pm est constante (environ 3 heures) : elle dépend du temps imparti aux lamines pour subir une *farnésylation* nécessaire pour leur adressage à la face

■ Le groupe farnésyl dérive du mévalonate à partir de HMG CoA (3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A), par une réaction catalysée par HMG-CoA réductase. L'inhibition de la HMG-CoA réductase inhibe la farnésylation.

interne de la membrane nucléaire interne. Cette farnésylation se déroule dans le cytosol : elle modifie les lamines immédiatement après leur synthèse. La farnésyl-transférase reconnaît, sur l'extrémité carboxy-terminale des lamines, une séquence d'acides aminés CAAX (C : cystéine, A : acide aminé aliphatique, X : n'importe quel acide aminé). Cette enzyme catalyse l'alkylation de la cystéine.

Pendant G1-pm, le cytosquelette se réorganise, la chromatine se décondense, la protéosynthèse est très active.

La progression au cours de G1-pm requiert la stimulation continue par des signaux mitogènes (facteurs de croissance). L'interruption des signaux mitogènes ou l'inhibition de la synthèse protéique provoque la sortie du cycle cellulaire vers la phase G0 chez les cellules normales. Une nouvelle stimulation, par des signaux mitogènes, permet à la cellule en phase G0 de retourner au même point de G1-pm.

Fig. 5.2

Les points de contrôle du cycle cellulaire.

1. Point de restriction.
2. Point de contrôle en G1.
3. Point de contrôle en S.
4. Point de contrôle en G2.
5. Point de contrôle en M.



Phase G1-ps

La cellule, dès le début de G1-ps, est devenue indépendante des facteurs de croissance : elle parcourt G1-ps en 3 à 13 heures. On connaît mal, actuellement, le mécanisme de la transition de la dépendance aux facteurs de croissance à l'indépendance vis-à-vis de ces facteurs. Au cours de G1-ps, les protéines s'accumulent dans le cytoplasme, la cellule ajuste sa taille avant la synthèse de l'ADN.

La phase S

La synthèse de l'ADN est coordonnée avec celle des histones : les ARNm des histones sont synthétisés au cours de la phase S, puis détruits immédiatement après la réplication. Cette phase se caractérise aussi par l'arrêt de la synthèse des autres ARN.

La phase G2

Cette phase courte, d'une durée de 4 à 5 heures, débute dès que la réplication de l'ADN est achevée. La cellule contient le double de la quantité habituelle d'ADN : c'est une cellule tétraploïde. Cette phase prépare la mitose : un certain nombre de facteurs sont synthétisés, en particulier les facteurs de condensation des chromosomes ou protéines SMC (*Saccharomyces cerevisiae*). Les protéines SMC rappellent, par leur structure, celle de la kinésine et de la myosine. Il s'agit de protéines mécano-chimiques de la chromatine (protéines motrices de la chromatine). L'activité d'un tel moteur provoque l'enroulement de la chromatine et permet sa condensation.

Il se produit aussi des phosphorylations des histones H1, qui interviendraient également dans la condensation des chromosomes.

Les synthèses d'ARN, les protéosynthèses continuent.

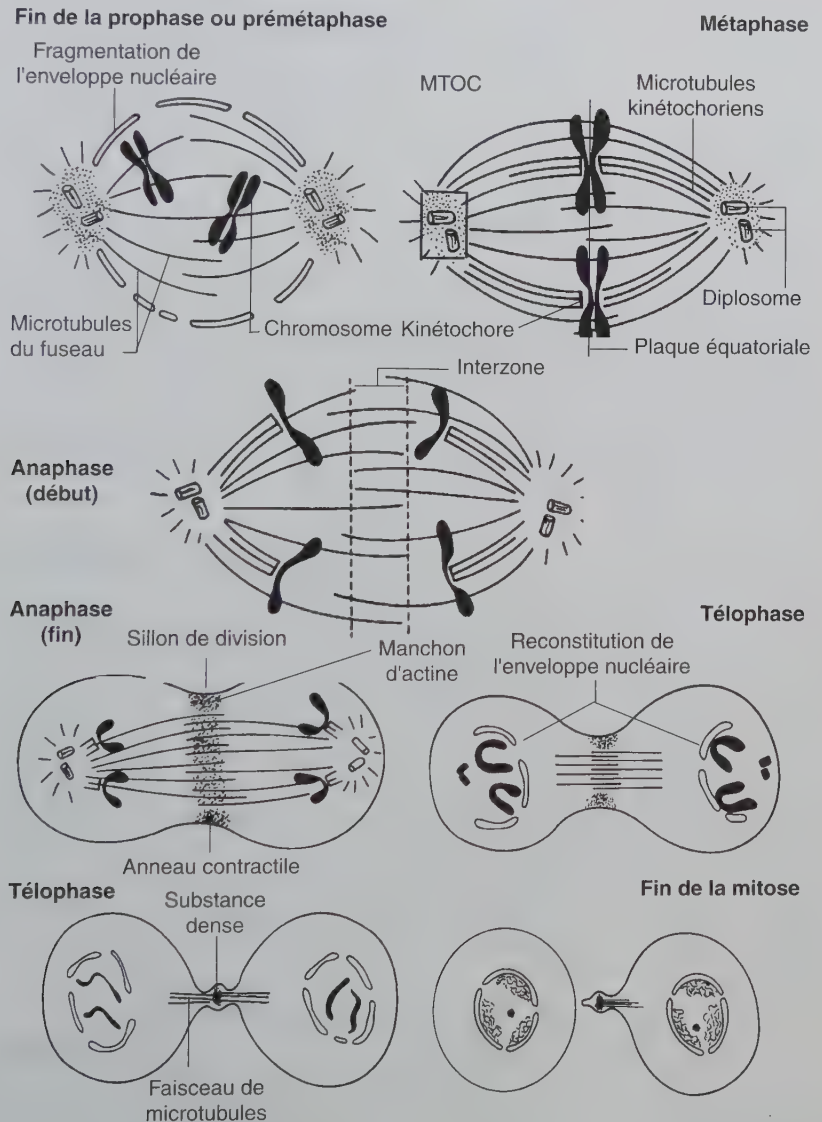
Une cellule en phase G1 n'entre pas obligatoirement en phase S : elle élabore les molécules nécessaires à son fonctionnement. Le point G ou R divise la phase G1 en G1-pm (de durée constante) et G1-ps. Au cours de la phase S, la cellule double sa quantité d'ADN. À la phase G2, la cellule est diploïde. Des protéines SMC condensent la chromatine.

La mitose ou phase M

La mitose distribue, de manière égale, l'ADN entre les deux cellules filles (fig. 5.3).

Fig. 5.3

Mitose. La membrane plasmique n'est pas représentée pour la prophase, la métaphase et l'anaphase.



Le processus de répartition est complexe pour diverses raisons :

- l'ADN est réparti entre plusieurs chromosomes (les fibres de chromatine ou nucléosomiques);
- les chromosomes sont séparés du cytoplasme par l'enveloppe nucléaire;
- les organites subissent des modifications.

La mitose intéresse :

- tous les éléments nucléaires : *caryodiérèse*;
- tous les éléments cytoplasmiques : *cytodiérèse*.

La mitose est caractérisée par :

- la spiralisation des chromosomes qui se regroupent;
- l'apparition au cours de la prophase, dans le cytoplasme, d'un fuseau de microtubules (fuseau mitotique) qui guideront les chromosomes dans leurs mouvements;
- la disparition de l'enveloppe nucléaire (au cours de la prométaphase);
- la séparation, au début de l'anaphase, des chromatides de chaque chromosome métaphasique, par suppression de la cohésion des centromères (les chromatides deviennent alors des chromosomes indépendants);
- la répartition, en nombres égaux, des chromosomes entre les deux cellules filles;
- la reconstitution (au cours de la télophase) du noyau de chacune des cellules filles à la fin de la mitose.

La prophase

La prophase prépare la répartition des chromosomes (durée 15 à 30 minutes).

■ Division du centrosome

La mitose est conditionnée par la duplication du centre cellulaire. Le diplosome du centrosome ou MTOC (microtubules organizing center; centre organisateur des microtubules), situé à l'un des pôles nucléaires, baigne dans une substance dense (matériel péricentriolaire).

En phase G1, le centrosome contient deux centrioles. Pendant les phases S et G2 deux procentrioles, un pour chaque centriole, se différencient : leur axe est perpendiculaire à l'extrémité de chaque centriole. Il se forme ainsi deux diplosomes entourés par un matériel péricentriolaire, commun aux deux diplosomes (voir chapitre 12 « Le centrosome et ses dérivés »).

Au tout début de la prophase, le centrosome se dédouble et les deux centrosomes s'éloignent progressivement l'un de l'autre. Chacun d'eux contient alors un centriole et un procentriole. Chaque MTOC polymérise, à partir du matériel centriolaire, des microtubules qui rayonnent autour de chacun des complexes. Ces *microtubules astériens* et l'ensemble diplosome/matériel péricentriolaire constituent l'*aster*. Il se forme donc deux asters qui migrent progressivement en direction des pôles opposés du noyau, tandis que les microtubules situés entre les complexes s'allongent et forment le fuseau. À la moitié de la prophase, les asters se localisent chacun à l'un des pôles opposés du noyau.

■ Condensation des chromosomes

À la fin de la phase S, chaque chromosome est formé de deux *fibres nucléosomiques* sinueuses, entremêlées, unies par leur *centromère*. À la fin de la phase G2, la cellule devient sphérique, les protéines SMC et les histones 1 provoquent une condensa-

tion chromosomique : les chromosomes deviennent visibles en microscopie optique. En effet, les fibres nucléosomiques se replient autour d'un axe squelettique constitué par des protéines non histones et forment des boucles de 10 à 160 kb. Puis l'axe squelettique s'enroule à son tour en solénoïde de sorte que le chromosome devient visible en microscopie optique.

Deux *chromatides* unies par leur centromère, au niveau d'une *constriction primaire*, constituent un chromosome. Chaque chromosome se rapproche de l'enveloppe nucléaire, laissant un espace centronucléaire vide.

Le nucléole diminue de taille et disparaît complètement : l'ADN nucléolaire est associé à une *constriction secondaire* des chromosomes 13, 14, 15, 21, 22. L'enveloppe nucléaire se fragmente en petites vésicules, dont la membrane reste associée à la lamine C, alors que les deux autres types de lamines se dispersent dans le cytoplasme.

La prométaphase

La *prométaphase* se caractérise par la rupture complète de l'enveloppe nucléaire, qui se disperse sous forme de vésicules, et par l'attachement des chromosomes aux MTs par l'intermédiaire des *kinétochores*.

Les kinétochores sont des centres organisateurs localisés au niveau de chaque centromère. Ils jouent un rôle essentiel dans les mouvements des chromosomes. Au cours de la phase G1, ils ont la forme d'une condensation linéaire au niveau de chaque centromère. Pendant la phase G2, il existe deux kinétochores par chromosome (les chromosomes sont alors constitués par deux chromatides). Les kinétochores, ces complexes multiprotéiques, se transforment en une plaque, puis en un collier elliptique trilamellaire, d'un diamètre de 0,5 µm et d'une épaisseur de 1 µm. Ils deviennent alors fonctionnels et assurent la polymérisation ou la dépolymérisation des MTs qui se fixent sur les kinétochores (kMTs : kinetochorian microtubules; microtubules kinétochoriens), dont la direction est perpendiculaire à l'axe du chromosome. Les chromosomes se disposent perpendiculairement aux fibres fusoriales, chaque kinétochore faisant face à l'un des diplosomes. Les chromosomes migrent vers le plan équatorial de la cellule.

Les mitochondries sont rassemblées dans la partie moyenne de la cellule.

La métaphase

La métaphase est caractérisée par le rassemblement de tous les chromosomes sur la plaque équatoriale (partie moyenne de la cellule).

Le *chromosome métaphasique* est constitué de deux chromatides qui portent chacune un kinétochore. Ses kinétochores font face aux diplosomes.

Le fuseau est alors constitué par un ensemble de microtubules :

- les *microtubules de l'aster*, qui interviennent dans la mise en place du fuseau : ils rayonnent à partir de chaque centrosome et déterminent le plan de la cytokinèse.
- les *microtubules polaires*, qui partent d'un centrosome et dépassent les chromosomes. Ils maintiennent l'intégrité du fuseau. Ils n'atteignent pas l'autre pôle de la cellule, mais ils s'intercalent avec ceux qui viennent du pôle opposé. Leurs extrémités, qui se chevauchent, sont unies par des protéines motrices.
- les *microtubules kinétochoriens* (kMTs).

L'anaphase

À l'anaphase, les chromosomes gagnent chacun des pôles de la cellule. L'anaphase se divise en *anaphase A* et *anaphase B*.

■ Anaphase A

C'est la phase d'ascension polaire. Le partage des chromosomes en deux lots identiques caractérise cette phase. En effet, chaque chromatide devient autonome et se transforme en un chromosome indépendant. Chaque chromosome frère migre à la vitesse de 1µm/minute vers un des deux pôles de la cellule, en même temps que les kMTs se raccourcissent.

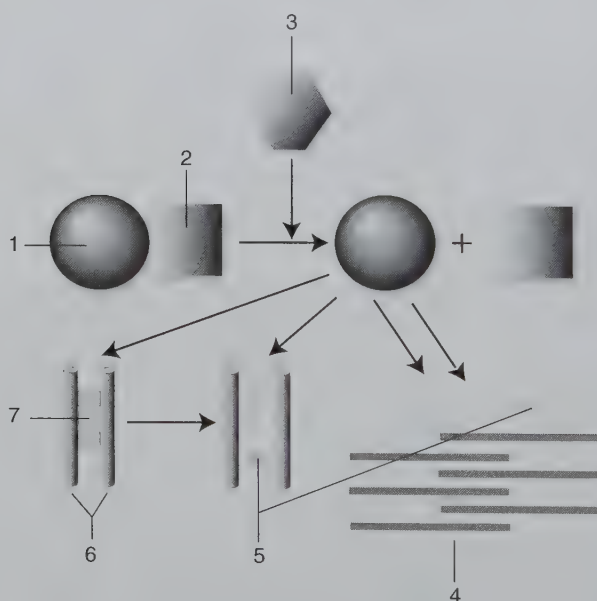
Au cours de la phase G2, puis au début de la phase M, les deux centromères assurent la cohésion des chromatides : la séparation des chromatides, à la fin de la métaphase, ne se produit que lorsque tous les kinétochores sont capturés par les microtubules du fuseau et lorsque les centromères se sont séparés.

La séparation des centromères de chaque chromosome dépend :

- d'un pool de *topoisomérases* associées au centromère, qui agit sur les zones d'attache de l'ADN alphasquelette : cette enzyme provoque des coupures temporaires et ressoude les extrémités ; il se pourrait donc que les molécules d'ADN des chromatides soient entrelacées ;
- de la dégradation d'une protéine, la *cohésine* (fig. 5.4) qui unit les chromatides sœurs. La dégradation dépend d'une enzyme, la séparase. Avant qu'elle agisse sur la cohésine, la séparase est inactive : elle forme un complexe avec la sécurine. Juste avant le début de l'anaphase, la sécurine est détruite par l'APC (anaphase promoting complex ; complexe promoteur de l'anaphase), appelé également cyclosome. La sécurine est décomposée en petites sous-unités instables. La séparase libérée détruit alors la cohésine.

Fig 5.4
Séparation des chromatides sœurs (qui forment le chromosome métaphasique) au début de l'anaphase.

1. Séparase.
2. Sécurine.
3. APC.
4. Mts.
5. Fragments de cohésine.
6. Chromatides sœurs.
7. Cohésine.



■ Anaphase B

Au cours de l'anaphase B, le fuseau s'étire (allongement des microtubules polaires et déplacement des pôles du fuseau) : les kMTs poursuivent leur raccourcissement, tandis que les chromosomes poursuivent leur migration vers les pôles mitotiques.

La télophase

La télophase est une sorte de prophase à l'envers (durée : 20 minutes). Elle débute par l'arrêt de la migration des chromosomes regroupés en éventail aux pôles cellulaires, où ils forment une masse compacte hyperchromatique. La reconstruction du noyau commence : l'enveloppe nucléaire se reforme. Les chromosomes deviennent moins compacts, ils se dés spiralisent. L'enveloppe nucléaire se reconstitue à partir du RE.

À la fin de cette période, les nucléoles réapparaissent à partir des organisateurs nucléolaires des chromosomes 13, 14, 15, 21, 22. En même temps, une membrane se forme et sépare les deux futures cellules filles : c'est la *plasmodiérèse* (cytodiérèse ou cytokinèse).

La cytodiérèse

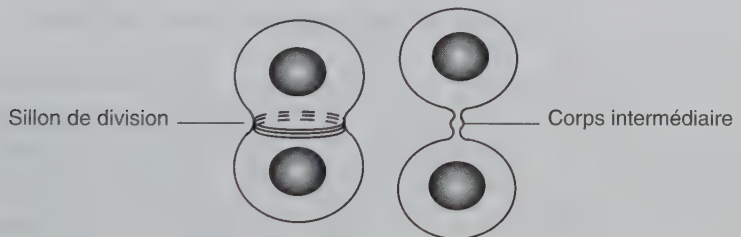
■ Différenciation de l'anneau contractile

À la fin de la télophase, les deux cellules filles se séparent. Un anneau contractile (fig. 5.5), constitué par des MFs et des myofilaments de myosine II (myosine bipolaire), se met en place immédiatement sous la membrane plasmique : il s'associe à la membrane par l'intermédiaire de protéines d'ancrage. Il assurera la séparation des deux cellules.

En même temps, un *sillon de division* commence à dessiner une simple dépression de la membrane plasmique. L'emplacement de ce sillon est déterminé par le plan de la plaque équatoriale, à égale distance de chacun des asters. Cet emplacement est déterminé par les asters, qui envoient un signal (dont la nature est encore inconnue) indiquant l'emplacement du futur sillon de division (en effet, il apparaît même en l'absence de fuseau mitotique).

Fig. 5.5

Anneau contractile. À la fin de la télophase apparaît le sillon de division qui marque l'emplacement de l'anneau contractile (formé par des filaments d'actine et de myosine II). La contraction de cet anneau sépare les deux cellules (cytodiérèse). Avant que la séparation ne soit complète, un corps intermédiaire réunit encore les deux cellules filles. Il contient des MTs du fuseau et un matériel dense.



La répartition des organites (mitochondries, réticulum endoplasmique, lysosomes, peroxysomes, appareil de Golgi) se déroule selon un processus encore mal expliqué.

■ Contraction de l'anneau contractile

À la fin de la télophase, l'anneau se contracte, par glissement des MFs et des filaments de myosine, d'une manière comparable aux filaments d'une fibre musculaire striée. En se contractant, l'anneau entraîne la membrane plasmique dans un

■ La plasmodiérèse ne peut s'achever que si l'un des deux centrioles d'une des deux cellules filles vient au contact du **corps intermédiaire** (pour certains auteurs, ce rôle est imparti au centriole père). Le centriole fils (voir chapitre 12 «Le centrosome et ses dérivés») peut se déplacer beaucoup plus facilement que le centriole père : il est d'ailleurs animé de mouvements permanents alors que le centriole père est relativement immobile. Tout en restant attaché au centriole père par un lien lâche et flexible, il se déplace vers le corps intermédiaire, le rencontre. Cette rencontre provoque la séparation des deux cellules filles.

mouvement de fermeture, analogue à celui d'un diaphragme. En même temps qu'il se contracte, il perd des filaments, de telle manière que l'épaisseur de l'anneau reste constante.

■ Le corps intermédiaire

À la fin de la cytotidiérèse, l'anneau contractile ne contient plus de filaments d'actine et de myosine. Juste avant la séparation des deux cellules filles, il subsiste une formation ovoïde de 1 μm de diamètre sur 2 à 3 μm de longueur, le **corps intermédiaire**, qui réunit encore les deux cellules. Ce corps intermédiaire contient les microtubules polaires englobés dans une substance dense et amorphe (voir «Le centriole fils et le centriole intermédiaire», p. 504).

■ Conditions de formation de polycaryons

Le lithium, la cystéamine, les cytochalasines (extraites d'*Helminthosporium* et de *Metarhizium*) inhibent le clivage cytoplasmique et provoquent la formation de polycaryons.

Au cours de la prophase, les fibres nucléosomiques se condensent, le dédoublement des centrosomes met en place le fuseau mitotique. À la prométaphase, l'enveloppe nucléaire se rompt, les MTs appartenant à chacun des MTOCs se lient à l'un des kinétochores qui lui fait face. Les mitochondries se regroupent. À la métaphase, les chromosomes occupent la plaque équatoriale. Le fuseau contient des fibres polaires et kinétochoriennes. À l'anaphase, chaque paire de chromatides se sépare en deux chromosomes indépendants, qui migrent vers l'un des pôles. Au cours de la télophase, le noyau se reforme, le nucléole réapparaît, les chromosomes se décondensent. Un anneau contractile (MTs et myosine II) sépare les cytoplasmes des deux cellules filles en se contractant.

Les chromosomes et le cycle cellulaire

Variations de forme au cours du cycle

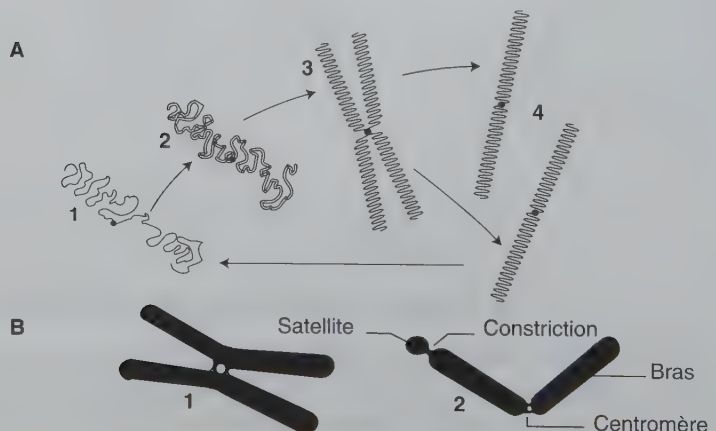
Au cours du cycle cellulaire, les chromosomes subissent eux aussi un cycle (fig. 5.6). Pendant la *phase G1*, les chromosomes sont constitués par une fibre nucléosomique. À la fin de la *phase S*, ils sont formés par deux fibres nucléosomiques réunies par un centromère. Au cours de la *phase M*, les fibres nucléosomiques sont fortement

Fig. 5.6

Cycle de spiralisation du chromosome.

A. 1. Chromosome au cours de la phase G1. 2. Chromosome en phase G2. 3. Chromosome métaphasique. 4. Chromosomes anaphasiques.

B. Microscopie optique : 1. Chromosome métaphasique. 2. Chromosome anaphasique.



condensées et chacune d'elles se dispose autour de protéines, formant l'axe chromosomique. Les *chromosomes métaphasiques* sont constitués par deux chromatides appariés et réunies, au niveau d'une zone de constriction dite primaire, par l'intermédiaire de leur centromère. Chaque centromère correspond à une zone de chromatine très condensée (hétérochromatine). Au niveau du centromère, des complexes protéiques spécialisés, les kinétochores, se différencient un peu avant la fin de la prophase. Dès le début de l'*anaphase*, les chromatides se séparent, de telle sorte que chaque chromosome devient monochromatidien : chacun possède une constriction primaire et un kinétochore.

À la fin de la *télophase*, les chromosomes perdent leur structure par désérialisation.

Les télomères

Les télomères sont les segments terminaux des bras des chromosomes, qui sont indispensables pour maintenir l'intégrité du matériel génétique pendant le cycle cellulaire. Ils interviennent dans la prolifération cellulaire et pourraient être impliqués dans la cancérogénèse.

■ Composition de l'ADN télomérique

Les *télomères* sont constitués par des répétitions en tandem d'un motif de 6 paires de bases, le même chez tous les Vertébrés. Le brin qui court dans le sens $5' \rightarrow 3'$ est porteur du motif TTAGGG, riche en guanine. Le brin complémentaire ($3' \rightarrow 5'$) porte le motif AATCCC. Le brin riche en guanine (G) dépasse l'autre brin d'une quinzaine de nucléotides. Ainsi, chaque chromosome s'achève à son extrémité par une courte queue monocaténaire. Ces motifs sont unipolaires : les télomères ne peuvent donc être inversés, contrairement aux centromères ou aux origines de la réplication.

■ Fonctions des télomères

Leur perte déclenche des mécanismes très divers de réparations (translocation, fusion, délétion, inversion, etc.). La perte des télomères a permis de montrer que :

- les télomères protègent les extrémités des chromosomes contre les nucléases (réparation des cassures);
- les télomères participent à la constitution des compartiments nucléaires en se liant à l'enveloppe ou à des éléments de la matrice nucléaire. Les compartiments télomériques agissent sur la transcription en enfermant des facteurs de transcription.

■ Réplication des télomères

Des mécanismes complexes surveillent et maintiennent l'intégrité des télomères. La réplication complète des télomères, par les mécanismes habituels de réplication, est impossible. Seul le brin d'ADN répliqué par synthèse discontinue a la même longueur que la molécule mère. Celle répliquée par synthèse continue est plus courte que le brin parental. Une télomérase (transcriptase inverse) ajoute des répétitions télomériques à l'extrémité $3'$, à partir d'une matrice d'ARN, et compense ainsi la diminution de longueur (voir aussi « Réplication des télomères » p. 197 et fig. 4.17).

Les centromères

Les centromères et les kinétochores sont des structures responsables de l'accrochage bipolaire des chromosomes au fuseau en cours de formation,

du rassemblement des chromosomes au niveau de la plaque équatoriale, de la séparation simultanée des chromatides sœurs par destruction d'une glu moléculaire et de leur mouvement au cours de l'anaphase.

■ Le domaine centromérique

Des recherches récentes ont montré que l'activité centromérique est associée à l'hétérochromatine centromérique (domaine centromérique).

Le *domaine centromérique* correspond à la constriction primaire du chromosome métaphasique. Dans cette région, où le kinétochore s'assemble, l'ADN est caractérisé par de longues séquences monotones répétitives en tandem : chaque séquence comprend 170 nucléotides répétés environ 3 000 fois. Ces séquences peuvent être isolées de la totalité du génome, en morcelant l'ADN en fragments de quelques centaines de nucléotides. Ces fragments d'ADN sont désignés par les termes d'ADN satellite (ADN de séquence simple ou ADN alphoïde).

Chez les Eucaryotes multicellulaires, les séquences d'ADN, qui donnent au centromère sa fonction complète, sont extrêmement difficiles à identifier.

La fragmentation *in vivo* des chromosomes humains indique que la fonction du centromère est associée aux répétitions de l'ADN alphoïde. L'introduction de ces répétitions dans un chromosome artificiel provoque l'assemblage de structures, qui aboutit à la formation d'un kinétochore actif. Ces séquences répétitives d'ADN satellite constituent un élément suffisant pour constituer un centre de *nucléation* de l'assemblage du kinétochore.

Cet ADN centromérique a la particularité de fixer des protéines spécifiques, dont certaines servent de sites d'attachement aux MTs : il s'agit des protéines du kinétochore.

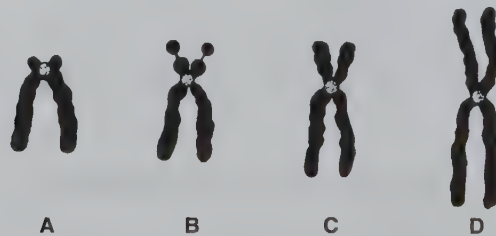
■ Classification des chromosomes

Très schématiquement, les chromosomes se classent, en fonction de la position du centromère, en chromosomes *acrocentriques*, *télocentriques*, *subtélocentriques*, *métacentriques* (fig. 5.7).

Fig. 5.7

Schéma général des différents types de chromosome métaphasique.

- A. Chromosome acrocentrique.
- B. Chromosome télocentrique.
- C. Chromosome submétacentrique.
- D. Chromosome métacentrique.



■ Séparation des centromères à la métaphase

La séparation des chromatides dépend de celle des centromères de chaque chromatide. Elle se produit grâce :

- à une population spécifique de topoisomérases II associée au cycle cellulaire; le centromère se distingue du reste du chromosome par la quantité élevée de topoisomérases, qui décroît après la séparation des chromatides; ces topoisomérases agissent sur les zones d'attachement de l'ADN satellite;
- à la dégradation de la cohésine.

Le kinétochore

Le kinétochore est un complexe macromoléculaire, qui s'assemble sur les deux faces du centromère de chaque chromosome et qui sert de lien entre les MTs du fuseau et le chromosome mitotique.

Les kinétochores, centres de nucléation des MTs, contrôlent la position des chromosomes sur le fuseau mitotique, stabilisent les MTs kinétochoriens en coiffant leur extrémité positive, participent directement au point de contrôle de l'assemblage du fuseau.

■ Structure

Le kinétochore des Vertébrés est habituellement une structure trilamellaire. Il est formé par :

- une *plaque externe* ou *corona* (couronne) bien définie : c'est un complexe épais de 35 à 40 nm, contenant des fibres de 10 à 20 nm de diamètre qui courent presque perpendiculairement à l'axe longitudinal du chromosome;
- une *plaque moyenne*, transparente au rayonnement électronique, traversée par des fibres parallèles qui unissent la plaque externe et la plaque interne;
- une *plaque interne* mal définie, intimement liée à la constriction primaire sous-jacente. Elle est séparée de la plaque externe par un espace, mais associée à la plaque externe par les fibres émanant de la plaque externe.

■ Mise en évidence des protéines kinétochoriennes

Les sujets atteints de sclérodermie, une maladie rare, grave, caractérisée par une fibrose du tissu conjonctif du derme et de divers organes, élaborent des auto-anticorps anti-protéines kinétochoriennes. Ces auto-anticorps, associés à une substance fluorescente, colorent spécifiquement certaines protéines kinétochoriennes. Ils révèlent ainsi la présence d'un kinétochore par chromosome au cours de la phase G1, de deux kinétochores au cours de la phase G2 et de la métaphase.

■ L'ADN centromérique, charpente du kinétochore

L'ADN centromérique forme l'épine dorsale structurale du kinétochore, sur laquelle les protéines spécifiques du kinétochore se lient directement ou indirectement.

■ Les moteurs moléculaires associés aux kinétochores

Trois moteurs moléculaires différents sont localisés dans les kinétochores. Il s'agit :

- de la *dynéine cytoplasmique* localisée dans la couronne (corona);
- de deux *krps* (kinesin-related proteins; protéines apparentées à la kinésine), CENP-E (centromere protein-E; protéine centromère E) et MCAK (mitotic centromere-associated kinesin; kinésine associée au centromère mitotique).

CENP-E est une protéine (312 kDa) qui s'accumule au cours de la phase G2 du cycle cellulaire. Elle s'associe aux kinétochores au cours de la formation de la plaque équatoriale, pendant l'anaphase A, et disparaît à la fin de la division cellulaire. CENP-E est un moteur responsable, chez les Mammifères, des mouvements chromosomiques et/ou de l'allongement du fuseau. CENP-E est, comme la dynéine, localisée dans la région la plus externe du kinétochore.

MCAK (90 kDa) est un membre de la superfamille KIF2 (kinesin superfamille factor; facteur de la superfamille de la kinésine) : elle se déplace vers l'extrémité positive des MTs. MCAK est localisée dans les kinétochores, à proximité de l'hétérochromatine.

■ Protéines kinétochoriennes d'assemblage et de condensation de l'ADN

Les kinétochores contiennent des protéines d'assemblage et des protéines de condensation de l'ADN. Ces protéines sont :

- la protéine *CENP-A* (17 kDa), qui contient un domaine carboxy-terminal identique à 62 %, celui de l'histone H3 ; ce domaine est nécessaire pour le ciblage de la protéine au centromère.

- la protéine *CENP-B* (80 kDa), qui varie quantitativement d'un chromosome à un autre. *CENP-B* est présente dans les centromères stables des autosomes dicentriques, actifs et inactifs. Elle est distribuée dans la totalité du centromère. *CENP-B* est un composant invariant du kinétochore. Elle interviendrait dans la condensation de l'ADN.

- la protéine *CENP-C* (140 kDa), qui est constante sur tous les chromosomes. Elle se localise dans la plaque externe. Elle n'est pas détectable dans les centromères inactifs. *CENP-C* est nécessaire à l'assemblage du kinétochore et au maintien de son état fonctionnel, c'est-à-dire de son aptitude à se lier aux MTs.

- la protéine *CENP-F*, localisée dans tout le noyau au cours de la phase G2. Au cours de la prophase, elle se localise dans tous les kinétochores, au niveau de la surface externe de la plaque externe, et disparaît des kinétochores à l'anaphase A pour se répartir dans la région moyenne du fuseau. À la télophase, elle se concentre dans une bande étroite, de chaque côté du corps intermédiaire.

■ Fonctions des kinétochores

Les kinétochores agissent sur le point de contrôle de la phase M. En effet, ils provoquent la formation d'un signal inhibiteur, bloquant la transition métaphase-anaphase lorsqu'ils ne sont pas associés à un MT ou lorsque la tension MT/kinétochore est insuffisante.

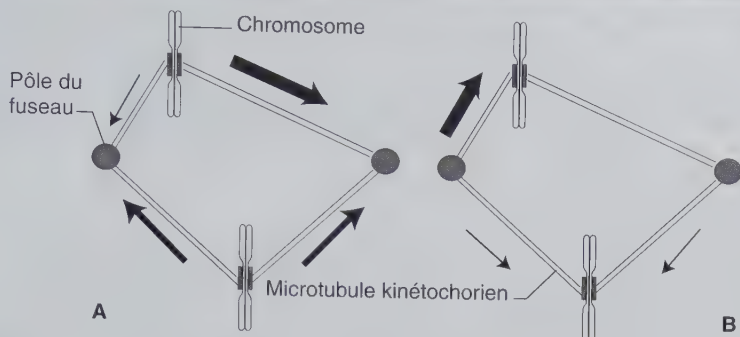
Fixation des chromosomes aux microtubules

Les kinétochores, au début de la prométaphase, capturent, grâce à la dynéine qu'ils contiennent, l'extrémité positive des MTs. Au moment de la capture, un seul kinétochore est lié au MT. Le chromosome est dit mono-orienté. Ce chromosome mono-orienté se dispose parallèlement au MT, adhère par un seul kinétochore à ce MT. La dynéine est responsable de ce déplacement rapide. Une fois capturé, le kinétochore est rapidement tiré dans le fuseau, où la haute densité en MTs permet au kinétochore d'établir des connexions stables avec l'extrémité positive des MTs. Puis, l'autre kinétochore capture un MT provenant du pôle opposé du fuseau. Le chromosome est alors bi-orienté.

Déplacement des chromosomes à la métaphase.

Au cours de la prométaphase et de la métaphase, les chromosomes se déplacent vers la plaque équatoriale (fig. 5.8). Ce mouvement vers la plaque équatoriale est le résultat d'une alternance des mouvements en direction des pôles et d'éloignement des pôles. Chaque kinétochore est doué d'une instabilité directionnelle. Les kinétochores subissent de brusques modifications de la direction de leur migration. Le même kinétochore peut

Fig. 5.8
Forces de traction et d'exclusion (d'après ALBERTS).
A. La force de traction sur les chromosomes est proportionnelle à la longueur des MTs kinétochoriens.
B. La force de répulsion astrale est inversement proportionnelle à la distance chromosome-pôle.



se diriger vers un pôle, alors que 6 secondes plus tard il s'en éloignera. Ces changements de direction ne déplacent les chromosomes sur le fuseau que si le kinétochore le plus près d'un pôle persiste dans son mouvement d'éloignement, tandis que son frère se dirige vers l'autre pôle.

Au cours de ces mouvements, le centromère est étiré ou comprimé. Lorsqu'un chromosome migre en direction d'un pôle du fuseau, il rencontre une force opposée, la *force de répulsion astrale*, qui provient de l'accroissement numérique des MTs en croissance. Les bras d'un chromosome bi-orienté sont donc repoussés par les pôles, tandis que le kinétochore se déplace vers le pôle : le centromère est donc étiré en direction du pôle.

Lorsque cet étirement dépasse un seuil critique, les activités des moteurs spécifiques et des régulateurs de la dynamique microtubulaire modifient le sens de la migration et le kinétochore migre alors en s'éloignant du pôle. De la même manière, l'accroissement de la compression sur le kinétochore transforme le mouvement d'éloignement des pôles en mouvement en direction des pôles.

Les protéines motrices du kinétochore interviennent dans ces mouvements. Ces protéines sont liées, par une extrémité, à des protéines du kinétochore appelées *protéines d'échafaudage* (scaffold proteins). La dynéine joue un rôle, qui se limite à la capture latérale précoce des MTs et au guidage rapide en direction des pôles. Au cours du mouvement qui éloigne les chromosomes des pôles (la cellule s'allonge ainsi que les MTs), chaque microtubule en cours de croissance pénètre dans la couche externe (corona) du kinétochore et engage MCAK dans la plaque interne. MCAK se déplace vers l'extrémité positive du MT et transporte le kinétochore avec lui. En présence de GTP, MCAK induit la dépolymérisation du MT et se désengage du MT. Le MT est maintenant en relation uniquement avec CENP-E et avec la dynéine. Au cours de la dépolymérisation, CENP-E reste en relation avec le MT, jusqu'à une autre phase de croissance et un autre mouvement d'éloignement des pôles.

Déplacement des chromosomes pendant la métaphase

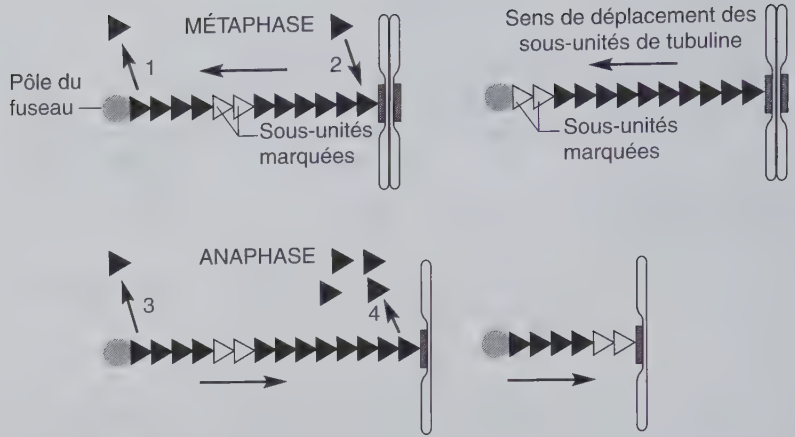
Au cours de la métaphase et de l'anaphase, l'activité des kinétochores maintient le fuseau mitotique dans un état dynamique. Pendant l'anaphase, le marquage par composés fluorescents montre que les molécules de tubuline sont perpétuellement associées aux kMTs au niveau des kinétochores et désassociées au niveau des centrosomes des pôles du fuseau, de telle sorte que les molécules de tubuline se déplacent du kinétochore en direction des pôles (fig. 5.9). Un tel mécanisme porte le nom de « marche forcée » (les kinétochores associés aux MTs sont donc entraînés en direction des pôles). Ce mécanisme permet de mieux comprendre comment la

Fig. 5.9

Microtubules kinétochoriens (d'après ALBERTS).

Métaphase : l'addition de sous-unités (2) de tubuline au niveau du kinétochore équilibre la soustraction (1) au niveau du pôle du fuseau. Il existe un flux constant de sous-unités en direction du pôle du fuseau.

Anaphase : la soustraction de sous-unités est plus importante au niveau du kinétochore (4) qu'au niveau du MTOC (3). La chromatide est « tirée » vers le pôle fusorial. Les sous-unités sont représentées par un triangle ►.



colchicine, qui inhibe la polymérisation de la tubuline, a une activité antimitotique.

Déplacement des chromosomes pendant l'anaphase

Le début de l'anaphase se caractérise par une séparation des deux chromatides sœurs du chromosome métaphasique. Chaque chromatide devient alors un chromosome.

Au cours de l'anaphase A, les chromosomes provenant d'un chromosome métaphasique sont tirés vers chacun des pôles opposés. La dépolymérisation des microtubules, à leur extrémité kinétochorienne (fig. 5.10), permet le déplacement de chacun des chromosomes en direction de chacun des pôles.

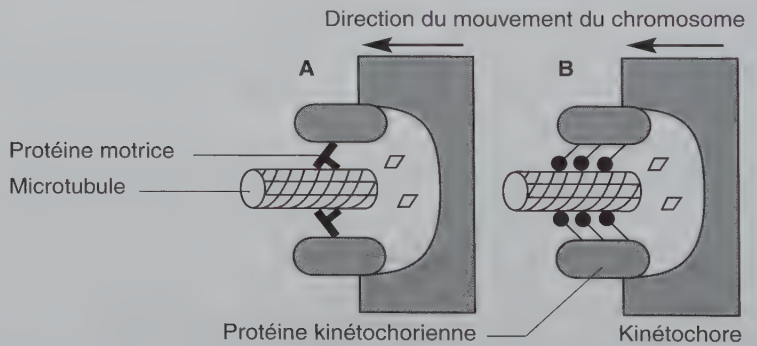
Au cours de l'anaphase B, les pôles du fuseau s'éloignent l'un de l'autre. Ce mécanisme de séparation des centrosomes diffère entre les organismes. Au cours de l'évolution, ce mécanisme s'est modifié. À son origine, il était probablement basé sur le glissement de MTs adjacents, de polarité contraire, provenant des pôles opposés. Mais, chez les Eucaryotes les plus développés, la séparation des pôles du fuseau mitotique, au moment de l'anaphase B, dépend de forces de traction des pôles du fuseau.

Fig. 5.10

Kinétochore et déplacement chromosomique au cours de l'anaphase. (D'après ALBERTS.)

A. Des protéines motrices kinétochoriennes ATP dépendantes tirent le chromosome vers l'un des pôles du fuseau : le MT perd des sous-unités de tubuline au fur et à mesure de sa progression.

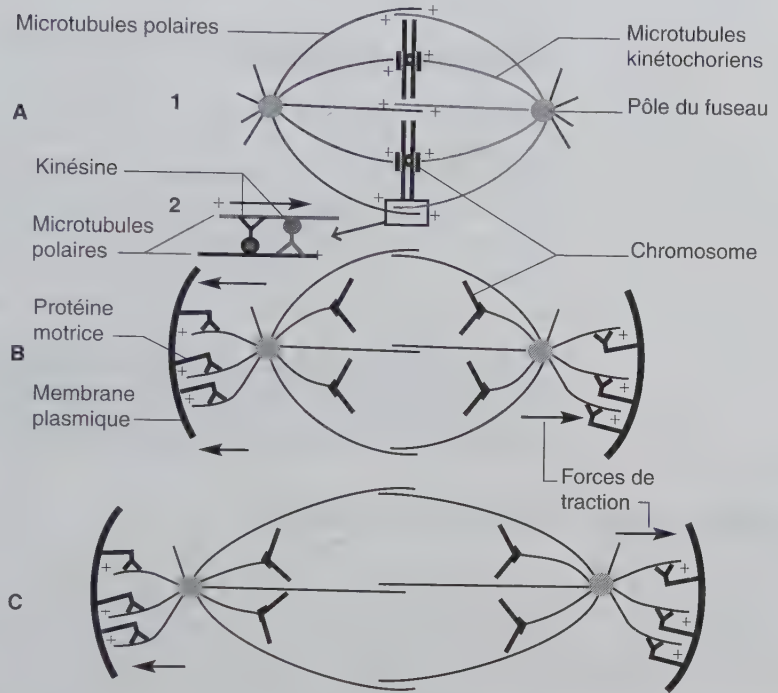
B. Le MT se dépolymérise au niveau du kinétochore, tandis que des protéines kinétochoriennes adhèrent fortement au MT. Le kinétochore glisse en direction d'un des pôles cellulaires, entraînant ainsi le chromosome.



Cette force d'attraction astrale est générée par les MTs astériens, qui interagissent avec le cytosol et le cortex de la cellule (fig. 5.11). Des protéines motrices associées au cortex cellulaire sont liées aux extrémités positives des microtubules astériens : elles agissent sur les pôles du fuseau en développant une force de traction centrifuge.

Fig. 5.11

Mouvement des chromosomes au cours de l'anaphase. A. Anaphase A : 1. Les MTs kinétochoriens se raccourcissent par dépolymérisation et tirent chacune des chromatides vers un pôle du fuseau. 2. Les MTs polaires se chevauchent dans le plan équatorial du fuseau. Des protéines motrices (probablement la kinésine) génèrent des forces qui font glisser les MTs les uns par rapport aux autres dans le sens des flèches. B et C. Anaphase B : les protéines motrices de l'extrémité positive des MTs kinétochoriens, situés dans le cortex cellulaire, tirent sur les pôles du fuseau (réaction centrifuge) et les éloignent l'un de l'autre.



Les kinétochores interviennent dans l'enroulement de l'ADN, dans la fixation des MTs, dans le contrôle de la polymérisation et la dépolymérisation des kMTs. Le mécanisme de déplacement des chromosomes est complexe : il dépend de la longueur des kMTs, des forces répulsives et des forces de traction des pôles fusoriaux.

Agents antimitotiques

Les agents antimitotiques sont soit des substances, soit des radiations capables d'inhiber ou de modifier le déroulement de la mitose. Certaines substances n'exercent pas un effet spécifique, c'est-à-dire qu'elles n'agissent pas à un moment donné de la mitose. D'autres, au contraire, ont une action spécifique soit sur l'ADN pendant l'interphase, soit sur le fuseau, soit sur les chromosomes, soit sur la cytotéière.

Lésions de l'ADN

Les lésions de l'ADN peuvent interrompre le cycle cellulaire. Les antibiotiques, les antimétabolites et les agents alkylants, certains colorants ont une activité antimitotique en agissant sur l'ADN au cours de certaines périodes de l'interphase. Ils peuvent bloquer la cellule en phase G₂, juste avant la mitose.

Atteintes fusoriales

Les substances végétales comme la colchicine, la colcémide, la podophylline, la vincristine et le sulfate de vinblastine sont des poisons fusoriaux, qui inhibent la formation de l'appareil mitotique. La mitose reste bloquée en métaphase. Elle aboutit à la formation de gros noyaux tétraploïdes. La cytotidérèse ne se produit pas et la cellule dégénère.

Lésions des chromosomes

Les chromosomes peuvent soit se séparer d'une manière défectueuse, soit se fragmenter. Ainsi, la tryptaflavine provoque des anomalies mitotiques en retardant des chromosomes dans leur ascension vers les pôles. Les radiations ionisantes cassent et fragmentent les chromosomes. Des fragments de chromosomes dépourvus de centromère se répartissent au hasard dans les cellules filles. Les chromosomes peuvent se ressouder soit à d'autres fragments, soit à des chromosomes entiers, ou ne pas réintégrer le noyau des cellules filles et donner des micronoyaux avec micronucléoles.

Les antimitotiques agissent soit sur l'ADN pendant l'interphase, soit sur les chromosomes (fragmentation), soit sur le fuseau ou la cytotidérèse. Ils peuvent stopper le cycle cellulaire ou inhiber la mitose.

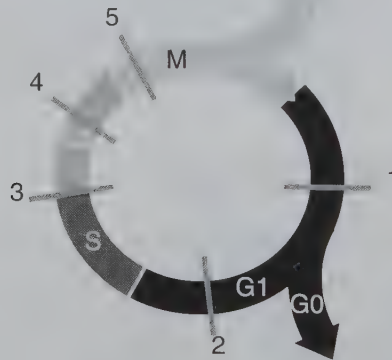
Contrôle du cycle cellulaire

Le bon déroulement du cycle cellulaire dépend d'un point de restriction et de divers points de contrôle (en G1, en S, en G2 et en M). Le point de restriction et les points de contrôle vérifient s'il n'y a pas eu de modifications du patrimoine génétique. Dans le cas où l'information serait modifiée, le point de restriction et les points de contrôle interrompraient le cycle cellulaire (fig. 5.12).

Fig. 5.12

Les points de contrôle du cycle cellulaire.

1. Point de restriction : existe-t-il des facteurs de croissance? Sinon la cellule ne parcourt pas le cycle et gagne la phase G0. 2. Point de contrôle en G1 : l'ADN est-il endommagé? La taille de la cellule est-elle suffisante? 3. Point de contrôle en S : l'ADN est-il répliqué? 4. Point de contrôle en G2 : l'ADN est-il endommagé? 5. Point de contrôle en M : les chromosomes sont-ils bien alignés sur la plaque équatoriale? En cas de problème pour un seul de ces aspects, la cellule interrompt un cycle normal.



Le point de restriction

Il a été mis en évidence sur des cellules en phase G0 placées en culture. L'ajout de facteurs de croissance à la culture déclenche la phase S, une vingtaine d'heures après

l'adjonction de ces facteurs. Il faut laisser ces facteurs en contact avec les cellules pendant au moins quatorze heures sinon la cellule ne passe pas en phase S. Lorsque les cellules sont entrées en phase S, elles peuvent, dans le milieu minimum sur lequel elles vivent, accomplir la totalité du cycle. Une telle expérience démontre bien qu'il existe un point particulier franchi si la cellule ne présente aucune anomalie.

Les points de contrôle

Chacun des points de contrôle peut interrompre le cycle cellulaire : la cellule est autorisée à poursuivre le cycle si elle ne présente pas d'anomalie de l'ADN. À chacun des points de contrôle, la cellule se trouve donc en état de recevoir des signaux lui donnant la permission de poursuivre le cycle cellulaire. Ces signaux sont des complexes constitués par l'association ou la combinaison d'une protéine kinase à une cycline (voir « Les familles de protéines qui contrôlent le cycle »).

Il existe quatre points de contrôle, un point pour chacune des phases du cycle :

- le *point de contrôle en G1* : si une anomalie apparaît au cours de cette phase, en particulier des altérations mêmes légères de l'ADN, le cycle cellulaire est interrompu;
- le *point de contrôle de la phase S* qui évalue la réplication ou la non-réplication de l'ADN;
- le *point de contrôle de la phase G2* qui vérifie l'existence ou l'absence d'altérations de l'ADN néoformé;
- le *point de contrôle au cours de la phase M* qui dépend de la formation de la plaque équatoriale et de l'absence d'anomalie de l'ADN. Il permet, si ces deux conditions sont remplies, la poursuite de la mitose c'est-à-dire le passage à l'anaphase.

Les familles de protéines qui contrôlent le cycle

Le franchissement des points de contrôle dépend de l'interaction de plusieurs familles de protéines :

- les protéines Cdk (cyclin-dependant protein kinases; kinases cycline-dépendantes),
- les cyclines,
- les protéines CKI (cyclin-dependant protein kinases inhibitors; inhibiteurs des protéines kinases dépendantes des cyclines) qui regroupent p53, p21 et p16. Elles interviennent dans le rétrocontrôle du cycle cellulaire.

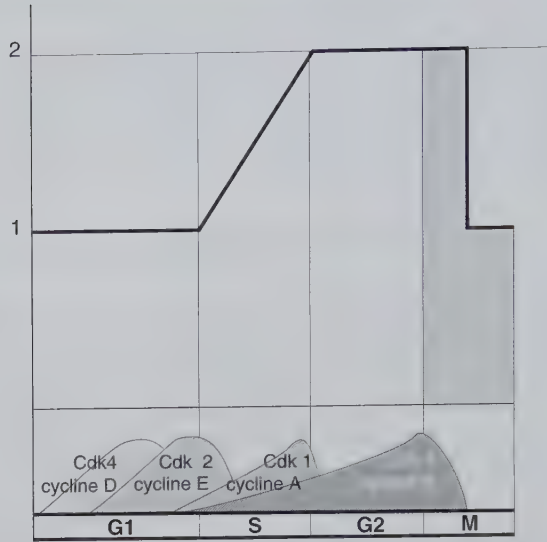
■ Les kinases dépendantes de la cycline (Cdk) (fig. 5.13)

Ces protéines kinases sont désignées chez l'Homme par l'abréviation Cdk. Elles appartiennent à une famille d'enzymes qui catalysent des réactions nécessaires pour que la cellule puisse parcourir complètement le cycle cellulaire. *L'activité enzymatique des Cdk*, c'est-à-dire l'activité kinase, ne peut se produire qu'à trois conditions : la Cdk est activée par une phosphorylation induite par CAK (Cdk-activating kinase; kinase activatrice de Cdk), elle n'est pas combinée à un inhibiteur, elle est associée à une cycline.

Chez l'Homme, au moins sept Cdk ont été identifiées. Par contre, il n'existe qu'un seul type de Cdk chez la levure.

Fig. 5.13

Contrôle du cycle cellulaire.
Les quatre courbes en forme de cloche représentent la concentration des différents complexes Cdk-cycline au cours du cycle. En abscisses : les phases G1, S, G2, M; en ordonnée : la quantité d'ADN en unités arbitraires (1 avant la phase S et 2, c'est-à-dire le double, après la phase S).



■ La concentration des **cyclines** dépend de la régulation de la transcription des gènes qui les codent et de leur dégradation. Par exemple, la transcription des gènes des cyclines D est induite par les cytokines (facteurs de croissance). Le complexe cycline-Cdk, qui se forme au tout début de la phase, déclenche la synthèse des cyclines plus tardives. La concentration en cyclines est étroitement contrôlée. La dégradation rapide des cyclines A et B est essentielle à la sortie des cellules de la mitose : elle dépend de l'ubiquitine, une enzyme existant dans toutes les cellules eucaryotes. Cependant, toutes les cyclines ne sont pas soumises à l'action de l'ubiquitine. Celles qui interviennent au cours de la phase G1 ne le sont pas. Elles possèdent une séquence d'acides aminés PEST (P, proline; E, acide glutamique; S, sérine; T, thréonine) qui détermine vraisemblablement la courte durée de leur vie.

■ Les cyclines

Leur *principal rôle* est d'activer les protéines Cdk en formant des complexes avec elles. Les cyclines sont des polypeptides dont la concentration varie au cours du cycle cellulaire : elles apparaissent et disparaissent à chacun d'entre eux (fig. 5.13). Elles sont caractérisées depuis longtemps chez les embryons d'Invertébrés (oursins, étoiles de mer, clams). La première cycline découverte est la cycline B qui s'accumule pendant les phases G1, S, G2 et qui est détruite à la fin de la division.

Les cyclines sont une *grande famille*. On connaît actuellement une dizaine de types de cycline, capables de former des complexes avec Cdk afin de contrôler les diverses étapes du cycle cellulaire. Elles sont désignées par les lettres A, B, C...

Les cyclines possèdent toutes une *région caractéristique* qui les différencie les unes des autres : cette région est dénommée cycline-box. Elles possèdent également une région de dégradation appelée boîte de dégradation ou dégradation box. Cette boîte est une séquence particulière qui est reconnue par les protéines DBRP (dégradation box recognition protein; protéines de reconnaissance de la boîte de dégradation). Cette protéine permet la polyubiquitination, c'est-à-dire la fixation de molécules d'ubiquitine sur la cycline. Les molécules d'ubiquitine sont des signes de reconnaissance pour les protéasomes (voir chapitre 8 « Ribosomes et réticulum endoplasmique »).

Leur expression est cyclique

Chaque phase est marquée par l'action d'un complexe Cdk-cycline (fig. 5.13). Ainsi :

- le complexe Cdk4-cycline D atteint dans la cellule son pic de concentration au moment du point de restriction;
- le complexe Cdk2-cycline E atteint son pic au début de la phase S;
- le complexe Cdk1-cycline A atteint son pic au début de la phase G2;
- le complexe Cdk2-cycline B atteint son pic au début de la phase M.

La formation des complexes cycline-cdk

Pour qu'une cycline se combine avec Cdk, sa concentration doit être suffisante : elle se combine alors avec Cdk, qu'elle active en formant un complexe cycline-Cdk.

■ Les protéines inhibitrices CKIs

Les protéines inhibitrices CKIs se classent en deux catégories, en fonction de leur mode d'action. Les membres de la famille p21 (p21, p27 et p57) inhibent les complexes cycline/Cdk en se liant à eux. Par contre, les membres de la famille p16 (p16, p15, p18 et p19) entrent en compétition avec les cyclines pour la liaison aux Cdk.

Mécanisme de contrôle du point R et du point S

Ils sont tous les deux sous le contrôle de l'action du complexe Cdk4-cycline D : mais, l'entrée en phase S nécessite en plus l'activation du complexe Cdk2-cycline E.

Ces deux complexes Cdk4-cycline D et Cdk2-cycline E sont essentiels à la mise en route du cycle cellulaire : ils sont désignés par les termes de *facteur promoteur de la phase S* ou SPF (S phase promoting factor).

Le franchissement du point de restriction n'est pas suffisant pour permettre à la cellule d'effectuer la duplication de son ADN.

Une protéine, la *protéine Rb* intervient également. pRb (retinoblastoma protein; protéine du rétinoblastome) est une phosphoprotéine de 105 kDa. L'absence ou la mutation du gène codant cette protéine sont à l'origine du rétinoblastome, une tumeur maligne de l'enfant. Si pRb n'est pas phosphorylée, elle se combine avec un facteur de transcription, la protéine E2F, et l'inhibe. Les membres de la famille E2F (early factor; facteur précoce) sont des facteurs de transcription : ils contrôlent l'expression des gènes codant les enzymes responsables de la duplication de l'ADN et les cyclines E et A. Le complexe pRb-E2F inhibe donc la synthèse de ces enzymes. La protéine Rb phosphorylée n'inhibe pas E2F.

Le complexe Cdk4-cycline D de SPF phosphoryle la protéine Rb, ce qui a pour effet d'inhiber la formation du complexe Rb-E2F et rend possible la synthèse des cyclines A et E.

Le point de contrôle de la phase S

L'entrée de la cellule en phase S dépend des deux complexes qui constituent le SPF. La cellule, en fin de phase G1, contient plus de Cdk2-cycline E que de Cdk4-cycline D; la cellule peut entrer en phase S car l'inhibition de la protéine Rb est telle qu'elle n'est plus alors capable d'inhiber les facteurs de transcription.

Le point de contrôle de la phase G2

Le facteur MPF (mitosis promoting factor; facteur promoteur de la mitose) contrôle l'entrée de la cellule en mitose en « s'assurant » que la cellule, à la fin de la phase G2, ne présente pas d'anomalie.

Le facteur MPF a été découvert de la manière suivante : la fusion d'une cellule en cours de division avec une cellule interphasique induit la condensation des chromosomes de la cellule interphasique.

Le MPF est un complexe hétérodimérique constitué par la combinaison, chez l'Homme, d'une molécule de Cdk1 avec une molécule de cycline B. La cycline B s'accumule dans la cellule depuis la fin de la phase G1 jusqu'à la phase M.

■ Le **rétinoblastome** provient de la prolifération de cellules indifférenciées (rétinoblastes). Cette maladie apparaît généralement à l'âge de trois ans (le tiers des cas apparaît à cet âge). Le rétinoblastome est lié à un gène simple dominant. La tumeur s'étend dans les différentes tuniques de l'œil et dans le nerf optique vers le crâne. Elle donne des métastases par voie lymphatique et sanguine.

■ Protéine Rb et cancer

L'inhibition de pRb est cancérogène. Les protéines oncogènes des virus oncogènes (le virus SV40, l'adénovirus, le virus du papillome humain) se fixent sur pRb et la séquestrent. E2F est libéré et actif constitutivement. Cette inactivation de pRb produit une surexpression de la cycline D, qui conduit à la prolifération anarchique des cellules.

■ Chez *Xénopus*, un batracien d'Afrique du sud, MPF comprend deux sous-unités protéiques, une de 34 kDa et l'autre de 45 kDa. La protéine p34 est une sérine-thréonine kinase, une enzyme qui phosphoryle certaines protéines sur les résidus sérine et thréonine. p34 existe chez les Lévores : elle est codée par le gène *cdc2*. Le gène humain correspondant, introduit dans une levure, remplace le gène de levure dans des cellules mutantes incapables d'entrer en mitose... p34 est désignée universellement par p34^{cdc2}. Elle est activée par la cycline B.

Le complexe MPF se forme pendant l'interphase au cours de laquelle il demeure inactif. En effet, la séquence DBRP de la cycline B est inactivée par une phosphatase, ce qui rend possible l'accumulation d'un MPF qui demeure inactif.

Les complexes Cdk1-cycline B mitotiques (MPF), qui sont phosphorylés au cours de la phase G2, finissent par activer le MPF qu'ils constituent.

Le complexe MPF intervient dans le démarrage de la division cellulaire par phosphorylation :

- des lamines, participant ainsi à la dissociation de l'enveloppe nucléaire;
- de l'histone H1, mais également des autres histones déterminant des modifications conformationnelles de la chromatine qui aboutissent à la condensation des chromosomes;
- des protéines associées aux microtubules (MAPs, IFs) ce qui provoque la formation du fuseau mitotique.

C'est l'inactivation brutale et la dégradation de la cycline B du MPF qui est responsable de la sortie de l'anaphase de la cellule. Deux facteurs interviendraient dans la baisse brutale de la concentration en cycline B :

- la phosphorylation de la boîte de dégradation de la cycline B : le MPF régulerait sa propre dégradation, en l'activant par phosphorylation de la boîte de dégradation de la cycline B, qui entre dans sa constitution;
- l'action d'un complexe APC qui contrôle la dégradation de la cycline B au cours de l'anaphase. Ce facteur intervient aussi au cours de la métaphase : il intervient aussi dans la séparation des chromatides (voir fig. 5.4). Pendant la phase G2, il empêche les cellules d'entrer à nouveau en phase S si elles n'ont pas effectué leur mitose.

La régulation de SPF

SPF est sous le contrôle des facteurs de croissance EGF, PDGF, FGF... En effet, la fixation de ces facteurs sur leur site récepteur déclenche une cascade de réactions qui aboutissent à :

- l'activation de l'assemblage du SPF,
- la phosphorylation de Rb qui peut ainsi libérer E2F.

En l'absence de toute action liée à des facteurs de croissance, la cellule demeure en phase G0.

■ *Au cours de la prophase et du début de la prométaphase, ce phospho-épitope est exprimé dans tous les kinétochores d'une manière égale. Les chromosomes non alignés portent cet épitope très fortement marqué sur les deux kinétochores.*

Au milieu de la prométaphase, les kinétochores (liés aux MTs) des chromosomes, qui se déplacent vers la plaque équatoriale, sont fortement marqués tandis que les autres (non liés aux MTs) ne le sont pas.

Au cours de la métaphase et de l'anaphase, les kinétochores ne sont pas marqués. Cet épitope intervient dans la régulation des mouvements chromosomiques et la progression du cycle cellulaire.

Mécanisme de contrôle de la métaphase

Les kinétochores régulent le point de contrôle de la mitose (également appelé point de contrôle de l'assemblage du fuseau) en évaluant la tension des MTs kinétochoriens. La fonction de ce point de contrôle est de retarder le début de l'anaphase, jusqu'à ce que tous les chromosomes soient correctement alignés au niveau de la plaque équatoriale.

Un *épitope* (site antigénique) phosphorylé est porté par les kinétochores des chromosomes au cours de la mitose. Il est possible de le colorer par les techniques d'immunofluorescence.

Cet épitope signe l'existence d'une phosphorylation réversible, probablement associée à une régulation du mouvement des chromosomes au niveau de la plaque équatoriale, pendant la prométaphase. Cet épitope pourrait à ce titre faire partie du point de contrôle de la mitose, point grâce auquel l'anaphase est inhibée jusqu'à ce que l'alignement complet métaphasique soit achevé.

Le rétrocontrôle du cycle cellulaire

Des protéines contrôlent, *a posteriori* (rétrocontrôle), les événements qui se produisent au cours du cycle cellulaire : en cas de dysfonctionnement du cycle cellulaire, ce rétrocontrôle déclenche la mort de la cellule par apoptose.

■ La protéine p53

La protéine p53 est un régulateur de la prolifération de la plupart des types cellulaires. C'est un facteur de transcription qui, en se fixant sur une séquence SST (sequence-specific transactivation; transactivation spécifique de séquence) de l'ADN, active des gènes impliqués dans le déclenchement de l'apoptose ou dans l'arrêt du cycle cellulaire (p21, voir paragraphe suivant).

Elle s'exprime dans les cellules soumises à un stress, par exemple lorsque l'ADN est endommagé. Les altérations de l'ADN provoquent une accumulation de la protéine p53. Elle stoppe le cycle cellulaire en phase G1 pour permettre la réparation de l'ADN avant la phase S, ou bien elle induit l'apoptose de la cellule endommagée. Les facteurs qui déterminent le choix entre l'arrêt du cycle et l'apoptose sont pour l'instant peu compris.

Les mutations du gène codant la p53, chez les Vertébrés supérieurs, prédisposent au cancer et en particulier aux cancers du poumon et du sein. En effet, l'absence de ce mécanisme de rétrocontrôle, liée à la biosynthèse de p53, accroît le nombre des cancers dus à des altérations génétiques.

L'inhibition de la protéine p53 provoque une prolifération cellulaire.

■ La protéine p21

La protéine CKI p21 est un médiateur de l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1, induit par la protéine p53 en réponse à des lésions de l'ADN. Lorsque l'ADN est endommagé, p21 ralentit la progression du cycle cellulaire en inhibant les complexes cyclines/Cdk et en bloquant la réplication du PCNA (proliferating cell nuclear antigen; antigène nucléaire de la prolifération cellulaire) nécessaire à la synthèse de l'ADN au cours de la phase S.

Elle est capable d'inhiber les complexes cyclines-Cdk (cycline E/Cdk2, cycline A/Cdk2 et cycline D/Cdk4).

Si l'expression de p53 n'est pas possible (mutation, délétion du gène), p21 n'est pas activée en réponse au stress : la cellule continue à se multiplier en faisant des erreurs dans la duplication de son ADN, ce qui génère des tumeurs.

■ La protéine p16

La protéine CKI p16 est un inhibiteur de la kinase Cdk4. Dans 60 % des lignées cellulaires provenant de mélanomes malins ou de leucémies et dans 80 % des lignées provenant de gliomes, le gène codant p16 est altéré.

Le cycle cellulaire est contrôlé au niveau des points G1, G2 et M. Le franchissement des points de contrôle dépend des complexes cyclines-Cdk. Les complexes cycline D-Cdk, cycline E-Cdk permettent le franchissement du point R en libérant E2F du complexe E2F/pRb. E2F libéré permet à la cellule d'entrer en phase S. MPF, formé par l'association de cdc2 et de la cycline B, assure la transition G2/M. Certaines protéines, comme la protéine p53, effectuent un contrôle *a posteriori*, en régulant la prolifération cellulaire par inhibition des complexes cyclines/Cdk.

■ Cette **inhibition** résulte de la formation de complexes avec des protéines de virus oncogènes (antigène T du virus SV40, par exemple), complexes qui séquestrent la **protéine p53**. La prolifération anormale est alors favorisée non seulement par l'absence de contrôle en phase G1 mais aussi par l'inhibition du processus d'apoptose.

L'apoptose

L'apoptose est un mécanisme régulateur essentiel, qui intervient dans l'homéostasie tissulaire, par exemple lorsqu'un point de contrôle « refuse » le passage de la cellule, et au cours du développement normal, en éliminant les cellules non souhaitées. C'est une forme stéréotypée de la mort active programmée d'une cellule, (PCD : programmed cell death). Elle se caractérise par une réorganisation nucléaire (densification de la chromatine), des altérations de la membrane plasmique et une ultime fragmentation de la cellule en corps apoptotiques.

Génétique de l'apoptose

Un nématode microscopique, *Caenorhabditis elegans*, a été pris comme modèle expérimental car la localisation et le devenir précis de toutes les cellules prises individuellement sont connus, ce qui a permis de développer une génétique de l'apoptose. Au cours de son développement, 131 des 1 090 cellules embryonnaires de ce nématode meurent avant que ce ver n'atteigne sa maturité. Le mécanisme de la mort de ces cellules est très différent de celui provoqué par la nécrose cellulaire. Des gènes, désignés par l'abréviation *ced* (cell death; mort cellulaire), programment cette mort. Des gènes analogues existent dans tous les organismes vivants multicellulaires. Chez les Mammifères, les gènes ICE (qui signifie interleukin 1 β converting enzyme; enzyme de conversion de l'interleukine 1 β , car cette protéase est impliquée dans le clivage de la pro-interleukine 1 β en interleukine 1 β fonctionnelle) codent pour un ensemble de protéases ICE-like, qui sont aussi dénommées *caspases*.

Nécrose et apoptose

■ Définition de la nécrose

La nécrose est spectaculaire et catastrophique. Les cellules, détruites par une hypoxie, une substance toxique ou un agent infectieux, deviennent plus volumineuses. Les organites se gonflent. La membrane plasmique rompue ne contrôle plus le passage des ions et de l'eau. Les membranes lysosomales se rompent, libèrent, dans le milieu intercellulaire, les enzymes contenues dans les lysosomes, ce qui déclenche une réaction inflammatoire suivie d'une cicatrisation fibreuse, qui dénature l'organisation du tissu (fig. 5.14).

■ Importance de l'apoptose

Des millions de cellules meurent en quelques heures sans entraîner ni inflammation, ni lésion dans les tissus où elles disparaissent. Par exemple, un tiers environ des précurseurs immatures des lymphocytes T meurt chaque jour au cours de l'embryogenèse, sans provoquer la moindre lésion du thymus. L'apoptose est donc un mécanisme aussi important que la mitose.

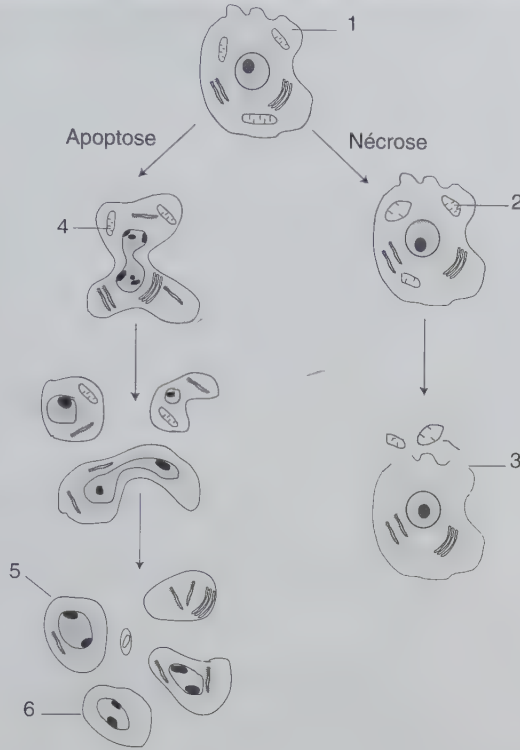
La résorption de la queue des têtards, chez la Grenouille au moment de la métamorphose, se produit par apoptose. La formation des doigts et des orteils du fœtus nécessite la destruction, par apoptose, des cellules qui les unissent. L'élimination de la couche déciduale de la muqueuse utérine lors de la menstruation dépend également de l'apoptose. Enfin, au moment de la formation des connexions neuronales (synapse) dans le cerveau, les cellules en surplus meurent par apoptose...

Fig 5.14

Comparaison entre l'apoptose et la nécrose.

L'apoptose aboutit à la formation de corps apoptotiques qui sont phagocytés en l'absence de toute réaction inflammatoire. La nécrose se traduit par une rupture de la membrane plasmique et de celle des organites; elle déclenche une réaction inflammatoire.

1. Cellule normale. 2. Gonflement des mitochondries. 3. Rupture de la membrane plasmique. 4. Structure des mitochondries préservées. 5. Corps apoptotiques. 6. Membrane plasmique morphologiquement intacte.



De plus, la mort cellulaire programmée est nécessaire pour détruire les cellules qui présentent un risque pour l'intégrité de l'organisme. Par exemple, les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) détruisent les cellules infectées par les virus en induisant leur apoptose : malheureusement, un certain nombre de virus, et en particulier le virus du sida, possède des protéines (la protéine Nef) qui leur permettent d'éviter l'induction de l'apoptose.

Lorsque les défenses de l'organisme contrôlées par l'immunité cellulaire diminuent, les cellules effectrices peuvent être éliminées pour éviter les effets des constituants agressant l'organisme. Les CTL induisent l'apoptose pour chacune de ces cellules et même pour eux-mêmes. L'absence ou la carence du fonctionnement de la machinerie apoptotique est déterminante dans les maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux et l'arthrite rhumatoïde.

Les cellules dont le génome est altéré (ces altérations peuvent provoquer soit un arrêt du développement embryonnaire conduisant à l'avortement, soit un cancer) élaborent une plus grande quantité d'une protéine, la protéine p53 (voir paragraphe intitulé « Le rétrocontrôle du cycle cellulaire ») qui induit l'apoptose. La mutation du gène de la protéine p53 produit une protéine inefficace que l'on rencontre souvent dans les cellules cancéreuses. Enfin les radiations et les substances chimiques utilisées dans la thérapie des cancers induisent l'apoptose de nombreux types de cellules cancéreuses.

Facteurs responsables de l'apoptose

La vie des cellules dépend d'une stimulation continue provenant de signaux émis par d'autres cellules; elle dépend aussi de l'adhésion des cellules voisines avec

lesquelles elles croissent et constituent un tissu. À titre d'exemple, ces signaux positifs sont les facteurs de croissance (EGF, PDGF...), l'interleukine 2 (IL-2) qui est un facteur essentiel nécessaire à la mitose des lymphocytes, etc.

La cellule reçoit des signaux négatifs :

- la présence d'oxydants dans la cellule;
- les lésions de l'ADN par les oxydants ou par d'autres agents comme la lumière ultraviolette, les rayons X, les molécules ayant une activité chimiothérapeutique;
- les molécules qui se lient à des récepteurs spécifiques de la surface cellulaire et qui induisent le début de l'apoptose.

Ces activateurs de la mort cellulaire comprennent :

- le *TNF α* (tumor necrosis factor; facteur de nécrose tumorale). C'est un facteur tumoricide qui possède aussi une action cytostatique sur l'endothélium et qui potentialise l'adhésion des leucocytes à l'endothélium. Le TNF se lie à un récepteur TNF-R.
- les lymphotoxines désignées également sous les termes de facteurs de nécrose tumorale β (TNF β) qui se lie également un récepteur.
- le ligand Fas (FasL), une molécule qui se lie à un récepteur Fas, connue également sous le nom de CD95 (CD : cluster of differentiation; groupe de différenciation).

Le déroulement de l'apoptose

■ Phase initiale

Les récepteurs de la surface cellulaire reçoivent des signaux de mort, qui sont transduits dans le cytoplasme pour activer des **caspases**. Dès la réception de ces signaux, la cellule entre dans une phase initiale, la phase de condamnation irréversible, dont la durée varie considérablement.

■ Phase finale

Elle débute brutalement et dure 15 minutes à 1 heure. Cette phase d'exécution requiert la participation des caspases.

Modifications de la membrane

La phosphatidylsérine (PS) passe de la couche interne à la couche externe. Cette translocation n'est pas spécifique, puisqu'elle se produit aussi au cours de la nécrose cellulaire. L'*annexine*, une protéine capable de se combiner avec PS, permet de mettre en évidence cette translocation.

Dans l'apoptose, la membrane cellulaire fixant l'annexine reste intacte, tandis que, au cours de la nécrose, la membrane qui fixe aussi l'annexine perd son intégrité et devient perméable.

Événements nucléaires

La chromatine se colle contre la face interne de l'enveloppe nucléaire, qui reste morphologiquement intacte. Très fréquemment, elle se condense en une simple sphère; parfois, elle bourgeonne vers l'extérieur en de plus petites sphères, disposées en de nombreuses grappes entourées chacune par l'enveloppe nucléaire. Dans d'autres cas, la chromatine se dispose en croissant.

Les pores nucléaires se redistribuent par glissement, en s'éloignant des régions qui recouvrent la chromatine condensée, et s'accumulent entre ces régions. Ce déplace-

■ Les **caspases** sont les principaux médiateurs intracellulaires de l'apoptose. Le mot caspase est un acronyme qui dérive de cystéine aspartase : il est formé par l'association du **c** de cystéine, le **asp** et le **ase** de aspartase. Ces protéases possèdent un domaine, dont le centre actif est un résidu cystéine, et reconnaissent sélectivement un Asp (aspartate) en position P1 du site de clivage. Les caspases sont des enzymes, des cystéine-endoprotéases, qui induisent la plupart des événements protéolytiques de l'apoptose. Elles sont localisées, sous la forme de procaspases, dans le cytosol et dans l'espace intermembranaire des mitochondries. Activées, elles agissent comme des exécuteurs qui clivent les molécules clés nécessaires à la vie de la cellule, qui modifient les voies biochimiques permettant à la cellule de survivre et mettent en route des activités qui induisent la mort de la cellule.

ment suggère une modification profonde dans l'association lamina/enveloppe nucléaire. En fait, la lamina se désassemble au cours de l'apoptose, tout en paraissant rester intacte. Ce désassemblage se produit par protéolyse. Les fragments produits par la protéolyse resteraient en place et continueraient à constituer un support structural de l'enveloppe.

Formation des corps apoptotiques

Les organites se condensent et s'agglutinent. La cellule se fragmente finalement en vésicules limitées par une membrane, les *corps apoptotiques*, qui expriment, à leur surface, des marqueurs.

La membrane cellulaire, par l'intermédiaire de ces marqueurs, se lie aux récepteurs de cellules phagocytaires (macrophage, cellule dendritique) qui phagocytent les corps apoptotiques. La cellule phagocytée sécrète des cytokines qui inhibent l'inflammation.

Déclenchement de l'apoptose

Deux mécanismes différents peuvent induire l'apoptose :

- l'apoptose est déclenchée par des signaux intracellulaires;
- l'apoptose est déclenchée par des signaux extracellulaires.

■ Déclenchement intracellulaire de l'apoptose

■ Un système, constitué par **Apaf-1**, ressemble à celui du nématode. Apaf-1, un équivalent de CED-4, est activé par liaison avec l'ATP et le cytochrome c. Les molécules Apaf-1 s'associent entre elles (oligomérisation) et avec la procaspase-9 et forment un complexe protéique, l'*apoptosome*. La procaspase-9 activée se transforme en caspase-9, un des nombreux homologues, chez les Mammifères de CED-3. Un troisième composant constitue, avec Apaf-1 et la caspase-9, une sorte de trinité : il s'agit des membres de la famille Bcl-2. Bcl-2 (qui existe dans la membrane externe des mitochondries) bloque l'activation de la procaspase-9 en inhibant la libération du cytochrome c, ou probablement en interagissant directement avec Apaf-1.

Dans les cellules saines (fig. 5.15), la membrane externe des mitochondries exprime, à sa surface, une protéine dénommée bcl-2. Cette protéine inhibe l'apoptose (par exemple, en s'opposant à l'action des radicaux hydroxyles engendrés par le peroxyde d'hydrogène). La protéine bcl-2 est liée à une autre protéine **Apaf-1** (apoptotic protein-associated factor; facteur associé aux protéines apoptotiques). La mitochondrie contient également une procaspase 9. Une lésion intracellulaire provoque la libération de Apaf-1, celle du cytochrome c contenu dans la face externe de la membrane interne et dans l'espace intermembranaire et la libération de la procaspase 9. La libération du cytochrome c, la combinaison de la protéine Apaf-1 avec la caspase 9 (voir texte en marge) aboutit à la formation d'un complexe nommé apoptosome, constitué par bcl-2, l'Apaf-1, la caspase 9 et l'ATP. La caspase 9 peut cliver mais aussi activer d'autres caspases. Cette activation séquentielle d'une caspase par une autre provoque une importante cascade de réactions protéolytiques qui conduisent à la digestion des protéines structurales du cytoplasme, à la dégradation de l'ADN et enfin à la phagocytose de la cellule morte par apoptose.

La mitochondrie contient également un autre facteur apoptotique, le facteur AIF (apoptosis inducing factor; facteur induisant l'apoptose). Il possède une séquence peptidique homologue de celle des oxydoréductases (accepteur et donneur d'électrons). Sous l'influence d'un stimulus apoptotique, il s'échappe de la mitochondrie, s'accumule dans le noyau où il provoque des lésions irréversibles de l'ADN.

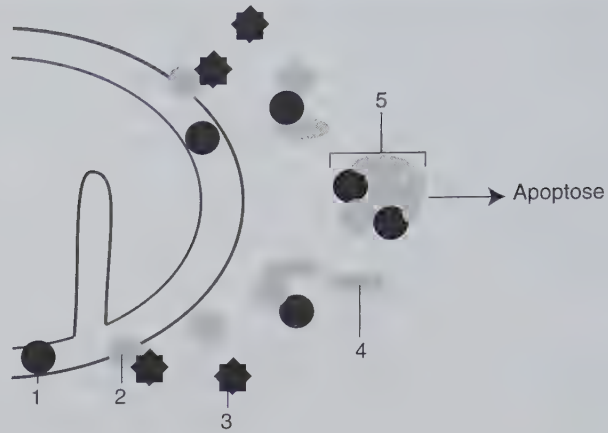
■ Déclenchement extracellulaire de l'apoptose

Chez les Mammifères, le déclenchement extracellulaire de l'apoptose fait intervenir des récepteurs membranaires. La liaison d'un ligand activateur de la mort avec ses récepteurs transmet un signal qui aboutit à l'activation de la procaspase 8. La caspase 8, comme la caspase 9, induit une cascade d'activation de caspases qui conduit à la phagocytose de la cellule.

Fig 5.15

Mitochondries et apoptose. bcl-2 est lié à Apaf-1. Une lésion interne de la cellule provoque une libération de Apaf-1 et du cytochrome c. Le cytochrome c et Apaf-1 se lient à une molécule de caspase 9. Il se forme un complexe constitué par association de cytochrome c, d'Apaf-1 et de caspase 9. Ce complexe porte le nom d'apoptosome.

1. Cytochrome c. 2. Apaf-1. 3. bcl-2. 4. Caspase 9. 5. Apoptosome.



■ Ces **récepteurs** appartiennent à la superfamille des récepteurs TNF-R. La famille TNF-R est un groupe de protéines de type I de la membrane plasmique, dont le domaine extracellulaire contient des répétitions caractéristiques riches en cystéine. La famille TNF-R regroupe, chez l'Homme, les molécules suivantes : Fas ou CD95, les deux types de TNFRs (TNFR1 et TNFR2), le récepteur du facteur de croissance nerveux (NGF : nerve growth factor), CD27, CD30, CD40, DR3 et bien d'autres récepteurs. Tous les membres de la famille TNF-R interviennent dans la croissance de la cellule, sa survie ou bien sa mort.

Les récepteurs membranaires de l'apoptose

Les cellules des Mammifères expriment des **récepteurs** localisés dans la membrane plasmique. La fixation de ligands sur ces récepteurs déclenche l'activation des caspases et une cascade de réactions qui aboutit à la mort de la cellule.

Ces récepteurs de la membrane plasmique sont :

- Fas (APO-1/CD95) : Fas (45 kDa), une protéine de la membrane plasmique de type I, l'un des récepteurs les plus importants de la voie apoptotique;
- TNF-R1 (tumor necrosis factor-receptor; récepteur du facteur nécrosant des tumeurs);
- DR3/WL-1 (death receptor-3; récepteur de la mort).

Ces trois récepteurs sont porteurs, dans leur domaine intracellulaire, d'une région dénommée « domaine de mort » (death domain).

La fixation des ligands sur les récepteurs provoque la formation de complexes de signalisation et l'activation de la caspase-8.

L'activation de Fas

Lorsque Fas (fig. 5.16) est activé par FasL (Fas Ligand), une molécule FADD (Fas-associated death domain protein; protéine associée au « death domain » du Fas) se

Fig. 5.16

Mécanisme de l'induction de l'apoptose par le lymphocyte T cytotoxique.

1. Fas. 2. FasL. 3. Cellule T cytotoxique. 4. Récepteur. 5. Antigène. 6. Molécule d'histocompatibilité. 7. Cellule cible.

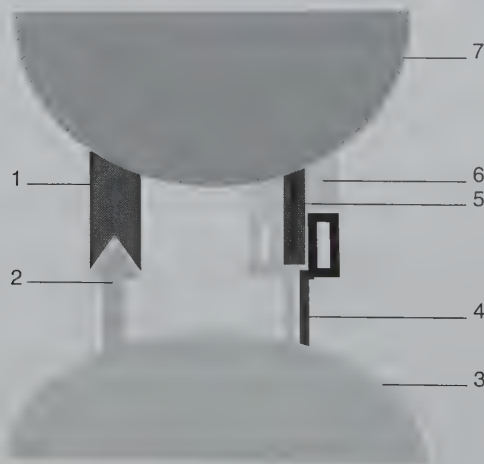
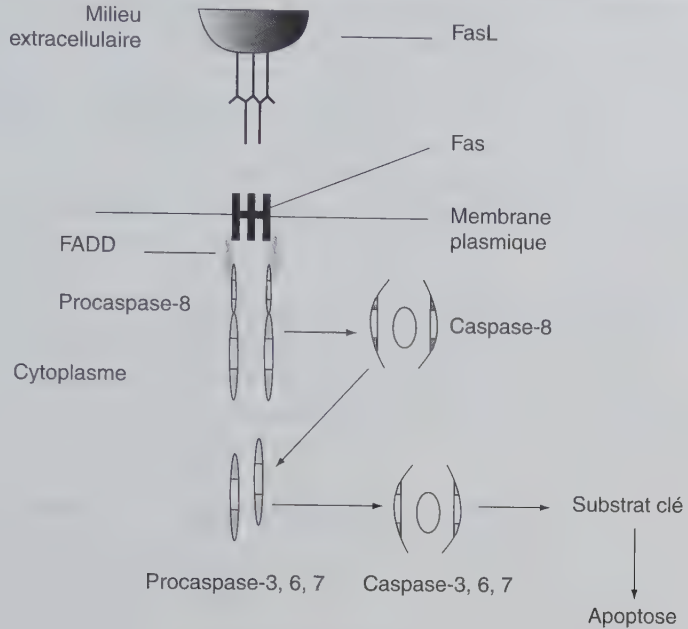


Fig. 5.17

Activation de Fas. La fixation de FasL sur son récepteur provoque le recrutement de FADD sur lequel se fixe la procaspase-8. La procaspase-8 est activée : elle agit sur les procaspases-3, 6 et 7 qui lysent les structures cellulaires et provoquent l'apoptose.



combine au domaine de mort de Fas (fig. 5.17). FADD joue le rôle d'un adaptateur. En effet, FADD recrute à son tour la procaspase-8. Cette liaison FADD/procaspase-8 se fait par des interactions homophiles entre des séquences polypeptidiques, désignées par DED (death effector domain; domaine effecteur de la mort), qui appartiennent à FADD et à la procaspase-8.

L'association Fas/FADD/procaspase-8 forme un volumineux complexe, le DISC (death-inducing signalling complex; complexe de signalisation induisant la mort). La procaspase-8 est activée dans DISC par une protéolyse : elle s'assemble alors avec une autre molécule de procaspase-8 pour former une caspase mature.

La caspase-8 clive et active, directement ou indirectement, d'autres procaspases, les caspases-3, 6, 7, qui orchestrent alors la mort cellulaire, et également la procaspase 8 contenue dans les mitochondries.

Exemple : lorsqu'un lymphocyte T cytotoxique (fig. 5.16) reconnaît une cible (grâce aux molécules d'histocompatibilité qu'elle porte), il produit FasL. FasL se lie au récepteur Fas de la surface de la cellule cible, ce qui déclenche l'apoptose de cette cellule.

La voie du TNF-R1

TNF, en se fixant sur le site récepteur de TNF-R1, induit également le recrutement de FADD, qui à son tour recrute la procaspase-8, l'active et provoque la mort de la cellule.

TNF-R1 peut se combiner, par l'intermédiaire de son domaine de mort, à TRADD (TNF receptor-associated death domain protein; protéine associée au « death domain » du récepteur du TNF). TRADD est une protéine adaptatrice du complexe : elle intervient aussi bien sur le chemin de l'apoptose, en activant la procaspase-8, que sur le chemin de la vie en activant NFκB (NF : nuclear factor; facteur nucléaire, κ désigne la chaîne légère des immunoglobulines et B désigne les lymphocytes B). NFκB est un facteur de transcription qui stimule la synthèse de la

chaîne légère (κ) des immunoglobulines des lymphocytes B mais qui existe aussi dans le cytoplasme de toutes les cellules où il est lié à un inhibiteur I κ B (inhibiteur κ B).

TNF-R1 peut aussi recruter RIP (receptor-interacting protein; protéine interagissant avec le récepteur) par l'intermédiaire de TRADD. RIP active NF κ B, assurant ainsi la survie de la cellule.

Le rôle de chaque composant individuel du complexe TNF-R1, dans la médiation de la survie ou de l'apoptose, est déterminé par leur surexpression.

La voie du TNF-R2

TNF-R2 ne possède pas de « death domain » : son activation par TNF provoque le recrutement de TRAF1 (TNF-R associated factor; facteur associé au récepteur de TNF), de IAP (inhibitor of apoptosis protein; inhibiteur des protéines de l'apoptose) et de TRAF2, qui activent NF κ B et assurent la survie de la cellule.

■ Le système de dégradation apoptotique de l'ADN

Le système de dégradation apoptotique de l'ADN est dévolu uniquement à l'exécution de la phase terminale de l'apoptose.

La désoxyribonucléase CAD

Les caspases activent une désoxyribonucléase dénommée CAD (caspase-activated DNase; DNase activée par la caspase) en la libérant de ICAD (inhibitor caspase activated deoxyribonuclease; inhibiteur de la désoxyribonucléase activée par la caspase) avec lequel elle forme un complexe. CAD provoque une hypercondensation de l'ADN et son accollement contre la face interne de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire. Cependant, CAD n'est pas un facteur essentiel : le désassemblage nucléaire peut se produire en son absence, ce qui signifie que d'autres facteurs sont impliqués et en particulier AIF contenu dans l'espace intermembranaire mitochondrial.

Le facteur DFF

La caspase-3 agit sur un hétérodimère DFF (DNA fragmentation factor; facteur de fragmentation de l'ADN) constitué par deux sous-unités, l'une de 40 kDa et l'autre de 45 kDa. La caspase-3 clive la sous-unité de 45 kDa en deux sites : elle produit ainsi une nucléase possédant une séquence de localisation nucléaire qui fragmente l'ADN nucléaire. Cette nucléase est transférée au noyau, où elle entraîne une dégradation internucléosomique de l'ADN, c'est-à-dire une fragmentation. Cette fragmentation n'est pas impliquée dans les autres formes de mort cellulaire. Ce mécanisme de destruction de l'ADN trouve sa justification dans le fait que la fragmentation se déroule avant l'intervention des cellules phagocytaires, prévient tout risque de recombinaison avec l'ADN de ces cellules. Un tel dispositif évite toute instabilité génomique.

Apoptose et cancer

Les virus responsables du développement de certains cancers préviennent l'apoptose des cellules qu'ils ont transformées. Deux virus du papillome humain produisent une protéine E6 qui se lie à la protéine p53, un promoteur de l'apoptose, et l'inhibe.

Le virus Epstein-Barr, qui provoque la mononucléose et le lymphome de Burkitt, produit une protéine semblable à bcl-2 et également une autre protéine qui provoque l'augmentation de la production de bcl-2 par la cellule infectée. Ces deux actions rendent la cellule plus résistante à l'apoptose (ainsi les cellules sont capables de continuer à proliférer).

Les cellules cancéreuses produisent, sans la participation des virus, des moyens d'éviter l'apoptose. Par exemple, les cellules de la leucémie à cellules B et les lymphomes expriment bcl-2 en grande quantité, bloquant ainsi les signaux apoptotiques pouvant être reçus.

Le mélanome, le plus dangereux des cancers cutanés, est constitué par des cellules qui évitent l'apoptose en inhibant le gène qui code Apaf-1.

Les cancers du côlon et les cancers pulmonaires élaborent des niveaux élevés de protéines leurres qui se lient à FasL et l'empêchent de se combiner au récepteur Fas. Ainsi les lymphocytes cytotoxiques T (CTL) ne peuvent tuer les cellules cancéreuses par le mécanisme précédemment décrit.

D'autres cellules cancéreuses expriment des niveaux élevés de FasL et peuvent tuer ainsi les lymphocytes cytotoxiques qui tentent de les supprimer, car ces cellules cancéreuses expriment aussi Fas mais sont protégées par leur propre FasL.

Apoptose et sida

Le virus du sida provoque une diminution importante des cellules T cytotoxiques (CD4 T cells). Normalement, le sang contient 1 000 lymphocytes T cytotoxiques par microlitre. Lorsque le nombre des lymphocytes cytotoxiques descend aux environs de 200 par microlitre, le patient ne peut plus développer de réponse immune et commence à souffrir d'une série d'affections dangereuses voire mortelles.

La destruction des lymphocytes cytotoxiques est due à l'apoptose induite par le virus. En effet, les lymphocytes T activés par le VIH expriment à leur surface le récepteur de la molécule FasL. Une des protéines du VIH, la protéine Nef, peut faire synthétiser, par les lymphocytes T, le ligand Fas. Ce ligand est exporté par la cellule vers la surface, se fixe de manière sélective sur le récepteur Fas et déclenche l'apoptose de la cellule. Le VIH possède donc la propriété de tuer les cellules qui pourraient s'attaquer à lui.

La protéine Nef détient une autre propriété : elle peut interrompre, dans un lymphocyte T infecté, la cascade des réactions provoquées par la fixation du ligand Fas sur son récepteur ; elle bloque la transduction du signal de mort. La protéine Nef peut donc empêcher la mort cellulaire en réponse à la production de virus au sein de cellules infectées.

Apoptose et transplantation d'organes

La chambre interne de l'œil, les testicules, sont des sites privilégiés sur le plan immunologique. En effet, les greffes de tissu dans ces organes échappent au rejet. Or, les cellules qui constituent ces tissus présentent la particularité d'exprimer le ligand Fas en grande quantité. Les lymphocytes T cytotoxiques, qui expriment Fas, seraient détruits s'ils pénétraient dans de tels sites. De tels résultats ouvrent de nouvelles voies sur la prévention de rejet des greffes. En effet si les cellules rénales, cardiaques, hépatiques des organes transplantés pouvaient exprimer des quantités

élevées de FasL, il n'y aurait pas de rejet des organes greffés. Il ne serait pas nécessaire d'utiliser des immunosuppresseurs.

L'apoptose, mort programmée de la cellule, est une mort propre, sans inflammation. Elle se déroule en deux phases : une phase de condamnation irréversible et une phase d'exécution qui aboutit à la fragmentation de l'ADN. L'activation des récepteurs (Fas, TNF-R1, DR3/WL-1) par les signaux apoptotiques déclenche un réseau complexe de chemins de transduction, qui conduisent à l'apoptose par synthèse des caspases. Une caspase, la caspase 3, libère une nucléase (CAD) du complexe CAD/ICAD. La caspase libérée provoque la fragmentation internucléosomique de l'ADN nucléaire. Les virus infestant une cellule se défendent de la destruction, grâce à des gènes responsables de la synthèse de protéines anti-apoptotiques.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADNm	ADN messenger
ADNr	ADN ribosomal
ADNt	ADN de transfert
AIF	Apoptosis Inducing Factor; facteur induisant l'apoptose
Apaf	Apoptotic protein-associated factor; facteur associé aux protéines apoptotiques
APC	Anaphase Promoting Complex; complexe promoteur de l'anaphase
bcl-2	B-cell lymphoma; lymphome à cellule B
CAD	Caspase-Activated Desoxyribonuclease; désoxyribonucléase activée par la caspase
CAK	Cdk-Activating Kinase; kinase activatrice de Cdk
cdc	cell division cycle; cycle de division cellulaire
Cdk	Cyclin-dependant protein kinase; protéine kinase cycline-dépendante
CED	CELL Death; mort cellulaire
CENP	CENtromere Protein; protéine centromère
CKI	Cyclin-dependant protein Kinases Inhibitor; inhibiteur des protéines kinases dépendantes des cyclines
CSF	Colony Stimulating Factor; facteur stimulant de colonie
DcR	Decoy Receptor; récepteur appât
DED	Death Effector Domain; domaine effecteur de la mort
DFF	DNA Fragmentation Factor; facteur de fragmentation de l'ADN
DBRP	Degradation Box Recognition Protein; protéine de reconnaissance de la boîte de dégradation
DISC	Death Inducing Signalling Complex; complexe de signalisation induisant la mort
DR	Death Receptor; récepteur de la mort
E2F	Elongation 2 Factor; facteur d'élongation 2
EGF	Epithelial Growth Factor; facteur de croissance épithélial
EGF-R	Epithelial Growth Factor-Receptor; récepteur du facteur de croissance épithélial
FADD	Fas-Associated Death Domain protein; protéine associée au "domaine de mort" du Fas

Fas	Factor apoptotic signal; facteur transmettant le signal apoptotique
FGF	Fibroblast Growth Factor; facteur de croissance des fibroblastes
G	Gap; espace
G1-pm	G1-postmitotique
G1-ps	G1-postsynthèse
G-CSF	Granulocytes Colony Stimulating Factor; facteur stimulant des colonies de granulocytes
GTP	Guanosine TriPhosphate
HMG CoA	3-Hydroxy-3-MéthylGlutaryl Coenzyme A
IAP	Inhibitor of Apoptosis Proteins; inhibiteur des protéines de l'apoptose
ICAD	Inhibitor Caspase-Activated Desoxyribonuclease; inhibiteur de la désoxyribonucléase activée par la caspase
ICE	Interleukin Converting Enzyme; enzyme de conversion de l'interleukine
IGF	Insulin-like Growth Factor; facteur de croissance apparentée à l'insuline
IκB	Inhibiteur kappa B
IL	InterLeukine
INH	INHibitor; inhibiteur
KIF	KInesin superFamily protein; protéine de la superfamille de la kinésine
kMT	kinetochore MicroTubule; microtubule kinétochorien
krp	kinesin-related protein; protéine apparentée à la kinésine
LAMP	LAMine Proteinase; protéinase des lamines
M	Mitose
M-CSF	Macrophages Colony Stimulating Factor; facteur stimulant des colonies de macrophages
MF	MicroFilament d'actine
MCAK	Mitotic Centromere-Associated Kinesin; kinésine associée au centromère mitotique
MPF	Mitosis Promoting Factor; facteur promoteur de la mitose
MT	MicroTubule
MTOC	MicroTubule Organizing Center; centre organisateur des microtubules
NFκB	Nuclear Factor κB; facteur nucléaire κB
NGF	Nerve Growth Factor; facteur de croissance nerveux
PCD	Programmed Cell Death; mort cellulaire programmée
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen; antigène nucléaire de la prolifération cellulaire
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor; facteur de croissance extrait des plaquettes
pRb	protéine du Rétinoblastome
PS	PhosphatidylSérine
R	Restriction (point R; point de restriction)
RIP	Receptor-Interacting Protein; protéine interagissant avec le récepteur
S	Synthèse (phase S; phase de synthèse)
SMC	<i>SaccharoMyces Cerevisiae</i>
SPF	S Phase Promoting Factor; facteur promoteur de la phase S
SST	Sequence-Specific Transactivation; transactivation spécifique de séquence

SV	Simian Virus; virus simien
TNF	Tumor Necrosis Factor; facteur nécrosant des tumeurs
TNF-R	TNF Receptor; récepteur de TNF
TRADD	TNF-R-Associated Death Domain protein; protéine associée au « death domain » du récepteur du TNF
TRAF	TNF-R-Associated Factor; facteur associé au récepteur de TNF

■ 1. Au cours du cycle cellulaire :

- ☐ 1. la phase G1 est une phase comprenant deux parties, G1-pm de durée inconstante et G1-ps.
- ☐ 2. la phase G2 a une durée qui est fonction de la nature de la cellule.
- ☐ 3. la phase S aboutit à la formation d'une cellule dont la quantité d'ADN correspond à celle d'une cellule tétraploïde.
- ☐ 4. la phase G2 prépare la cellule à la division.
- ☐ 5. les protéines SMC sont synthétisées pendant la phase G2.

■ 2. La phase G1-pm :

- ☐ 1. a une durée variable.
- ☒ 2. a une durée constante.
- ☐ 3. est une phase au cours de laquelle une phosphorylation des lamines est nécessaire à leur adressage.
- ☐ 4. est une phase pendant laquelle une HMG-réductase agit sur HMG-CoA pour former du mévalonate dont le groupe farnésyl dérive.
- ☐ 5. est responsable de la réorganisation du cytosquelette.

■ 3. Au cours de la phase G1-ps :

- ☐ 1. le cytosquelette se réorganise.
- ☐ 2. la cellule est stimulée par des signaux mitogènes.
- ☐ 3. l'interruption des signaux mitotiques provoque la sortie de la cellule vers la phase G0.
- ☐ 4. l'inhibition de la HMG-CoA inhibe la farnésylation.
- ☐ 5. la chromatine devient résistante aux modifications des lamines.

■ 4. Au cours de la phase G1-ps :

- ☐ 1. les facteurs de croissance ne sont plus nécessaires à la progression dans le cycle.

- ☐ 2. les histones sont synthétisées.
- ☐ 3. les protéines s'accumulent dans le cytoplasme.
- ☐ 4. la cellule ajuste sa taille avant la synthèse de l'ADN.
- ☐ 5. les lamines subissent une farnésylation.

■ 5. Pendant la phase S :

- ☐ 1. la réplication de l'ADN est coordonnée avec celle des histones.
- ☐ 2. les ARNm des histones sont synthétisés et détruits immédiatement après la réplication.
- ☐ 3. les ARNm des histones ne sont pas détruits.
- ☐ 4. le point de restriction n'est pas le seul point de contrôle de l'aptitude de la cellule à poursuivre son cycle.
- ☐ 5. la synthèse des autres ARNm se poursuit.

■ 6. Pendant la phase G2 :

- ☐ 1. la cellule contient le double de la quantité habituelle d'ADN.
- ☐ 2. la cellule se prépare à la phase M.
- ☐ 3. la cellule synthétise des protéines SMC dont la structure est voisine de celle des protéines motrices.
- ☐ 4. les protéines SMC provoquent l'enroulement des fibres nucléosomiques.
- ☐ 5. les synthèses d'ARN s'interrompent.

■ 7. À la fin de la phase G2 :

- ☐ 1. le nucléole se fragmente et disparaît.
- ☐ 2. l'ADN nucléolaire est associé à la constriction secondaire de tous les chromosomes.
- ☐ 3. l'enveloppe nucléaire se fragmente et s'associe à la lamine B.
- ☐ 4. les lamines A et C se dispersent dans le cytoplasme.
- ☐ 5. les chromatides se séparent l'une de l'autre.

■ 8. Les kinétochores :

- ☐ 1. sont des centres organisateurs localisés au niveau de chaque centromère.
- ☐ 2. sont des complexes multiprotéiques.
- ☐ 3. apparaissent sous une forme linéaire au cours de la phase G1.
- ☐ 4. se transforment pendant la phase G2 en un collier elliptique trilamellaire.
- ☐ 5. deviennent fonctionnels à la fin de la phase G2.

■ 9. Au cours de la métaphase :

- ☐ 1. les kinétochores font face aux asters.
- ☐ 2. les MTs astériens déterminent le plan de la cytotéière.
- ☐ 3. les MTs polaires maintiennent l'intégrité du fuseau.
- ☐ 4. les MTs polaires ne s'intercalent pas les uns avec les autres.
- ☐ 5. les MTs polaires sont unis par des protéines motrices.

■ 10. Au cours de l'anaphase A :

- ☐ 1. la séparation des chromosomes dépend d'un pool de topoisomérases.
- ☐ 2. la lyse, un complexe multiprotéique appelé APC ou cyclosome qui unit les chromatides, permet la séparation des chromosomes.
- ☐ 3. APC régule l'action de l'ubiquitine sur la cycline B.
- ☐ 4. le fuseau s'étire.
- ☐ 5. les kMTs se raccourcissent.

■ 11. Au cours de la télophase :

- ☐ 1. les chromosomes sont regroupés aux pôles cellulaires.
- ☐ 2. l'enveloppe nucléaire se reconstitue.
- ☐ 3. les nucléoles se reforment à partir des NORs portés par les chromosomes 13, 14, 15, 21, 22.
- ☐ 4. une membrane séparant les deux cellules filles se forme grâce à l'action des filaments de myosine II qui constituent un anneau contractile.
- ☐ 5. les chromosomes se dés spiralisent.

■ 12. L'anneau contractile :

- ☐ 1. se contracte dès le début de la télophase.
- ☐ 2. perd des MFs et des filaments de myosine en se contractant.
- ☐ 3. entraîne la membrane plasmique dans un mouvement de fermeture.
- ☐ 4. contient encore des MFs et des filaments de myosine à la fin de la cytotéière.
- ☐ 5. ne contient plus de MFs et de filaments de myosine à la fin de la cytotéière.

■ 13. Le corps intermédiaire :

- ☐ 1. se forme à la fin de la cytotéière.
- ☐ 2. ne contient que des MTs.
- ☐ 3. contient des MFs.
- ☐ 4. contient des MFs et des filaments de myosine résiduels.
- ☐ 5. ne se forme pas après action des cytochalasines.

■ 14. Les télomères :

- ☐ 1. maintiennent l'intégrité des chromosomes pendant le cycle cellulaire.
- ☐ 2. sont constitués par des répétitions en tandem d'un motif de 6 paires de bases, différent d'une espèce à une autre chez les Vertébrés.
- ☐ 3. protègent l'extrémité des chromosomes contre les nucléases.
- ☐ 4. s'achèvent par une queue toujours bicaténaire.
- ☐ 5. s'achèvent par une queue monocaténaire.

■ 15. Le domaine centromérique des chromosomes :

- ☐ 1. est caractérisé par de longues séquences répétitives en tandem.
- ☐ 2. est responsable de l'assemblage des kinétochores.
- ☐ 3. fixe des protéines qui possèdent des sites d'attachement aux MTs.
- ☐ 4. permet, en fonction de sa position, de classer les chromosomes.
- ☐ 5. est associé à une quantité élevée de topoisomérase.

■ 16. Le kinétochore :

- ☐ 1. est un complexe macromoléculaire situé sur une face du centromère.
- ☐ 2. contient des protéines dynéine-like.
- ☐ 3. contient des protéines de condensation de l'ADN.
- ☐ 4. contient une protéine CENP-F au cours de la phase G2.
- ☐ 5. provoque la formation d'un signal inhibiteur qui bloque la transition métaphase/anaphase lorsqu'il n'est pas associé à un MT.

■ 17. Au cours du cycle cellulaire :

- ☐ 1. le point G1 permet à la cellule de poursuivre son évolution même si la période de croissance n'est pas achevée.
- ☐ 2. le point G2 contrôle la phase G2 avant l'entrée de la cellule en phase M.
- ☐ 3. le point M contrôle la métaphase et permet de poursuivre la division si les chromosomes sont parfaitement alignés.
- ☐ 4. les contrôles dépendent de Cdk, CKI et des cyclines.
- ☐ 5. les contrôles ne dépendent que de la présence des cyclines.

■ 18. Les protéines Cdk :

- ☐ 1. sont activées par les cyclines.
- ☐ 2. forment toujours des complexes avec les cyclines.
- ☐ 3. sont activées par CAK.
- ☐ 4. forment des complexes si la concentration en cycline est suffisante.
- ☐ 5. forment des complexes avec les cyclines, complexes qui sont inhibés par CAK.

■ 19. Chaque cycline :

- ☐ 1. n'existe que pendant une durée relativement courte au cours du cycle.
- ☐ 2. forme un complexe avec une protéine Cdk spécifique.
- ☐ 3. se combine toujours avec la molécule Cdk qui lui est destinée.
- ☐ 4. est dégradée par l'ubiquitine.
- ☐ 5. possède une séquence PEST.

■ 20. Le point R est contrôlé par :

- ☐ 1. la protéine Rb.
- ☐ 2. le complexe E2F-pRb.
- ☐ 3. le complexe cycline D-Cdk.
- ☐ 4. le complexe cycline E-Cdk.
- ☐ 5. le complexe MPF.

■ 21. MPF contrôle la transition :

- ☐ 1. G1-S.
- ☐ 2. S-G2.
- ☐ 3. G2-M.
- ☐ 4. M-G1.
- ☐ 5. G1-G0.

■ 22. MPF :

- ☐ 1. est formé par l'association de cdc2 et de la cycline D.
- ☐ 2. est formé par l'association de cdc2 et de la cycline B.
- ☐ 3. possède une activité régulée par la phosphorylation d'un résidu thréonine de cdc2.
- ☐ 4. est inactivé par INH par une déphosphorylation intéressant uniquement la cycline B.
- ☐ 5. est responsable de la dissociation de l'enveloppe nucléaire.

■ 23. Les kinétochores :

- ☐ 1. régulent le point de contrôle de la mitose.
- ☐ 2. évaluent la tension des MTs kinétochoriens.
- ☐ 3. portent, au cours de toute la mitose, un épitope phosphorylé.
- ☐ 4. portent un épitope phosphorylé d'une manière égale au cours de la prophase.
- ☐ 5. portent un épitope phosphorylé pendant la métaphase.

■ 24. L'apoptose :

- ☐ 1. est un mécanisme de mort cellulaire programmée uniquement par la cellule qui la subit.
- ☐ 2. comporte une phase initiale qui est irréversible.
- ☐ 3. dépend de l'activation des caspases.

- ☐ 4. comporte une phase terminale d'une durée constante.
- ☐ 5. est provoquée par les mêmes causes que celles qui induisent la nécrose.

■ 25. L'apoptose se traduit par :

- ☐ 1. un désassemblage de la lamina par protéolyse; la lamina reste en place jusqu'à rupture de l'enveloppe nucléaire.
- ☐ 2. la condensation centrale de l'ADN.
- ☐ 3. une redistribution des pores nucléaires.
- ☐ 4. une condensation des mitochondries.
- ☐ 5. une répartition différente des lipides de la membrane plasmique. La phosphatidylsérine (PS) passe de la couche externe à la couche interne.

■ 26. Au cours de l'apoptose :

- ☐ 1. Apaf-1, un équivalent de CED-4, est activé par liaison avec l'ATP et le cytochrome c.

- ☐ 2. le cytochrome c est libéré par les mitochondries grâce à l'action de la caspase-8.
- ☐ 3. Fas activé se lie à une molécule FADD qui recrute la procaspase-8.
- ☐ 4. la procaspase-8 est activée dans le DISC par une protéolyse.
- ☐ 5. TNF-R1 activé peut intervenir dans la médiation de la survie cellulaire.

■ 27. Les facteurs apoptotiques suivants proviennent de l'espace intermembranaire de la mitochondrie :

- ☐ 1. le cytochrome c.
- ☐ 2. AIF.
- ☐ 3. les procaspases 6 et 7.
- ☐ 4. la procaspase 9.
- ☐ 5. CAD.

1.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. G1-pm a une durée constante qui est déterminée par le temps que met la chromatine à devenir résistante aux modifications des lamines.

2.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. La phase G1-pm est une phase dont la durée est constante.

3. Les lamines sont farnésylées au cours de G1-pm.

3.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

4.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. Les histones sont synthétisées pendant la phase S.

5. La farnésylation des lamines se déroule pendant la phase G1-pm.

5.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. Les ARNm des histones sont détruits immédiatement après la réplication.

5. La synthèse des autres ARNm est interrompue.

6.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Les synthèses d'ARN continuent, car la protéosynthèse est encore très active.

7.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	F

1. Le nucléole diminue de taille et disparaît.

2. L'ADN nucléolaire est localisé dans la constriction des chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21, 22.

3. L'enveloppe nucléaire se fragmente, mais s'associe à la lamine C.

4. Les lamines A et B se dispersent dans le cytoplasme.

5. Les chromatides se séparent à la fin de la prophase.

8.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

9.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Les MTs polaires d'un aster s'intercalent avec ceux de l'aster opposé.

10.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. APC ou cyclosome détruit la glu chromatidienne.

4. Le fuseau s'étire au cours de l'anaphase B.

11.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. La déspiralisation des chromosomes débute après la télophase.

12.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. L'anneau contractile se contracte à la fin de la télophase.

4. À la fin de la cytotédière, l'anneau contractile ne contient plus de MFs et de filaments de myosine.

13.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	V

3. 4. Le corps intermédiaire contient des MTs au sein d'une substance dense et homogène.

14.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. Les motifs de 6 paires de bases sont identiques chez tous les Vertébrés.

4. Les télomères s'achèvent par une queue monocaténaire.

15.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

16.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Les kinétochores sont situés sur les deux faces du chromosome au niveau du centromère.

4. La protéine CENP-F est localisée dans le noyau au cours de la phase G2. Elle se localise dans les kinétochores au cours de la prophase.

17.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Le point G1 permet à la cellule de poursuivre son évolution si la période de croissance est achevée et si l'environnement est favorable.

5. Les contrôles dépendent de l'interaction de Cdk, CKI et des cyclines.

18.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. Les Cdks ne forment des complexes avec les cyclines qui si la concentration de celles-ci est suffisante.

19.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Une cycline ne se combine avec Cdk que si la concentration de cycline est suffisante.

4. 5. Toutes les cyclines ne sont pas dégradées par l'ubiquitine : celles qui interviennent au cours de la phase G1 ne le sont pas ; elles possèdent une séquence d'acides aminés PEST.

20.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. MPF contrôle le point G2.

21.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	F

1. 2. 4. 5. MPF contrôle la transition G2-M.

22.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. MPF est formé par l'association de cdc2 et de la cycline B.

4. MPF est inactivé par INH qui déphosphoryle la cycline B et cdc2.

23.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. 5. Le phosphoépitope kinétochorien n'est détecté que pendant la prophase et la prométaphase.

24.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. L'apoptose chez les Mammifères est induite aussi par l'activation de récepteurs membranaires.

4. La phase terminale a une durée variant entre 15 et 60 minutes.

5. La nécrose est provoquée par des causes différentes : hypoxie, agent infectieux, substance toxique.

25.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. La condensation de l'ADN est périphérique.

5. PS passe de la couche interne à la couche externe.

26.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

27.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. 5. Les procaspases-6 et 7, CAD sont des facteurs cytoplasmiques.

ENTRAÎNEMENT

QROC

Questions

■ 1. Qu'est-ce que le cycle cellulaire ?

■ 2. Énumérez les diverses phases de l'interphase.

■ 3. Pendant quelle phase du cycle cellulaire, les composants du noyau sont-ils, relativement, mécaniquement inactifs ?

■ 4. À quelle période du développement la phase G1 n'existe-t-elle pas ?

■ 5. Dans la phase G1, quelle est la phase qui a une durée constante et pourquoi ?

■ 6. Que subissent les lamines immédiatement après leur synthèse ?

■ 7. À quel moment sont synthétisées les protéines SCM ?

■ 8. Quelles sont les protéines responsables de la condensation des chromosomes ?

■ 9. Citez une cellule normale tétraploïde.

■ 10. Citez une classe de protéines mécano-chimiques de la chromatine.

■ 11. Comment est constitué un centrosome en phase G1 ?

■ 12. La phase G1 est divisée en une phase G1-pm et une phase G1-ps : quelle est la phase la plus longue et pourquoi ?

■ 13. Pendant la phase G2, de quel mécanisme dépend la condensation des chromosomes ?

■ 14. À quel moment du cycle cellulaire, deux procotrioles se différencient-ils ?

■ 15. Quel est le rôle attribué aux kinétochores ?

■ 16. Donnez le nombre des kinétochores des chromosomes de la phase G2.

■ 17. Quelle est la nature de la glu chromatidienne ? Comment est-elle détruite ?

■ 18. Quel rôle joue la topoisomérase associée au centromère des chromosomes métaphasiques.

■ 19. À quel moment se produit la séparation des chromatides des chromosomes métaphasiques ?

■ 20. Énumérez, sans décrire leur fonction, les divers types de MTs du fuseau.

■ 21. Quelle est la structure et quel est le rôle de l'anneau contractile ?

- **22.** Comment est déterminé l'emplacement du sillon de division?
- **23.** Quels sont les caractères morphologiques du corps intermédiaire?
- **24.** Quelle est la structure des chromosomes pendant la phase G1?
- **25.** Citez deux fonctions des télomères.
- **26.** Quelle est la nature de l'ADN centromérique?
- **27.** Quelle est la fonction principale de l'ADN centromérique?
- **28.** Quelle affection humaine élabore des anti-corps anti-protéines kinétochoriennes?
- **29.** Citez trois molécules motrices localisées dans les kinétochores.
- **30.** À quelle structure se lient les protéines structurales du kinétochore?
- **31.** Quelle est la structure du kinétochore des Vertébrés?
- **32.** Quelle est l'origine du signal inhibiteur qui bloque la transition métaphase-anaphase?
- **33.** Quelle protéine motrice permet aux kinétochores de capturer les MTs?
- **34.** Quand dit-on qu'un chromosome est mono-orienté?
- **35.** Quelle est la définition d'un kinétochore?
- **36.** Quelle est la définition du mot caspase?
- **37.** Quelle est la molécule contenue dans la membrane plasmique qui subit une translocation au cours de l'apoptose?
- **38.** Citez deux récepteurs membranaires des signaux apoptotiques.
- **39.** Énumérez les protéines intracellulaires qui interviennent dans l'apoptose en donnant leur équivalent chez le nématode *Cænorhabditis elegans*.
- **40.** Quelles sont les molécules qui constituent le complexe DISC?
- **41.** À quelle molécule TRADD s'associe-t-elle et quel en est le résultat?

1. C'est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation, par division de la cellule mère, et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles grâce à la mitose.

2. La phase G1, S, G2 et M.

3. Pendant l'interphase.

4. Lors des premières divisions qui suivent la fécondation.

5. La phase G1-pm, car elle dépend du temps que met la chromatine à devenir insensible aux modifications de la lamine.

6. Une farnésylation, qui est nécessaire à leur

adressage à la face interne de la membrane interne membranaire.

7. Pendant la phase G2.

8. Les protéines SMC.

9. Une cellule en phase G2.

10. Les protéines SMC.

11. Le centrosome comprend deux centrioles.

12. Pendant la phase G1-ps, les protéines s'accumulent et la taille de la cellule s'ajuste à celle qu'elle avait avant la synthèse de l'ADN.

13. De la phosphorylation des histones 1.

14. Pendant les phases S et G2.
15. Les kinétochores interviennent dans les mouvements des chromosomes.
16. Les chromosomes étant constitués par deux chromatides, ils possèdent deux kinétochores.
17. Les centromères sont unis par une protéine, une glu chromatidienne qui est détruite par un complexe ABC (anaphase promoting complex; complexe promoteur de l'anaphase).
18. La topoisomérase associée au centromère agit sur les zones d'attachement de l'ADN alphas : cette enzyme provoque des coupures temporaires et ressoude les extrémités. Il se pourrait donc que les molécules d'ADN des chromatides soient entrelacées.
19. Les chromatides sœurs sont unies par une glu, maintenue en place par un inhibiteur de l'anaphase : l'anaphase ne peut commencer que lorsque cet inhibiteur est dégradé par APC (anaphase promoting complex; complexe promoteur de l'anaphase).
20. Les MTs kinétochoriens, polaires, astériens.
21. Un anneau contractile, constitué par des MFs et des filaments de myosine II (myosine bipolaire), se met en place sous la membrane plasmique. En se contractant, il sépare les deux cellules filles.
22. L'emplacement du sillon de division est déterminé par les asters, qui envoient un signal indiquant l'emplacement du futur sillon de division.
23. Formation ovoïde de 1 μm de diamètre sur 2 à 3 μm de longueur, subsistant juste avant la séparation des cellules filles.
24. Chaque chromosome est constitué par une fibre nucléosomique.
25. Les télomères protègent les extrémités des chromosomes contre les nucléases, participent à la constitution des compartiments nucléaires, agissent sur la transcription.
26. Les centromères sont formés par des séquences répétitives en tandem d'ADN.
27. Assemblage de structures qui contiennent un centromère actif. Centre de nucléation de l'assemblage du kinétochore.
28. La sclérodermie.
29. La dynéine cytoplasmique, les deux krps et MCAK.
30. Elles se lient à l'ADN centromérique.
31. Le kinétochore des Vertébrés a habituellement une structure trilamellaire : une plaque externe ou corona, perpendiculaire à l'axe longitudinal du chromosome, une plaque moyenne transparente liée à la constriction primaire sous-jacente et une plaque interne liée à la constriction primaire sous-jacente.
32. Les kinétochores provoquent la formation d'un signal inhibiteur, bloquant la transition métaphase-anaphase.
33. La dynéine.
34. Un chromosome est mono-orienté lorsque, au moment de la prophase, un seul de ses kinétochores est lié à un MT.
35. Le kinétochore est un complexe macromoléculaire qui s'assemble sur les deux faces du centromère de chaque chromosome et qui sert de lien entre les MTs du fuseau et le chromosome mitotique.
36. Les caspases tirent leur nom de cystéine-aspartase, acronyme formé par le c de cystéine, le asp et le ase de aspartase. Ces protéines sont des protéases ICE-like.
37. La phosphatidylsérine (PS).
38. Fas et TNF-R1.
39. Apaf-1, équivalent de CED-4. Procaspase 9, équivalent de CED-3. bcl 2, équivalent de CED-9.
40. FAS, FADD, procaspase-8.
41. TRADD s'associe à TNF-R1. Cette molécule adaptatrice peut se combiner à RIP qui active NF κ B assurant la survie de la cellule ou à la procaspase-8 qui provoque la mort de la cellule.

production d'énergie
à la présence d'oxygène
ou d'oxygène

Structure
Fonctions
Biogenèse
Génome mitochondrial
Maladies mitochondriales

En 1890, Altmann découvre, dans le cytoplasme, des granulations et des filaments qu'il nomme « bioblastes » (du grec *bios* : vie, et *blastos* : germe). Benda, qui, en 1902, reconnaît la présence constante de ces éléments (dans les cellules eucaryotes), donne à ces « germes de vie » le nom de mitochondries (du grec *mitos* : filament, et *kondria* : granule).

L'organisation générale des mitochondries, telle que nous la connaissons actuellement, a été mise en évidence grâce à la microscopie électronique par Palade (1952) et Sjöstrand (1953). En 1959, Chèvremont découvre la présence de molécules d'ADN dont la structure est fondamentalement différente et indépendante de celle de l'ADN nucléaire.

La mitochondrie est un organe semi-autonome, spécifique des Eucaryotes aérobies (absente chez les Procaryotes). Elle contient de l'ADN d'origine maternelle. C'est un organe clos, limité par une double membrane (paroi mitochondriale), dont l'organisation morphologique et moléculaire est semblable chez tous les Eucaryotes. Elle transforme l'énergie, libérée par le catabolisme des glucides, des protéines et des lipides, en ATP par phosphorylation de l'ADP, grâce à un mécanisme complexe qui se déroule dans la membrane interne en présence d'oxygène (aérobiose). Elle produit la plus grande partie de l'énergie nécessaire au déroulement normal des fonctions cellulaires. Un autre organe, le peroxyosome, produit aussi de l'énergie par catabolisme oxydatif, mais toujours sous forme de chaleur. La mitochondrie intervient également, en relation avec le réticulum endoplasmique, dans la synthèse de *phospholipides membranaires*, d'hormones, les *stéroïdes*. C'est aussi un *réservoir de calcium*, qu'elle peut libérer dans le cytosol grâce à l'intervention de perméases localisées dans la membrane interne. La mitochondrie, d'après la théorie symbiotique, a comme ancêtre une bactérie aérobie qui a pénétré dans le cytoplasme d'une cellule eucaryote.

Structure en microscopie optique

Morphologie

Il est possible d'étudier les mitochondries sans coloration, dans les cellules vivantes en culture, en utilisant la microscopie en contraste de phase (fig. 6.1).

Les mitochondries peuvent également être examinées en *microscopie optique par transmission (sans fluorescence)*, *in vivo* (en culture), en les colorant par le *vert Janus*. On utilise la propriété des mitochondries de concentrer certaines substances (ferritine, lipides, protéines) pour les mettre en évidence. Le *vert Janus* pénètre dans le cytoplasme où il est réduit. Cette réduction le transforme en un leuco-dérivé. Il pénètre ensuite dans les mitochondries où il s'accumule : il est oxydé et il reprend alors sa teinte.

En *microscopie en fluorescence*, les mitochondries sont mises en évidence par les colorants fluorescents comme la *rhodamine*.

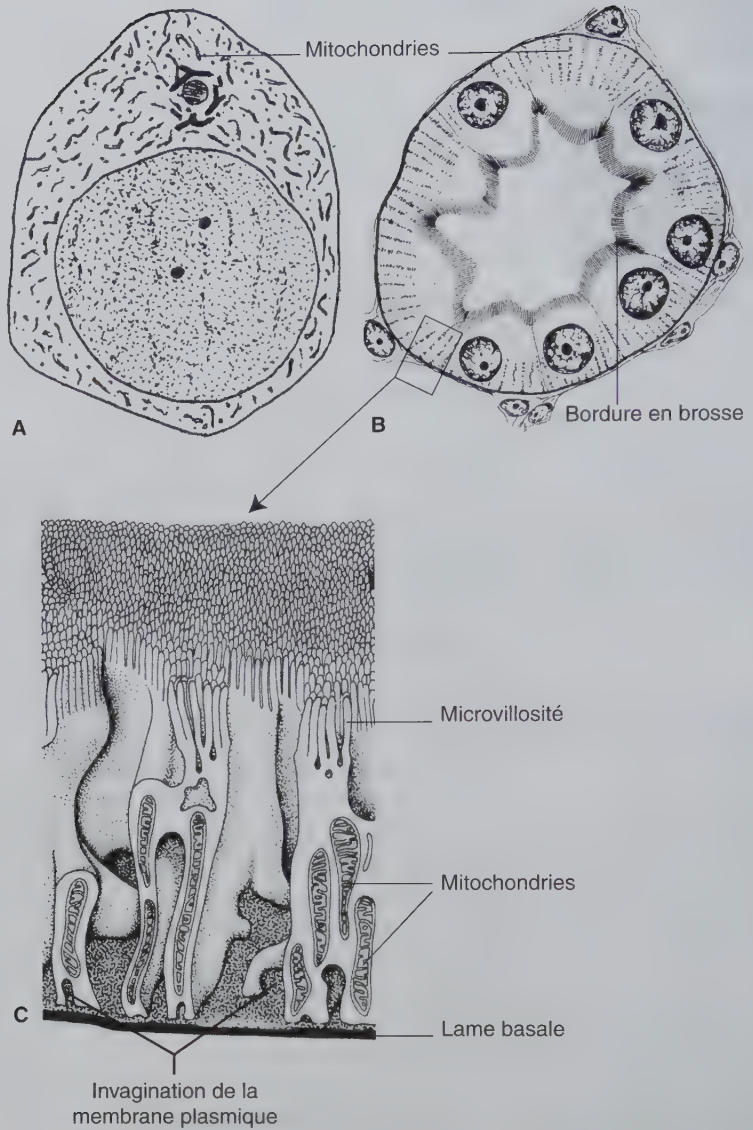
Fig 6.1

Mitochondries : morphologie et distribution en microscopie optique.

A. Dans un spermatocyte.

B. Dans les tubes contournés proximaux du rein où elles occupent les compartiments délimités par les invaginations de la membrane plasmique.

C. Partie basale d'une cellule d'un tube contourné montrant la disposition des mitochondries dans les compartiments délimités par la membrane plasmique.



Les mitochondries, après *fixation*, sont colorables par exemple par le bleu de toluidine.

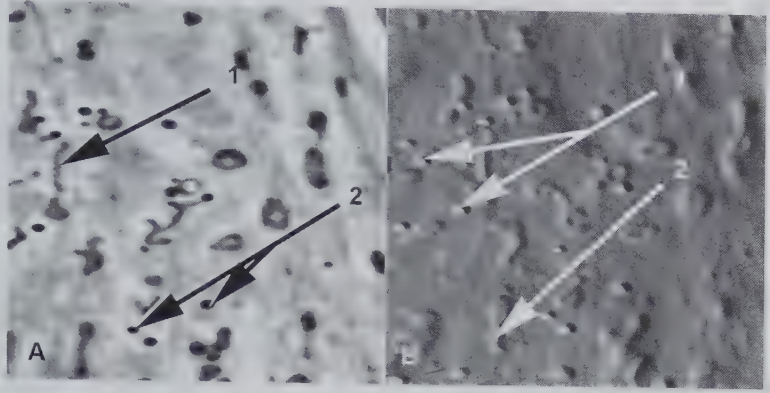
Ces différentes techniques permettent d'étudier leur *forme* qui est globulaire ou filamenteuse (fig. 6.2).

La *taille* des mitochondries varie. Dans la plupart des cellules, les mitochondries ont une forme de petits bâtonnets de 0,5 à 1 μm de diamètre. Leur longueur peut atteindre environ une dizaine de microns. Cependant, la taille change avec l'activité de la cellule. Dans des cellules sécrétoires très actives (par exemple, dans les cellules glandulaires), la taille des mitochondries se modifie au cours du cycle sécrétoire : ces cellules passent par une phase d'élaboration (phase de mise en charge), une phase d'excrétion et une phase de repos. Le diamètre des mitochondries varie alors entre 0,2 et 2 μm au maximum pendant la phase de synthèse.

Fig 6.2

A. Mitochondries examinées en microscopie en contraste de phase. Noter les formes très variées des mitochondries, filamenteuses ou granulaires. 1. Mitochondrie filamenteuse 2. Mitochondries granulaires.

B. Mitochondries observées avec le microscope de Nomarski. 1. Mitochondries granulaires. 2. Mitochondrie filamenteuse. (Cliché de R.L. GOLDMAN.)



Distribution

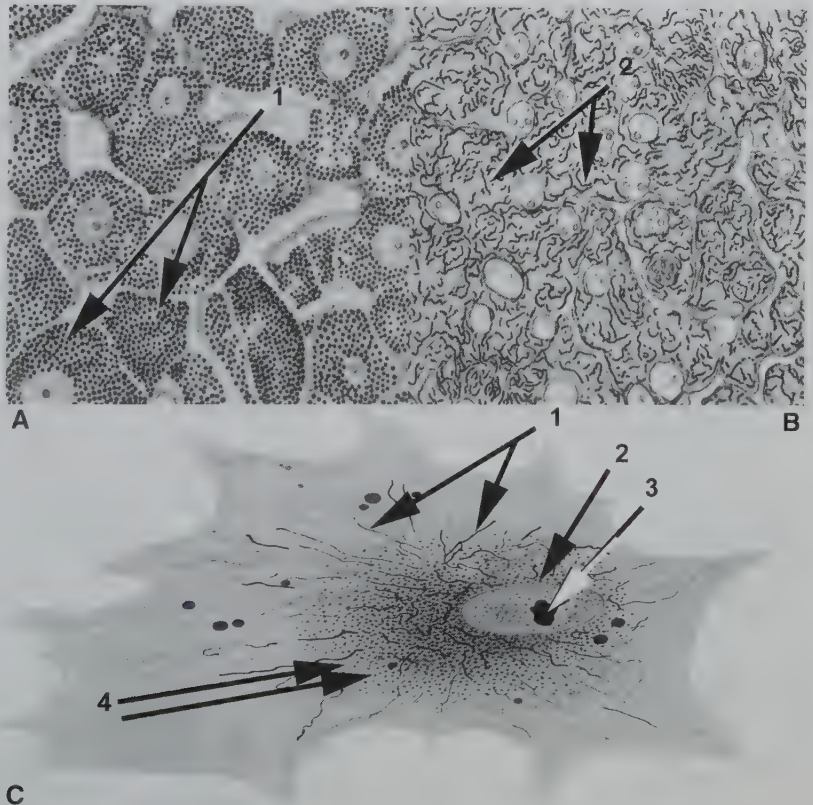
La *répartition* (fig. 6.3) des mitochondries est différente selon le type cellulaire considéré. Dans les cellules hépatiques, elles se répartissent d'une manière uniforme dans le cytoplasme. Leur nombre peut atteindre 1 700 à 1 800 par cellule : le volume total occupé par les mitochondries correspond approximativement au quart du volume cellulaire. Cependant, cette distribution peut ne pas être uniforme. Elle dépend des besoins locaux en énergie. Ainsi, dans le *muscle strié squelettique*, les mitochondries se disposent en face des disques A des myofibrilles. Dans les cellules visuelles, comme les *bâtonnets de la rétine*, elles occupent l'article interne. Dans les *tubes excréteurs du rein*, elles sont situées dans la région basale de la cellule,

Fig 6.3

Microscopie optique.

A. et B. Mitochondries colorées par la technique d'Altmann. 1. Mitochondries granulaires. 2. Mitochondries filamenteuses.

C. Fibroblaste montrant la disposition des mitochondries filamenteuses et granulaires. 1. Mitochondries filamenteuses. 2. Enveloppe nucléaire. 3. Nucléole. 4. Mitochondries granulaires.



où elles libèrent de l'ATP qui est utilisé par la membrane plasmique pour transporter de l'eau, des ions et diverses molécules. Dans les entérocytes, elles occupent le pôle basal et le pôle apical.

Les mitochondries peuvent être observées *in vivo*. Leur taille est voisine de celle des bactéries (1 à 7 μm). Leur taille varie avec l'activité la cellule. Leur localisation cellulaire dépend de la demande d'énergie.

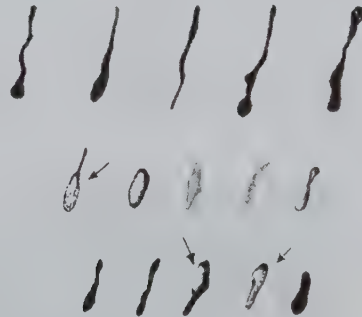
Mouvements des mitochondries

Les mitochondries constituent un ensemble dynamique

Dans la cellule au repos, la microcinématographie en accéléré montre que les mitochondries sont capables de *modifier leur forme* (fig. 6.4). Elles sont aussi animées de mouvements incessants de *déplacement* plus ou moins rapides. Les mitochondries se recourbent, se redressent, subissent des mouvements oscillatoires, s'enroulent, se tordent, se fragmentent en bâtonnets plus courts ou bien fusionnent en bâtonnets plus longs, ou se ramifient. Les courants cytoplasmiques n'interviennent pas dans ces mouvements.

Fig 6.4

Microcinématographie en accéléré : modification de la forme des mitochondries observées dans des cellules en cultures (CHÉVREMENT).

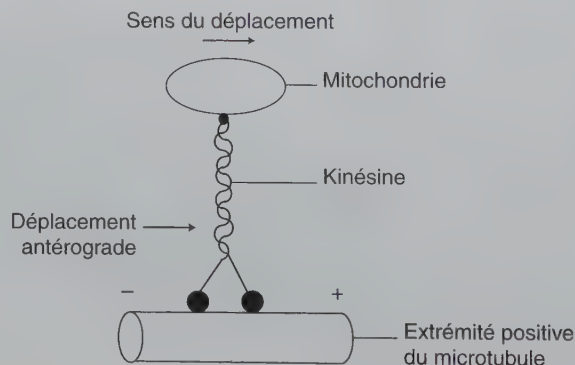


Rôle du cytosquelette et des moteurs moléculaires

■ Chez la Souris, une molécule KIF1B (kinesin factor 1B; facteur 1B de la **kinésine**), appartenant à la superfamille KRP (kinesin-related protein; protéines apparentées à la kinésine), est exprimée dans une très grande variété de tissus. KIF1B agit comme un monomère fixé par une de ses extrémités à la mitochondrie et par l'autre au microtubule : elle déplace la mitochondrie en direction de l'extrémité positive des microtubules (déplacement antérograde).

Fig 6.5

Déplacement d'une mitochondrie reliée à un microtubule par une protéine motrice. Voir chapitre intitulé « Le cytosquelette ».



Au cours de la mitose

Les mitochondries modifient leur comportement : elles se disposent en dehors du fuseau mitotique, en général dans la partie moyenne de la cellule. Elles interrompent leurs mouvements de déplacement. La plasmodièrèse (division du corps cellulaire) les répartit d'une manière approximativement égale entre les deux cellules filles.

L'absence de mouvements

Dans quelques cellules, les mitochondries sont immobiles, par exemple dans la pièce intermédiaire du spermatozoïde située entre la tête et le flagelle. Les mitochondries sont également immobiles (fig. 6.1) dans les compartiments limités par des invaginations de la membrane basale des tubes excréteurs du rein (tubes contournés), dans le muscle strié...

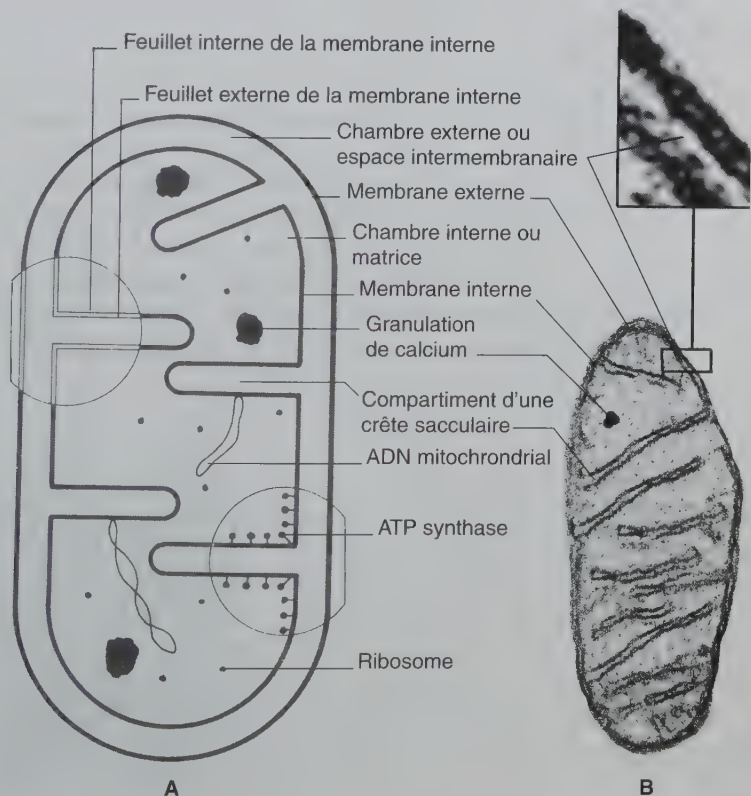
Les mouvements des mitochondries dépendent du cytosquelette. Ils cessent au cours de la division cellulaire. Les mitochondries sont immobiles dans certaines cellules, comme les spermatozoïdes, les cellules des tubes contournés du rein.

Ultrastructure et constitution biochimique

La mitochondrie est constituée par une enveloppe et une matrice (fig. 6.6).

Fig 6.6
Mitochondrie en microscopie électronique.

A. Représentation schématique d'une mitochondrie.
B. Phomicrophotographie en microscopie électronique à transmission.



L'*enveloppe*, ou paroi mitochondriale, comprend une *membrane externe*, une chambre externe ou *espace intermembranaire*, une *membrane interne* qui limite la chambre interne ou *matrice mitochondriale*.

La *matrice* contient une machinerie de synthèse des protéines.

La membrane externe

C'est une bicouche lipidique extrêmement *perméable*, d'une épaisseur comprise entre 5 et 7 nm. Elle est proche par sa composition chimique de la membrane plasmique. Dans les conditions de fixation habituelles, elle est constituée d'un feuillet osmiphobe placé entre deux feuillets osmiophiles. Le feuillet moyen de cette membrane, après *cryodécapage* (voir « Techniques utilisées en biologie cellulaire », chapitre 1), est occupé par des particules sphériques (protéines) dont le diamètre varie entre 5 et 10 nm. La face A (face de la moitié externe de la membrane tournée vers l'intérieur de l'organite) contient en moyenne 2 000 à 3 000 particules par μm^2 . La face B (face de la moitié interne de la membrane tournée vers l'extérieur de l'organite) en contient beaucoup moins : environ un millier par μm^2 .

Elle est constituée par 60 % de protéines et 40 % de lipides.

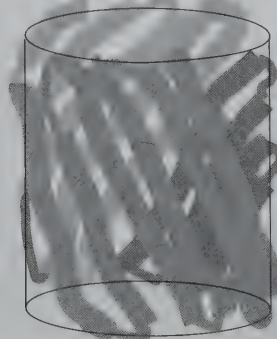
Elle contient :

- des *porines* (30 kDa) : ce sont des protéines porteuses non glycosylées, constituées par trois sous-unités en feuillets β (ce qui contraste avec les hélices α de la plupart des autres protéines membranaires) regroupées autour d'un pore d'un diamètre de 2 à 3 nm (fig. 6.7); elles contiennent plus d'acides aminés polaires que les autres protéines hydrosolubles. Elles permettent le transport passif de molécules dont le poids moléculaire est égal ou inférieur à 10 kDa. Elles ont la propriété de se lier avec les protéines MAP2, protéines associées aux microtubules (MAP : microtubule-associated protein).

- des *pores anioniques voltage-dépendants* (VDCA : voltage-dependent anion channel) découverts chez la Levure. Ces petites protéines constituent des canaux dont l'ouverture dépend de la différence de potentiel entre la face externe et la face interne de la membrane externe. VDCA est aussi le site de liaison de l'*hexokinase* et de la *glycérolkinase*; ces canaux ioniques auraient ainsi une fonction métabolique régulatrice. Chez l'Homme, il existe des *homologues* HVDCA 1 et 2 (human voltage-dependent anion channel). Ces canaux anioniques sont des PTP (permeability transition pore; pore de transition de la perméabilité) qui jouent un rôle

Fig 6.7

Molécules de porines ayant la structure de feuillets β . Un pore est constitué par le groupement de trois molécules. Le cylindre indique simplement la disposition des feuillets.



important, surtout dans la membrane mitochondriale interne (voir paragraphe « Membrane interne mitochondriale »).

- des *récepteurs d'importation* Tom 37, 70, 20, 22, et 5 (translocase outer membrane; translocase de la membrane externe.) qui reconnaissent les séquences d'adressage des protéines d'origine cytosolique destinées à la mitochondrie. Par exemple, les ADN et ARN polymérases mitochondriales, qui sont synthétisées dans le cytosol, sont reconnues par ces récepteurs d'importation (voir paragraphe intitulé « Importations des protéines »).
- des *complexes d'importation* des protéines à destination mitochondriale Tom 40, qui constituent un canal transmembranaire associé à trois petites protéines, les protéines Tom 5, 6 et 7.
- des *complexes d'importation du cholestérol*, nécessaires à la synthèse des stéroïdes qui se déroule en partie dans la mitochondrie.
- la *protéine bcl-2* (B cell lymphoma; lymphome à cellules B) dont la surexpression bloque l'apoptose. Cette molécule est codée par un proto-oncogène *bcl-2* isolé à partir d'un lymphome à cellules B. Elle est insérée dans la membrane externe, possède une extrémité amino-terminale située dans le cytoplasme (cette molécule existe également dans la membrane externe des noyaux et en plus faible quantité dans la face externe du réticulum endoplasmique).
- une *acyl-CoA synthétase* : elle active les acides gras (en présence d'ATP et de coenzyme A) en les transformant en acyl-CoA.
- des *molécules interagissant avec les protéines associées aux microtubules* (MAP). Il s'agit de porines qui sont capables de se lier aux MAPs : ces liaisons sont ATP-dépendantes.
- des molécules de *monoamine oxydase*, une enzyme contenant une flavine qui catalyse la désamination oxydative des amines.
- des molécules de *cytochrome b_5* qui participent aux réactions de transfert d'électrons avec une grande variété de protéines différentes.

La chambre externe ou espace intermembranaire

Cet espace a une épaisseur variable, comprise généralement entre 4 et 7 nm. Il est peu dense au rayonnement électronique. Il communique avec la lumière (ou compartiment) des crêtes mitochondriales. Il renferme :

- des *protons H^+* qui proviennent du fonctionnement des complexes I, II, III de la chaîne respiratoire (voir paragraphe « Mitochondrie et respiration cellulaire »). Ces protons jouent un rôle capital dans la phosphorylation de l'ADP.
- des molécules de *cytochrome c* localisé sur la face externe de la membrane interne. C'est une protéine qui transfère un seul électron à la fois : elle est dotée d'un groupe prosthétique hème.
- des molécules d'une taille inférieure à 10 kDa.

L'espace intermembranaire contient aussi les composants impliqués dans l'apoptose, qui sont la *caspase 2*, la *caspase 3*, *AIF* (apoptosis inducing factor; facteur induisant l'apoptose), un facteur inducteur de l'apoptose, ainsi que le cytochrome c . Ces molécules sont libérées par des facteurs apoptotiques.

L'espace intermembranaire disparaît par places, au niveau de zones d'accolement entre les deux membranes. Ces zones d'accolements transitoires sont les régions membranaires occupées par les complexes d'importations (Tim [translocase inner membrane; translocase de la membrane interne] et Tom) des membranes mitochondriales interne et externe.

La membrane interne

Elle possède une face en rapport avec la chambre externe, dénommée face externe ou cytosolique par quelques auteurs, et une face interne ou face matricielle. Elle a une épaisseur comprise entre 5 et 7 nm. Bien qu'ayant la structure d'une bicouche lipidique, l'organisation de la membrane interne diffère complètement de celle de la membrane externe. Elle contient 80 % de protéines (soit 6 000 particules intramembranaires par μm^2) et 20 % de lipides.

■ Les crêtes mitochondriales

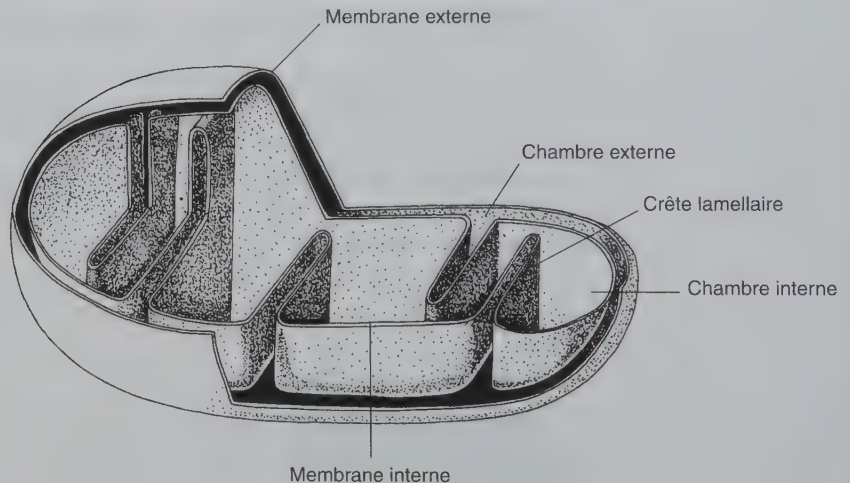
La membrane interne s'invagine et pénètre profondément dans la matrice mitochondriale. Elle dessine des structures qui portent le nom de crêtes.

Le nombre des crêtes est proportionnel à l'activité de la cellule. Ainsi, dans les fibres musculaires striées squelettiques, les crêtes emplissent presque complètement la chambre interne.

La forme des crêtes varie avec les fonctions et l'activité de la cellule. Elles sont :

- en forme de bouteilles aplaties, de flasques, dont le goulot ou pédicule serait plus étroit que la crête elle-même.
- *sacculaires* : la paroi se poursuit, sans portion rétrécie avec la membrane interne; contrairement au cas précédent, le compartiment intérieur de la crête communique largement avec la chambre externe.
- *lamellaires* dans de très nombreuses cellules (fig. 6.8). Les mitochondries à haute activité cellulaire possèdent des *crêtes lamellaires* très nombreuses : c'est le cas des mitochondries des fibres musculaires striées. Dans les myocytes cardiaques, ces crêtes lamellaires remplissent presque complètement la chambre interne.

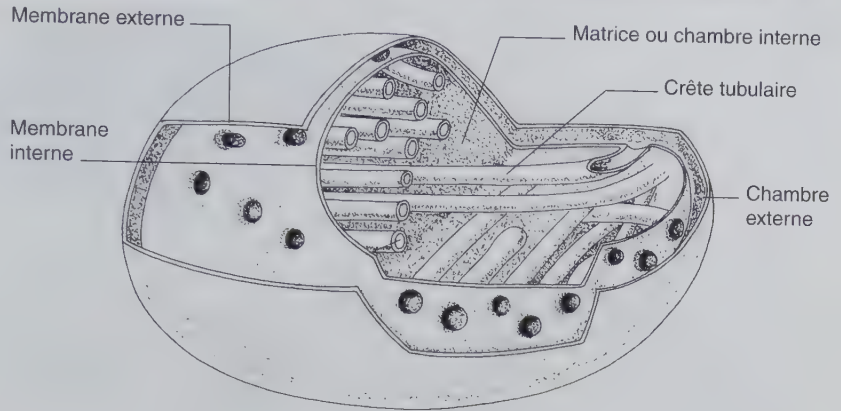
Fig 6.8
Représentation tridimensionnelle d'une mitochondrie à crête lamellaire.



- *tubulaires* (fig. 6.9) dans les cellules qui sécrètent des stéroïdes comme, par exemple, les cellules de Leydig du tissu interstitiel du testicule qui sécrète la testostérone. Dans les cellules mixtes, qui sécrètent à la fois des stéroïdes et des protéines, il existe des crêtes tubulaires et lamellaires.

Fig 6.9

Représentation tridimensionnelle d'une mitochondrie à crêtes tubulaires.



– *prismatiques* dans les astrocytes qui sont des cellules de la névrologie du système nerveux (fig. 6.10).

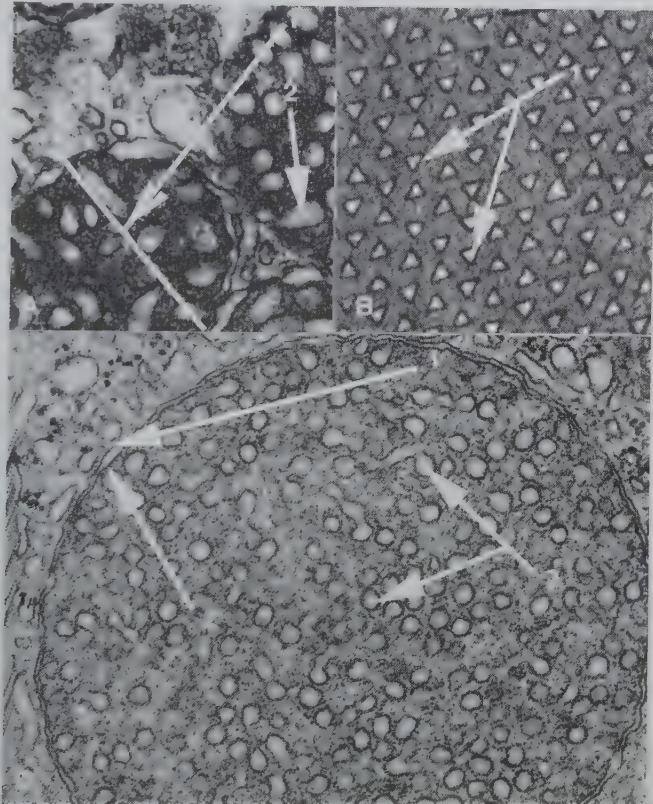
Fig 6.10

Crêtes mitochondriales.

A. 1. Mitochondrie à crêtes tubulaires et à matrice dense. 2. Crête tubulaire.

B. Crêtes prismatiques.

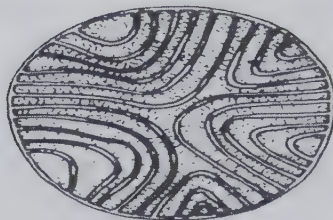
C. Mitochondrie à crêtes tubulaires. 1. Membrane externe. 2. Membrane interne. 3. Coupes transversales de crêtes tubulaires.



– *arciformes* dans la graisse brune qui existe chez le nouveau-né et chez les animaux hibernants. Ces mitochondries sont très particulières car ce sont les seules qui, dans des conditions somme toute physiologiquement normales, produisent de la chaleur sans produire d'ATP (fig. 6.11).

Fig 6.11

Mitochondrie à crêtes arciformes de la graisse brune. Redessiné d'après J. ALLIET et P. LALÉGERIE.



Grâce aux crêtes, la surface de la membrane interne est *multipliée par cinq*. Une cellule hépatique contient environ 1 700 mitochondries. La surface développée par la membrane interne de toutes les mitochondries d'une cellule hépatique est 15 fois supérieure à la surface de la membrane plasmique.

Cette description classique ne correspond pas aux images obtenues avec les techniques de tomographies en microscopie électronique. Actuellement, on considère que cette membrane est pléomorphe. En effet, elle limite des régions tubulaires étroites, qui connectent les compartiments internes des crêtes entre eux et également à l'espace intermembranaire (chambre externe). Ces jonctions tubulaires, qui unissent les compartiments internes des crêtes, se forment spontanément. Les jonctions tubulaires limitent et ralentissent la diffusion des molécules, et en particulier de l'ADP, entre la chambre externe et les compartiments internes des crêtes. Cette limitation diminue la quantité d'ATP synthétisée.

■ Composition protéique

Sa composition souligne les particularités de la membrane interne. En dehors de transporteurs spécifiques, elle est imperméable aux protons, aux coenzymes (NAD et NADH_2), aux nucléotides (AMP, ADP, ATP, GDP, GTP), au malate, au fumarate, à l'oxaloacétate... pour ne citer que quelques exemples.

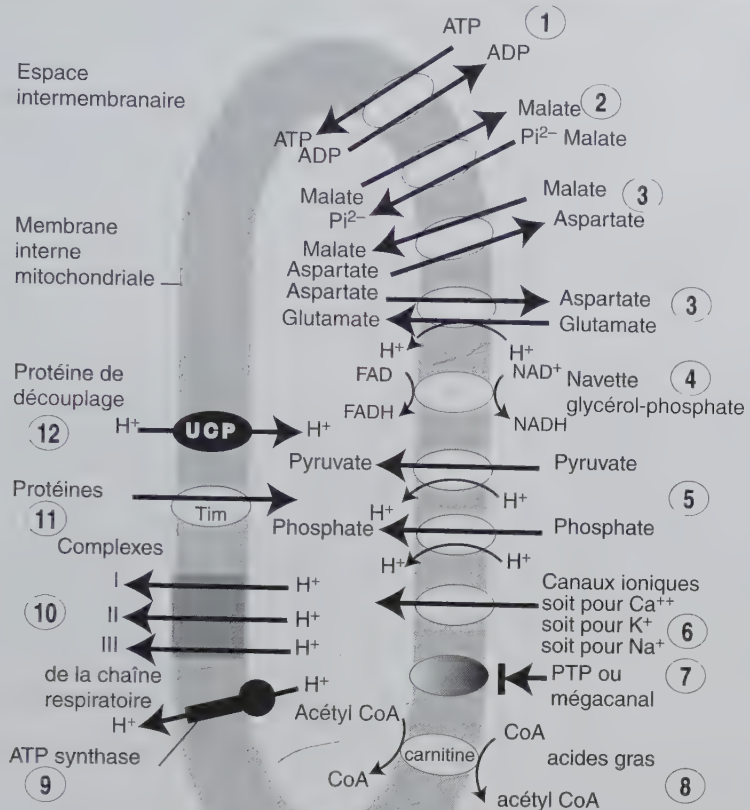
Une soixantaine de protéines entrent dans la constitution de la membrane interne. Elles sont en majorité hydrophobes (fig. 6.12, les chiffres en gras dans le texte renvoient à la figure).

Il s'agit :

- des *cytochromes P450* (ainsi dénommés parce que leur adsorption dans le spectre lumineux est maxima à 450 nm). Leur PM est de 50 kDa. Ils sont ancrés dans la membrane interne. Ils possèdent un groupe prosthétique hème : le site actif est localisé dans la matrice. Ce sont des enzymes qui interviennent dans la synthèse des hormones stéroïdes (par exemple, dans les cellules de la corticosurrénale).
- des molécules d'*adrénodoxine* et d'*adrénodoxine réductase* qui interviennent dans le transport des électrons entre le NADPH (NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit) contenu dans la matrice et le cytochrome P450. La protéine P450, l'adrénodoxine et l'adrénodoxine réductase interviennent dans l'hydroxylation et non pas dans la phosphorylation oxydative.
- les *antiports ATP/ADP* qui assurent le passage de l'ADP de la chambre externe de la matrice en même temps que la sortie de l'ATP de la matrice vers la chambre externe (1).
- les *antiports malate/ P_i* , qui permettent le transfert de malate d'origine matricielle vers l'espace intermembranaire (2).
- la *navette malate aspartate* formée par la perméase malate/ α -cétoglutarate et la perméase aspartate/glutamate. Elle transfère le malate au travers de la membrane interne en direction de la matrice (3).

Fig. 6.12

Composition protéique de la membrane interne. Les chiffres au centre des cercles renvoient au texte.



– la *navette glycérol-phosphate* : elle transfère les électrons du $NADH^+$ à l'ubiquinone (CoQ) située dans la membrane interne (4).

– des *symports métabolites/ H^+* spécifiques : tous les métabolites passent obligatoirement par l'intermédiaire de cotransporteurs. Ils assurent le transport actif du pyruvate, des acides gras, des ions phosphate et du calcium. L'énergie nécessaire est fournie par le transport des protons dans le sens du gradient de concentration (5).

– des *canaux ioniques* qui assurent le transport du sodium, du potassium et du calcium (6).

– des *PTP* (permeability transition pore; pores de transition de perméabilité) encore appelés mégacanaux, qui s'ouvrent sous l'influence de facteurs apoptotiques pour laisser s'échapper de la matrice des quantités très importantes de calcium (7).

– des molécules de *carnitine acyl-transférase I et II* et une *translocase* qui interviennent dans le transfert des acyl-coenzymes A à travers la membrane mitochondriale interne (8).

– l'*ATP synthase* (F_0/F_1 -ATPase, H^+ ATPase) qui, par phosphorylation de l'ADP, produit l'ATP. Elle existe non seulement dans les mitochondries, mais aussi dans la membrane des thylakoïdes des chloroplastes, dans la membrane plasmique des bactéries. Elle correspond à 15 % des protéines de la membrane interne. L'ATP-synthase est un complexe formé d'une sphère *facteur F_1* et d'un *facteur F_0* de couplage enchâssé dans la membrane par de fortes liaisons hydrophobes. Le facteur F_1 a un diamètre de 4 nm : il est situé du côté de la matrice. Cette protéine globu-

laire est constituée par 3 sous-unités α et 3 sous-unités β disposées en couronne autour d'une sous-unité γ (9) (fig. 6.13).

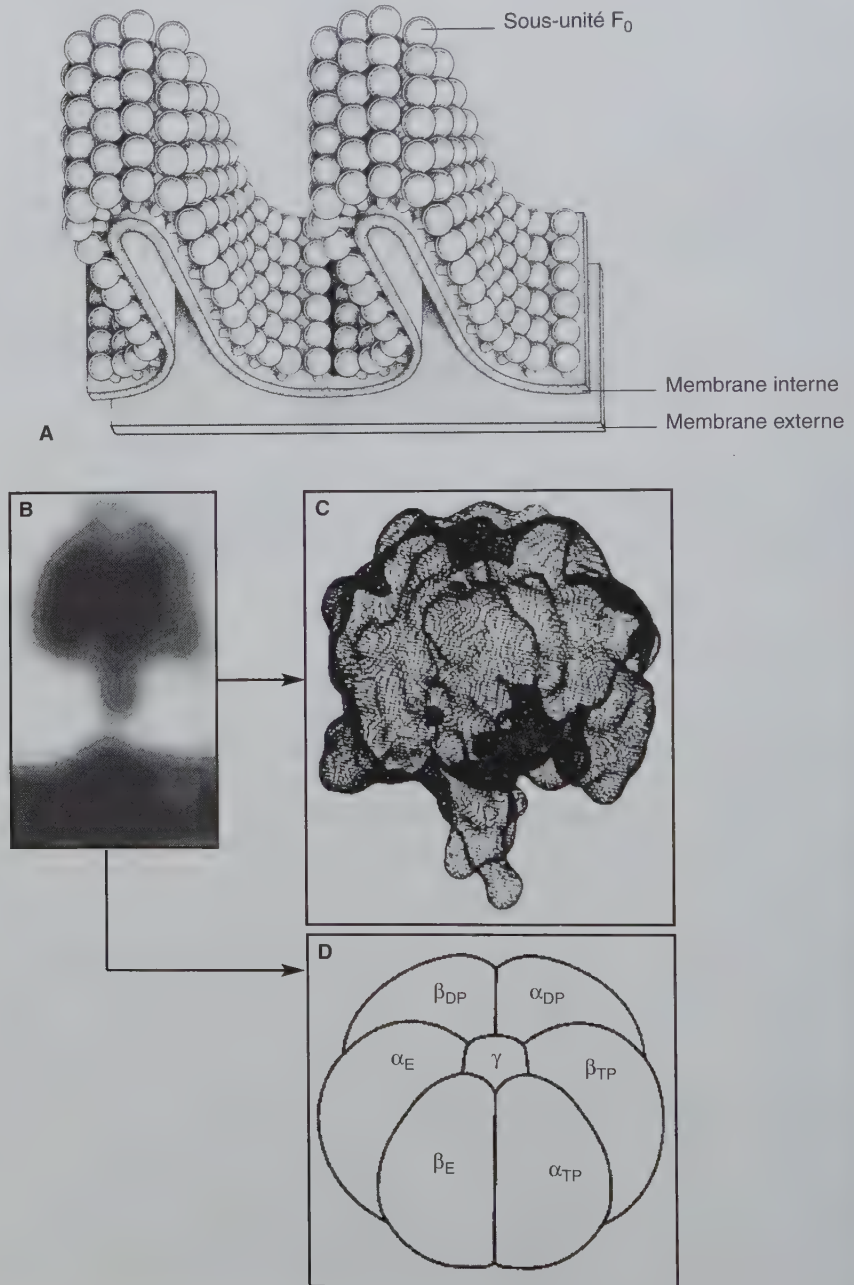
– des *transporteurs d'électrons et de protons* : ils regroupent le complexe I ou le NADH-déshydrogénase, le complexe II ou succinate-déshydrogénase, le complexe III ou complexe b-c₁, le complexe IV ou cytochrome oxydase. Ces quatre complexes constituent la chaîne respiratoire. Seuls les complexes I, III et IV transportent les protons (10).

– des *protéases* et des *GTPases* qui interviennent dans l'importation des protéines et dans leur maturation.

– les *complexes d'importation* de la membrane interne Tim (11).

Fig. 6.13

A. Crêtes mitochondriales montrant la disposition de la sous-unité F_0 de l'ATP synthase (d'après KRSTIC). B. Vue latérale de l'ATP synthase d'*Escherichia coli*. C. Vue topographique de F_1 (B et C : R.A. CATALDI, *F₁ in a spin*, *Nature Structural biology*, 1 (10), 1994). D. Disposition des sous-unités a, b, g de F_1 (ABRAHAM J.P., LESLIS A.G.W., LUTTER R. et WALKER J.E., *Nature*, 1994).



– les *protéines de découplage* qui permettent le passage des protons H^+ de la chambre externe vers la matrice et inhibent ainsi la formation d'une différence de potentiel. L'ATP synthase ne peut plus phosphoryler l'ADP alors que le transport d'électrons est toujours actif (12).

■ Composition lipidique

La membrane interne mitochondriale contient des quantités particulièrement faibles de cholestérol : il représente 1/53^e de la quantité des lipides contenus dans cette membrane. Pour certains auteurs, la membrane interne serait dépourvue de cholestérol. En revanche, cette membrane contient 20 % de cardiolipines. Les cardiolipines sont imperméables aux protons H^+ . Elles permettent aux lipides cytosoliques de pénétrer dans la matrice pour y subir la β -oxydation.

La membrane externe, très perméable, contient des porines (transports passifs), des complexes de translocation, les complexes d'importation, du cholestérol. La chambre externe contient des protons, des facteurs provoquant l'apoptose. La membrane interne dessine des crêtes internes communicantes et communiquant avec la chambre externe. Elle contient des symports métabolites/ H^+ , des antiports ATP/ADP, les quatre complexes de la chaîne respiratoire, des cardiolipines, des enzymes de la β -oxydation, des complexes d'importation des protéines, les transporteurs d'électrons et de protons et de l'ATP synthase.

La matrice mitochondriale

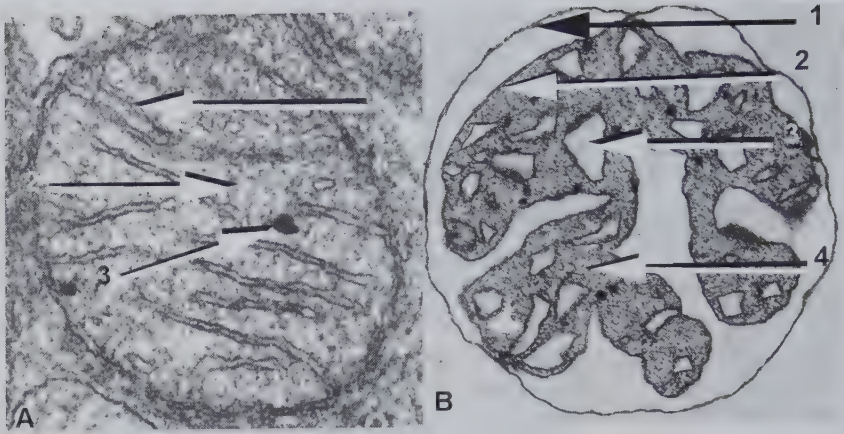
Elle occupe la chambre interne. Elle est légèrement dense en microscopie électronique et finement granuleuse. Elle renferme :

- des molécules d'ADN (ADNmt) circulaire.
- des molécules d'ARN *mitochondrial* (ARNmt) et des ARN *de transfert* (ARNt).
- des *mitoribosomes* qui ressemblent aux ribosomes bactériens. Ils sont visibles après coloration négative. Ils diffèrent des ribosomes cytoplasmiques par leur sensibilité à l'action d'antibiotiques comme le chloramphénicol, l'érythromycine, la streptomycine et la néomycine qui bloquent l'activité de synthèse protéique. Ils diffèrent également par leur taille qui est plus petite.
- toutes les enzymes impliquées dans la réplication, la transcription et la traduction de l'ADNmt.
- des *granulations denses*, irrégulières, ayant un diamètre de 50 nm au maximum, formées par l'accumulation de cations, calcium et magnésium.
- des enzymes impliquées dans l'*oxydation de l'acide pyruvique*, dans la β -oxydation des acides gras.
- une enzyme impliquée dans le cycle de Krebs, la succinate déshydrogénase, et des molécules de NADH et de NADPH propres aux mitochondries : elles interviennent dans le transport des électrons.

La matrice, en fonction de l'activité de la mitochondrie, peut revêtir deux aspects. Elle peut être *orthodoxe*, ce qui correspond à l'aspect habituel tel qu'il vient d'être décrit : l'activité fonctionnelle est importante, l'ATP est en excès. Par contre, la mitochondrie peut avoir un *aspect condensé* qui se traduit par une augmentation très importante de l'espace intermembranaire, des compartiments contenus dans les crêtes et de la densité de la matrice. Cette forme traduit un excès d'ADP, une phosphorylation oxydative réduite. Elle peut être physiologique ou induite par des inhibiteurs du transport des électrons comme le cyanure de potassium (fig. 6.14).

Fig 6.14

A. Mitochondrie orthodoxe. 1. Crête mitochondriale. 2. Matrice. 3. Granulations contenant du calcium.
B. Mitochondrie condensée. 1. Membrane externe. 2. Membrane interne. 3. Compartiment d'une crête. 4. Matrice dense.



La matrice mitochondriale renferme une machinerie de synthèse des protéines (ADN, ARNm, ARNt et ARNr). C'est une réserve de calcium (granulations denses). Elle peut avoir un aspect orthodoxe et un aspect condensé.

Mort et renouvellement des mitochondries

La mort des mitochondries

Les mitochondries sont détruites par autophagie. Dans une cellule hépatique, elles sont renouvelées environ 15 fois pendant la demi-vie (150 jours) de cette cellule.

Division des mitochondries

La division mitochondriale comprend deux événements principaux :

- la duplication de l'ADN mitochondrial : elle peut aboutir à la formation d'une cinquantaine ou d'une centaine de copies;
- la *mitochondriodierèse* (mitochondriokinesis) qui est comparable à la cytodierèse (fig. 6.15 et 6.16).

Fig 6.15

Division d'une mitochondrie. Formation d'une crête qui partage la mitochondrie puis mitochondriogenèse par striction au niveau de la crête néoformée.

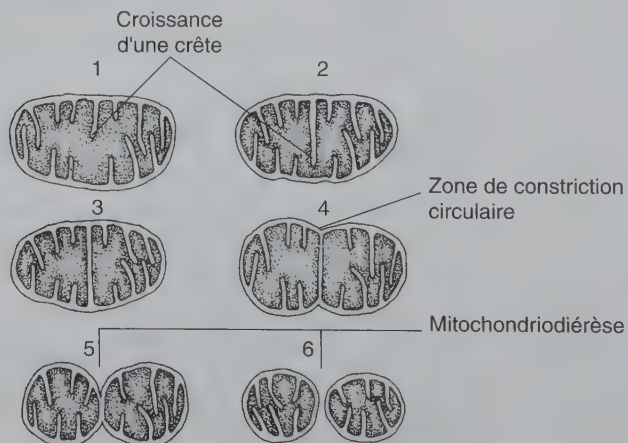
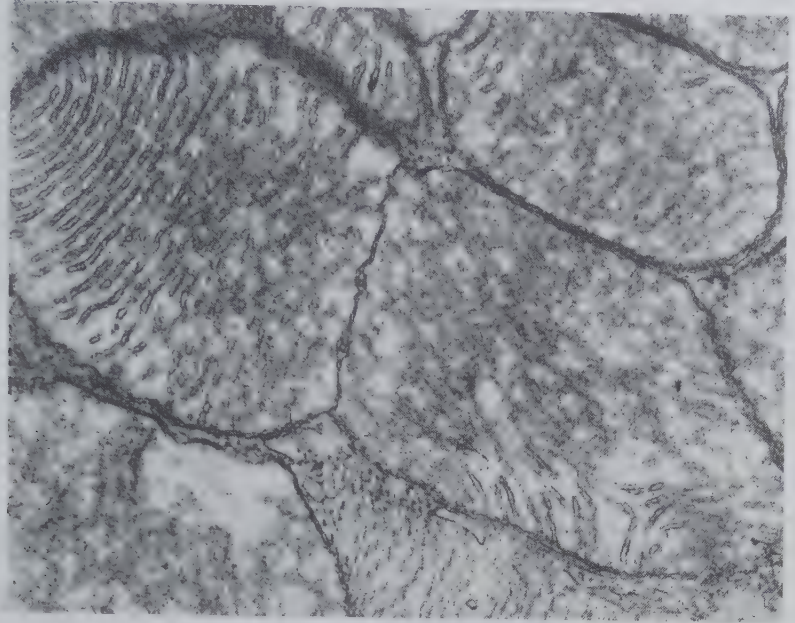


Fig 6.16

Mitochondrie du muscle cardiaque : division d'une mitochondrie ($\times 38\,700$). (Cliché de B. TANDLER et C.L. HOPPEL, *Anat. Rec.*, 173, 1972, 309-324.)



La mitochondrie, après multiplication de l'ADNmt, peut alors se diviser sans avoir à synthétiser de nouvelles molécules d'ADN. Les mitochondries néoformées contiennent généralement 1 à 5 copies du chromosome mitochondrial. La division se fait soit par formation d'une cloison constituée par une membrane interne et une membrane externe, soit par constriction. Dans le premier cas, une invagination se forme en un point de la membrane interne : elle pénètre dans la matrice et se développe de manière à séparer les deux mitochondries filles. Pour certains auteurs, la division par constriction serait due à la présence d'un appareil de division mitochondriale ayant la forme d'un anneau formé par une protéine apparentée à l'actine. Cet anneau serait situé au niveau de la partie moyenne de la mitochondrie, contre la face externe de la membrane externe.

Le génome mitochondrial

Le génome mitochondrial d'organismes aussi variés que les animaux, les plantes, les algues, les champignons a été étudié en microscopie électronique.

■ L'ADN mitochondrial

L'ADNmt (fig. 6.17) est circulaire : sa forme est celle d'une courbe fermée. Il est bicaténaire. Il a une longueur de 16 kb chez l'Homme, 78 kb chez *Saccharomyces cerevisiae*, 63 kb chez *Neurospora crassa*. Il se localise au voisinage des crêtes mitochondriales.

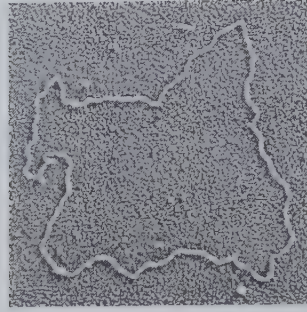
L'ADNmt représente 1 à 5 pour mille de l'ADN cellulaire total. Dans les mitochondries des hépatocytes, le nombre moyen de molécules d'ADNmt (par mitochondrie) est de 4 à 5.

L'information portée par l'ADNmt est 100 000 fois inférieure aux informations de l'ADN nucléaire.

Cet ADN est associé à une histone. L'histone mitochondriale (HM) est une protéine très abondante dans les mitochondries de Levure. Elle enveloppe l'ADN

Fig 6.17

Forme de l'ADN mitochondrial. Coloration négative ($\times 54\,400$). (Cliché de WELLAUER, WEBER et WYLER, *J. Ultrastr. Res.*, 42, 1973, 377-393.)



et active la transcription *in vitro*. Elle est nécessaire au maintien de l'ADN mitochondrial. HM et la protéine bactérienne histone-like (apparenté à l'histone) HU ont une activité semblable et peuvent être substituées l'une à l'autre dans les mitochondries des cellules d'*Escherichia coli* et de Levure. Les protéines HMG1 (high mobility group; groupe de haute mobilité), chez les Vertébrés supérieurs, sont fonctionnellement homologues à HM.

■ Les gènes

Le génome contient 17 000 paires de bases et les gènes ne possèdent pas d'intron, exactement comme ceux des Procaryotes.

Le brin lourd (brin H, H pour heavy) code 12 sous-unités de la chaîne respiratoire, les ARN ribosomiaux et 14 ARN de transfert. Le brin léger (brin L, L pour light) contient 9 gènes, un gène code les sous-unités du complexe I de la chaîne respiratoire, les huit autres codant les ARN de transfert. Les deux brins (lourd ou léger) n'ont pas la même densité car leur teneur en guanine et en cytosine est différente.

Le génome mitochondrial ne fonctionne pas comme celui du noyau. Le code génétique est différent de celui de l'ADN nucléaire : le même codon ne code pas les mêmes acides aminés. Par exemple UGA est un codon tryptophane et non un codon non-sens, AUA un codon méthionine et non de l'isoleucine, AGA et AGG sont des codons d'initiation et non pour l'isoleucine... Le nombre d'ARNr est insuffisant pour lire les 61 codons sens. Mais les possibilités d'appariement codons/anticodons sont ici différentes. Par exemple, si l'anticodon de l'ARNt débute par un U, il peut s'apparier avec 4 codons qui diffèrent uniquement par leur troisième nucléotide. Ainsi, ces anticodons reconnaissent 4 codons.

Les gènes des ARNt servent de ponctuation : ils font office de séquences intercalaires. Les ARNm ne possèdent ni séquence initiale, ni séquence terminale. La moitié des ARNm n'a pas de séquence de fin de lecture.

Il n'existe qu'un seul promoteur par brin d'ADN.

Cinq cents protéines sont synthétisées dans le cytosol et transférées aux mitochondries.

■ Transmission du génome mitochondrial

Chez les Mammifères, les mitochondries sont transmises par la mère : seul le noyau du spermatozoïde pénètre dans l'ovule. Les mitochondries des spermatozoïdes restent à l'extérieur de l'ovule. L'hérédité maternelle cytoplasmique est non mendélienne : les cas de mutation sont transmis à la fille, mais seule la fille les transmettra à sa descendance.

Il existe des myopathies d'origine mitochondriale par mutation de l'ADN mitochondrial.

L'héritage strictement maternel de l'ADNmt est maintenu grâce à un mécanisme de reconnaissance et de destruction totale de l'ADNmt paternel dans les croisements interspécifiques. Cette destruction a lieu au moment de la fécondation, alors que les noyaux provenant de chacun des gamètes sont au stade de pronucleus. Par contre, chez la *Drosophile*, le pourcentage d'ADNmt paternel par fécondation est estimé à 0,1 %.

■ Analogie avec les génomes bactériens

Il existe une identité morphologique entre l'ADNmt et l'ADN bactérien : ils sont tous deux circulaires.

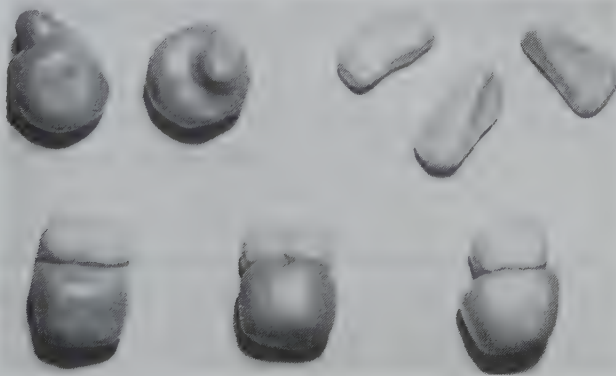
■ Les mitoribosomes

Le terme de mitoribosome (fig. 6.18) désigne les ribosomes mitochondriaux. Leur *taille* varie selon l'espèce à laquelle appartiennent les mitochondries. Les mitoribosomes humains, ou appartenant à d'autres cellules chez les Vertébrés supérieurs (rat, vache, porc, lapin, poulet), sont des particules du type 50 à 60 S avec deux sous-unités, une de 25 à 33 S et l'autre de 35 à 45 S.

La grande sous-unité, grossièrement sphérique, possède une face aplatie en rapport avec la petite sous-unité. La petite sous-unité a une forme allongée, ellipsoïde. Un sillon les sépare. Une dépression placée au centre du sillon est bien visible sur une des faces, moins évidente sur l'autre.

La quasi-totalité, sinon la totalité des protéines des mitoribosomes, est synthétisée dans le cytoplasme.

Fig 6.18
Reconstitution tridimensionnelle de mitoribosomes.
(Cliché de ANDRÉ et VIGNAIS, *J. Cell. Biol.*, 54, 1972, 468.)



■ Les ARNs mitochondriaux (ARNmt)

La matrice mitochondriale contient des ARN ribosomiaux, des ARN de transfert et des ARN messagers.

Synthèse, par la mitochondrie, des protéines mitochondriales

Le génome mitochondrial humain, dont la séquence a été entièrement déterminée, contient 16 569 paires de bases. Il code 2 ARNr, 22 ARNt et une dizaine de poly-

peptides. Les polypeptides codés sont la cytochrome-oxydase, l'apocytochrome b, l'ATPase, la NADH déshydrogénase, pour ne citer que les principaux. La totalité de chacune de ces protéines n'est pas forcément entièrement codée par l'ADNmt : ainsi, le nombre de sous-unités protéiques codées par l'ADNmt est de 7 pour la NADH déshydrogénase, 1 pour le cytochrome b, 3 pour la cytochrome oxydase, 2 pour l'ATPase. Les sous-unités non codées par l'ADNmt le sont par l'ADN nucléaire.

■ Importation des acides aminés nécessaires aux synthèses

Les expériences de marquage par les éléments radioactifs démontrent que les acides aminés du pool cytoplasmique traversent les membranes externe et interne pour gagner la matrice mitochondriale.

■ Synthèse de l'ARNmt

La mitochondrie contient une ARN polymérase d'origine cytosolique, qui assure la synthèse de l'ARN messager mitochondrial (ARNmt), de forme complémentaire d'un des brins de l'ADNmt. L'ARNmt migre vers les mitoribosomes qui se fixent sur cette molécule et la décotent.

■ Activation des acides aminés

Les ARNt (ARN de transfert), sous l'influence d'enzymes, activateurs spécifiques, et en présence d'ATP (aminoacyl-ARN synthétase), fixent les acides aminés et forment les aminoacyl-ARNt (acides aminés activés).

■ Formation de la chaîne polypeptidique

Par un processus analogue à celui observé dans le cytoplasme, les aminoacyl-ARNt se fixent, par l'intermédiaire de leurs anticodons, sur les codons de l'ARNt messager. Mais il existe au moins deux différences fondamentales :

- l'initiation de la chaîne protéique nécessite ici, comme chez les Bactéries, le N-formyl-méthionine-ARNt (substance qui n'existe pas dans le cytoplasme des Eucaryotes);
- le code génétique de l'ADNmt diffère de celui de l'ADN nucléaire des cellules eucaryotes. Par exemple, le codon UGA, qui interrompt la traduction chez les Eucaryotes, est le codon de l'ARNt du tryptophane (voir paragraphe précédent « Le génome mitochondrial »).

■ Cycle des synthèses protéiques

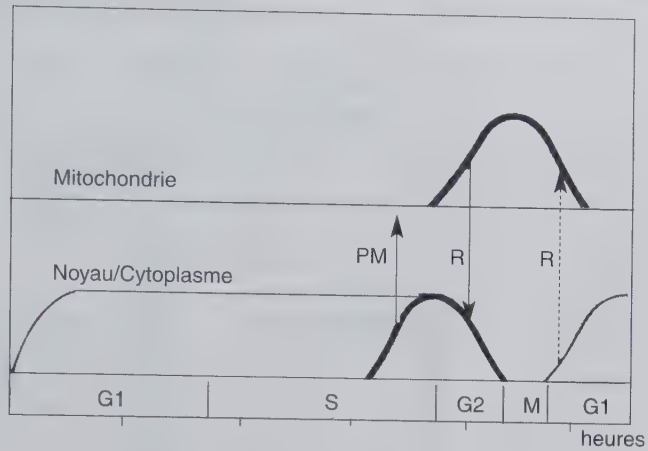
Les synthèses des protéines destinées aux mitochondries ou à la totalité de la cellule, exception faite des mitochondries, pendant le cycle cellulaire, s'effectuent au cours de trois périodes (fig. 6.19).

Première période : synthèse des protéines non mitochondriales

Cette période débute après la phase M et s'arrête à la fin de la phase G2. Les gènes responsables de la synthèse des protéines mitochondriales sont réprimés pendant les autres phases par un répresseur d'origine mitochondriale.

Fig 6.19

Cycle de synthèse. Synthèse protéique dépendant du noyau et des mitochondries au cours du cycle cellulaire. — : synthèse des protéines non mitochondriales, — : synthèse des protéines mitochondriales, R : répresseur, PM : protéines mitochondriales.



Deuxième période : synthèse extramitochondriale des protéines mitochondriales

Cette période commence à la fin de la phase S ; c'est en effet à la fin d'une nouvelle duplication de l'ADN que la dérégulation des gènes nucléaires responsables de la synthèse des protéines mitochondriales se produit. Elle s'arrête à la fin de la phase G2.

Troisième période : synthèse intramitochondriale des protéines mitochondriales

Cette période débute avec la phase G2, atteint son maximum au cours de la phase M et s'arrête au début de la phase G1. Les mitochondries produisent un répresseur qui arrête la synthèse de l'ARN messager, porteur du codage nécessaire à la synthèse extramitochondriale des protéines mitochondriales. Les protéines solubles préalablement formées (enzymes de la chaîne respiratoire et de la phosphorylation oxydative) sont assemblées par les protéines synthétisées par les mitochondries.

Cette troisième période ne peut être initiée que dans la mesure où le noyau produirait un facteur de réplication mitochondriale. Elle se termine grâce à l'action d'un répresseur des gènes nucléaires, élaboré par le génome mitochondrial.

Il est possible actuellement, sur un plan purement hypothétique, de schématiser les relations fonctionnelles noyau-mitochondrie (fig. 6.20).

Rôle de l'ADN mitochondrial dans l'activité respiratoire de la cellule

Deux lignées cellulaires humaines, appelées rho 0, ne possèdent pas d'ADNmt : elles ont été obtenues après une longue culture sur un milieu contenant du bromure d'éthidium. De telles cellules ne possèdent pas de chaîne respiratoire fonctionnelle. Leur croissance dépend de la présence d'uridine et de pyruvate dans le milieu de culture.

Importation des protéines d'origine cytosolique

■ Le signal d'adressage

La plupart des protéines mitochondriales synthétisées dans le cytosol sont des précurseurs (préprotéines) qui possèdent une séquence signal d'adressage aminoterminal, temporaire, amphiphile et fortement basique (fig. 6.21).

Fig 6.20

Relations fonctionnelles noyau-mitochondrie. Le noyau possède des gènes « mitochondriaux », c'est-à-dire des gènes contrôlant la synthèse, par les cytoribosomes, de protéines d'origine extramitochondriale. Les mitoribosomes élaboreraient, en même temps que des protéines mitochondriales, un répresseur susceptible d'avoir une action régulatrice sur les gènes mitochondriaux.

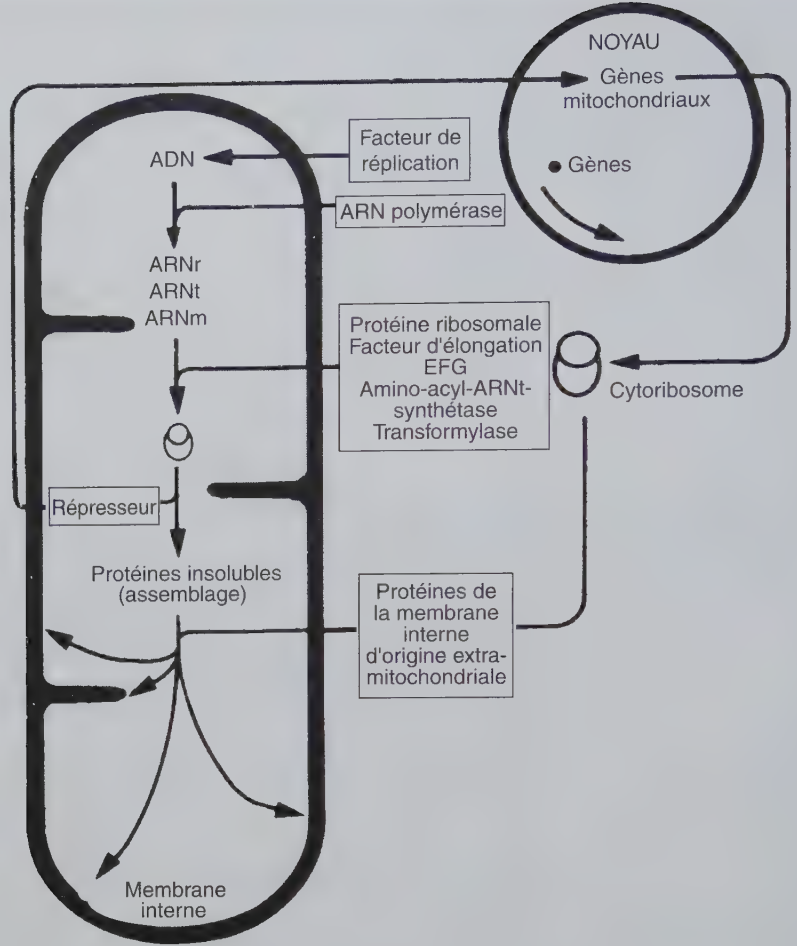
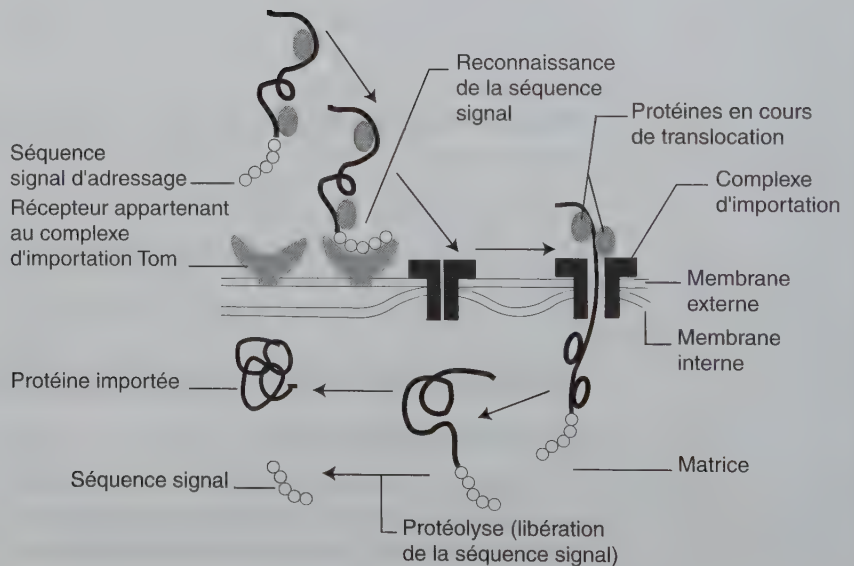


Fig 6.21

Translocation des protéines adressées à la matrice mitochondriale.



■ Rôle des chaperonnes

Dès que chacune des préprotéines émerge du ribosome, elle se lie à une protéine chaperonne cytosolique.

En effet, des chaperonnes, MSF (mitochondrial import stimulation factor; facteur mitochondrial d'activation de l'importation) et ctHsp70, (cytosolic heat shock protein; protéine cytosolique de choc thermique) dites *chaperonnes de la séquence d'adressage*, appartenant à la famille Hsp70 (heat shock protein; protéine de choc thermique), reconnaissent les préprotéines destinées aux mitochondries, forment des complexes avec elles et les maintiennent dans un état replié et non agrégé.

Le complexe « protéine chaperonne-préprotéine » est alors transporté vers des récepteurs de la membrane mitochondriale externe.

La voie d'importation MSF-dépendante est sensible à NEM (N-éthylmaleimide; N-éthylmaléimide). Elle nécessite l'hydrolyse de l'ATP mitochondrial pour la libération de MSF, tandis que la voie Hsp70 dépendante est insensible à NEM mais ne dépend pas de l'ATP extramitochondrial. L'importance relative de ces deux voies est déterminée par l'affinité de MSF et ctHsp70 pour les préprotéines.

■ Les complexes d'importation des protéines cytosoliques

Les récepteurs d'importation localisés sur la face externe de la membrane externe (fig. 6.22) possèdent un site de liaison spécifique de la séquence signal : ils reconnaissent donc la séquence amino-terminale d'adressage portée par la préprotéine associée à la molécule chaperonne. Ces récepteurs appartiennent au complexe d'importation Tom et comprennent 5 protéines Tom 37, 70, 20, 22 et 5. Tom 20, 22, 5 possèdent des séquences acides.

Le signal d'adressage basique des préprotéines à destination mitochondriale se lie à Tom 37/70, puis, grâce à des interactions de nature électrostatique, aux séquences acides de Tom 20 et de Tom 22 (d'autres préprotéines peuvent se lier directement à Tom 20/22). La préprotéine est alors transférée à Tom 5. La séquence d'adressage est dirigée vers Tom 40 qui constitue un canal transmembranaire : elle s'y engage. La préprotéine traverse ce canal en se dépliant. Elle se fixe alors successivement sur Tom 7, sur l'extrémité *cis* de Tom 22 (elle est située sur la face interne de la membrane externe) et sur Tim 23 (qui possède aussi une séquence acide) voisine de l'ouverture externe du canal de la membrane interne, avant de traverser la membrane interne grâce à un canal transmembranaire de la membrane interne (complexe Tim) venue au contact de la membrane externe.

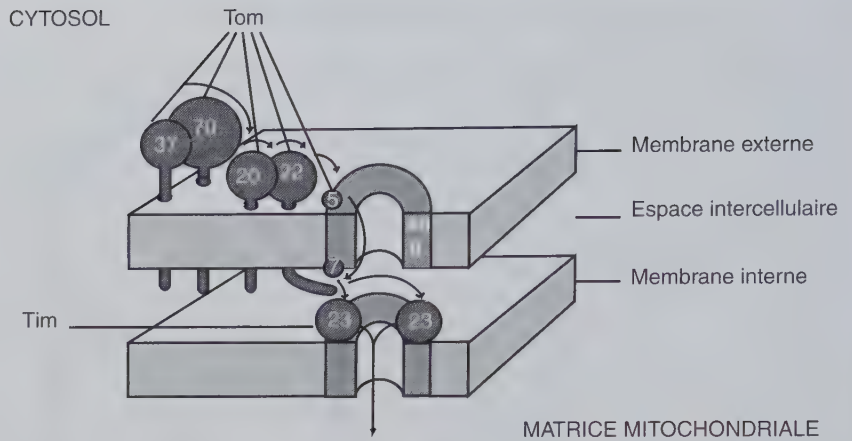
■ Devenir de la protéine importée

Les préprotéines, qui viennent de pénétrer dans la matrice mitochondriale, ne se replient qu'après clivage de la séquence d'adressage. Une protéase clive la séquence d'adressage des préprotéines. Les chaperonnes Hsp60 et Hsp10 interviennent alors pour replier les protéines qui, en fonction de leur nature, pourront soit séjourner dans la matrice, soit s'insérer dans la membrane interne, soit passer dans l'espace intermembranaire. Hsp10 favorise le fonctionnement de Hsp60. Elle est un composant essentiel de l'appareil mitochondrial de tri et d'assemblage des protéines importées.

Après repliement des molécules importées, les deux chaperonnes sont recyclées dans la matrice.

Fig 6.22

Les récepteurs d'importation de l'enveloppe mitochondriale. Le signal basique des préprotéines se fixe successivement à Tom 37, 70, 20, 22, 5, 40, 7 puis à Tim 23. Les flèches indiquent le cheminement des préprotéines.



■ Importation des protéines dans l'espace intermembranaire

Le transfert des protéines de PM inférieur à 10 kDa, à travers la membrane externe, se fait sans dépense d'énergie par l'intermédiaire des porines. Elles pénètrent directement dans l'espace intermembranaire.

En revanche, de nombreuses protéines, parmi celles dont le PM est supérieur à 10 kDa, pénètrent dans la matrice avant de gagner l'espace intermembranaire.

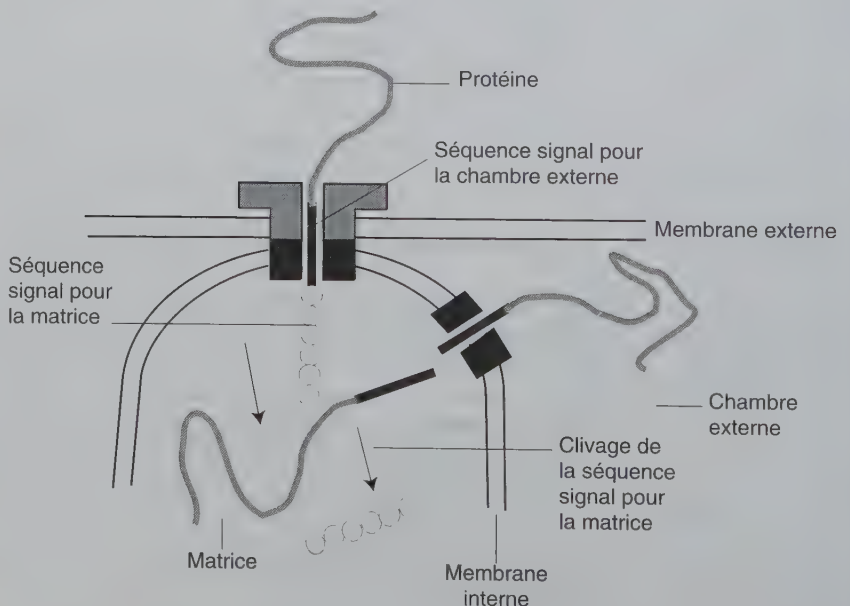
Les protéines destinées à l'espace intermembranaire possèdent deux signaux d'adressage

Un peptide signal amino-terminal déclenche l'importation vers la matrice et un autre peptide signal, également amino-terminal, guide la protéine soit dans l'espace intermembranaire, soit dans la face externe de la membrane interne (par exemple le cytochrome c, de 13 kDa). La translocation dans la matrice s'effectue de la même manière que pour les protéines à destination de la matrice. Une protéase clive la séquence signal pour la matrice (fig. 6.23).

Fig 6.23

Pénétration d'une molécule dans la chambre externe mitochondriale.

Après translocation de la protéine, une protéolyse clive la première séquence signal. La seconde séquence signal, très hydrophobe, assure le passage soit directement à travers la membrane interne soit à travers un pore qui serait constitué par la partie interne (en noir) qui aurait changé de place par glissement.



Les chaperonines Hsp60 et 10 maintiennent la molécule importée dépliée

La séquence signal pour l'espace intermembranaire se lie à une protéine réceptrice de la membrane interne, qui provoque la translocation vers l'espace intermembranaire. Dans l'espace intermembranaire, une protéase clive la séquence signal d'origine mitochondriale, s'associe à la molécule importée pour former le cytochrome c.

L'Hsp60/Hsp10 trie aussi certaines protéines destinées à la membrane interne et à l'espace intermembranaire.

Les mitochondries se divisent et croissent par apport de 99 % de leurs protéines. Leur « machinerie » de synthèse (ADNmt, ARN, mitoribosomes) ne leur permet de synthétiser qu'une douzaine de protéines. Le génotype mitochondrial joue un rôle dans l'activité respiratoire de la cellule. Les mitochondries importent des protéines par deux voies différentes : la voie MSF et la voie ctHsp70.

Phylogénèse des mitochondries

Les cellules pré-eucaryotes, c'est-à-dire les cellules qui ont précédé celles qui constituent les Métazoaires, étaient des cellules anaérobies. Elles auraient, il y a environ un milliard et demi d'années, capturé une bactérie qui est à l'origine des mitochondries actuelles. Cette bactérie devenue mitochondrie vit en symbiose avec la cellule : cette théorie porte le nom de théorie endosymbiotique.

Deux bactéries actuelles présentent des caractères biochimiques et fonctionnels voisins des mitochondries : il s'agit de *Rhodospseudomonas spheroides* et de *Paracoccus denitrificans*. En effet, ces bactéries, tout comme les mitochondries, possèdent :

- la même chaîne respiratoire qui, chez les bactéries, est localisée sur la face interne de la membrane plasmique;
- une composition membranaire très voisine;
- une sensibilité identique aux antibiotiques : le chloramphénicol, la kanamycine, la rifampicine bloquent la synthèse des protéines, aussi bien chez ces bactéries que chez les mitochondries;
- l'ARNt initiateur qui porte la méthionine, aussi bien chez les bactéries que chez la mitochondrie;
- une sensibilité identique aux substances toxiques comme l'amytal, la roténone, l'atractyloside.

Cette théorie n'explique cependant pas un certain nombre de différences entre les mitochondries et les bactéries; en effet :

- les mitoribosomes sont différents des ribosomes bactériens;
- la polymérase bactérienne renferme six chaînes protéiques alors que la polymérase mitochondriale n'en possède qu'une seule;
- les gènes mitochondriaux sont localisés non seulement dans l'ADN mitochondrial, mais également dans l'ADN nucléaire.

Les mitochondries sont vraisemblablement d'origine bactérienne. Elles ont pénétré dans le cytoplasme des cellules pré-eucaryotes vivant en anaérobiose. Une symbiose entre ces deux cellules a permis cette évolution remarquable qui est le propre des cellules eucaryotes.

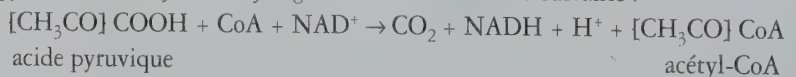
Les mitochondries jouent un rôle fondamental dans l'apoptose. Elles possèdent des facteurs apoptotiques (AIF, cytochrome c et caspases) et un facteur anti-apoptotique bcl-2.

Les sources d'énergie de la mitochondrie

Des molécules d'origine cytosolique, comme le *pyruvate*, les *squelettes carbonés des aminoacides*, les *acides gras*, les *glucides*, sont nécessaires à la phosphorylation oxydative qui aboutit à la formation de l'ATP.

Le transfert du pyruvate dans la mitochondrie

La majorité du pyruvate formé pénètre dans la mitochondrie. Il traverse facilement la membrane externe. Les symports pyruvate/protons H^+ lui permettent de traverser la membrane interne pour gagner la matrice mitochondriale. Là, il subit une décarboxylation oxydative, qui le transforme en un *résidu acétyle* (CH_3CO) grâce à l'intervention du coenzyme A associé à un complexe de 40 nm de diamètre, la *pyruvate décarboxylase-déshydrogénase*. La réaction est la suivante :



Le pyruvate qui reste dans le cytosol peut être transformé en acide lactique (par exemple dans les cellules musculaires au cours d'un exercice violent fonctionnant en anaérobiose).

Les mitochondries peuvent utiliser le squelette carboné des aminoacides

Les acides aminés en excès dans la ration alimentaire ne constituent pas des réserves. Ils servent d'aliments énergétiques après élimination de la fonction amine (*désamination*) et dégradation complète de la chaîne carbonée.

■ La désamination

La fonction NH_2 est transférée, grâce à l'intervention de transaminases (aminotransférases) :

– sur l'acide pyruvique : il se forme ainsi de l'alanine qui cède sa fonction amine à l'acide α -cétoglutarique ;

– sur un intermédiaire du cycle de Krebs, généralement l'acide α -cétoglutarique.

Ces transferts produisent des molécules d'acides glutamiques et d'acides α -cétoniques, dont la nature est fonction des aminoacides désaminés : par exemple, l'acide α -céto- δ -guanidovalérique provient de la transamination de l'arginine, l'acide α -céto-isovalérique de la transamination de la valine... La transaminase existe aussi bien dans le cytosol que dans la matrice.

Une glutamate déshydrogénase désamine l'acide glutamique. Cette réaction, qui fait intervenir le NAD^+ , est une *désamination oxydative* aboutissant à la formation de NH_4^+ qui est converti en urée.

■ La dégradation de la chaîne carbonée

L'ensemble des acides aminés, soit 20, aboutit, après désamination, à la formation de 7 molécules donnant accès à 7 points d'entrée du cycle de Krebs qui sont :

– le *pyruvate* pour le squelette carboné provenant de l'alanine, la cystéine, le glycocol, la sérine, la thréonine ;

– l'*acétyl-CoA* pour le squelette carboné provenant de l'isoleucine, la leucine, le tryptophane ;

– l'*acétoacétyl-CoA* pour le squelette carboné provenant de la phénylalanine, la tyrosine, la leucine, la lysine, le tryptophane ;

– l'*oxaloacétate* pour le squelette carboné provenant de l'aspartate, l'asparagine ;

– le *fumarate* pour le squelette carboné provenant de la tyrosine et la phénylalanine ;

– le *succinyl-CoA* pour le squelette carboné provenant de l'isoleucine, la méthionine et la valine ;

– l'*acide α -cétoglutarique* pour le squelette carboné provenant de l'arginine, l'histidine, la glutamine et la proline.

Ainsi, le *squelette carboné des acides aminés* est transformé soit en acétyl-coenzyme A, soit en acétoacétyl-CoA, soit en pyruvate ou en l'un des intermédiaires du cycle de Krebs (qui se déroule dans la mitochondrie). Les *fonctions amines* des acides aminés en excès sont transformées en urée.

Les glucides subissent la glycolyse

La glycolyse est la dégradation du glucose en pyruvate dans les cellules vivantes, pyruvate qui pénètre dans la mitochondrie et sera utilisé par le cycle de Krebs. Les électrons libérés par la glycolyse sont cédés au NAD^+ cytosolique. Ces électrons du NADH cytosolique seront utilisés par la chaîne respiratoire, bien que la membrane interne soit imperméable au NADH cytosolique grâce aux navettes malate/aspar-

tate et glycérol/phosphate. En dehors de la mitochondrie, le pyruvate peut être converti, en milieu anaérobie, en acide lactique (par exemple dans le muscle) ou en alcool.

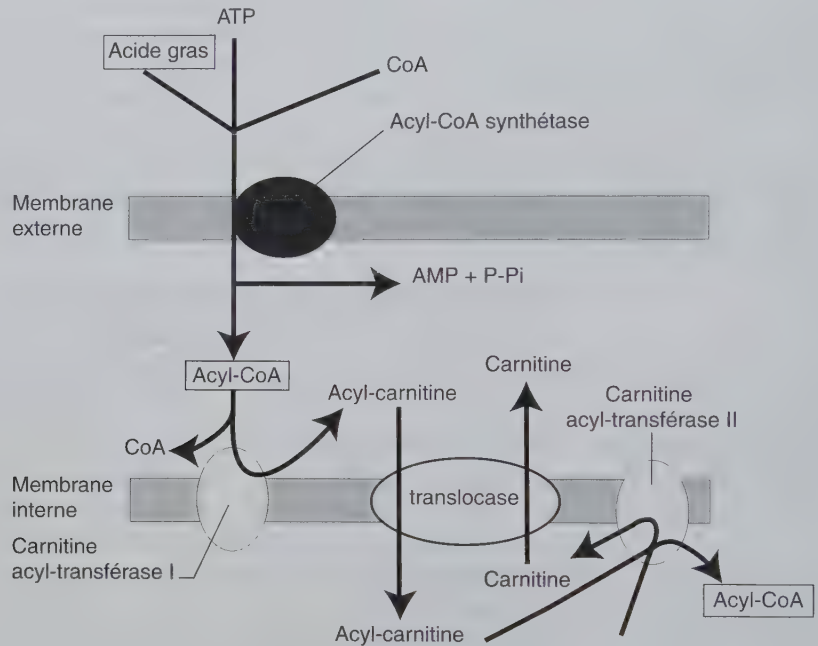
L'importation des acides gras

Les lipides, et en particulier les triacylglycérols, constituent des réservoirs d'énergie hyperconcentrée. Dans le tissu adipeux, sous l'influence des lipases, les triacylglycérols se transforment en acide gras et en glycérol. L'activité des lipases est augmentée par l'adrénaline, la noradrénaline, le glucagon et l'hormone adrénocorticotrope. Le glycérol est converti en pyruvate ou en glucose dans le foie.

Les acides gras sont activés avant de pénétrer dans la matrice mitochondriale (fig. 6.24).

Fig 6.24

Rôle de la carnitine dans l'importation des acides gras (voir commentaires dans le texte).



Cette activation se déroule en deux étapes :

– l'acide gras réagit avec l'ATP pour former un acyl-adenylate :



– l'acyl-adenylate R-CO-AMP est ensuite transformé en acyl-coenzyme A et en AMP :



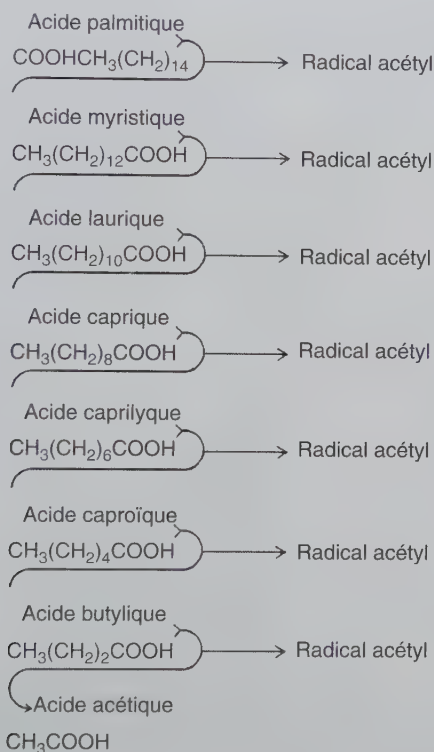
Cette activation se déroule dans la membrane mitochondriale externe. Les molécules d'acyl-CoA à longue chaîne traversent difficilement la membrane mitochondriale interne. Elles sont transportées après conjugaison à la carnitine, un composé formé à partir de la lysine. Il se forme ainsi une acylcarnitine. Une translocase permet à l'acylcarnitine de traverser la membrane interne. Sur la face matricielle de la membrane interne, le groupe acyle est rendu au CoA : cette réaction est catalysée par la carnitine acyltransférase II. La carnitine retourne à la face cytosolique par la translocase, tandis qu'une molécule d'acylcarnitine pénètre dans la matrice mitochondriale. Les acides gras, au cours d'une β -oxydation, donnent naissance à des résidus acétyle (voir ci-dessous « Hélice de Lypen »).

Les sources d'énergie nécessaires au fonctionnement des mitochondries proviennent du radical acétyl. La dégradation des acides gras intramitochondriale aboutit à la formation de radicaux acétyl, celle des glucides et des protéines à la formation de pyruvate. Le pyruvate traverse la membrane interne par un symport pyruvate/protons H^+ . Le pyruvate fournit des radicaux acétyl au cycle de Krebs, radicaux qui se combinent à l'acide oxalo-acétique pour former l'acide citrique, première étape de ce cycle. Des chaînes carbonées désaminées des acides aminés sont utilisées par le cycle de Krebs dans lequel elles pénètrent par sept points d'entrée différents.

Oxydation des acides gras : l'hélice de Lynen

L'acyl-CoA reste dans la matrice et subit alors la β -oxydation, qui regroupe une succession de réactions enzymatiques (fig. 6.25) :

Fig 6.25
 β -oxydation des acides gras
ou hélice de Lynen.



- déshydrogénation sous l'action d'une acyl-CoA-déshydrogénase, qui forme une double liaison α - β ;
 - formation d'un dérivé L- β -hydroxylé, par action de l'énoyl-CoA hydratase (crotonase);
 - formation d'un dérivé β -cétonique, par action de la L- β -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase;
 - détachement d'un fragment dicarboné sous forme d'acétyl-CoA par la β -cétotliolase.
- L'oxydation se déroule ainsi par étapes successives; à chaque étape, l'acyl-CoA perd deux atomes de carbone (hélice de Lynen).

Chaque tour de spire de l'hélice de la β -oxydation permet la formation de 5 ATP (par maillon de 2 carbones détachés de la molécule d'acide gras). L'acétyl-CoA est ensuite oxydé par le cycle de Krebs avec formation de 12 ATP. L'oxydation complète d'un maillon à 2 atomes de carbone fournit donc 17 ATP. Ainsi l'oxydation complète de l'acide stéarique libère 147 ATP.

La β -oxydation des acides gras, dans les mitochondries, intéressent des acides gras dont les chaînes sont plus courtes que celles qui sont dégradés dans les peroxy-somes. Cette dégradation aboutit à la formation de radicaux acétyle qui alimentent le cycle de Krebs.

La β -oxydation des acides gras (qui est aussi une des fonctions des peroxy-somes) libère des radicaux acétyle qui alimentent le cycle de Krebs en se combinant à l'acide oxaloacétique pour former l'acide citrique. L'oxydation d'un radical acétyl-CoA permet la formation de 17 molécules d'ATP.

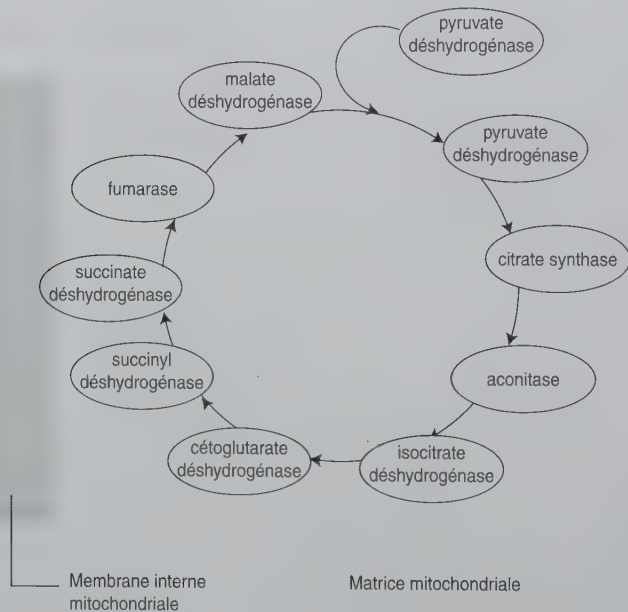
Le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs est également appelé cycle citrique, cycle tricarboxylique. Le cycle de Krebs est situé à la fois sur la voie anabolique et la voie catabolique. Il est amphibolique.

Toutes les étapes de ce cycle se déroulent dans la matrice, sauf celle concernant le FAD (FAD : flavine adénine dinucléotide) qui est lié à la succino-déshydrogénase, une protéine de la membrane interne (fig. 6.26).

Fig 6.26

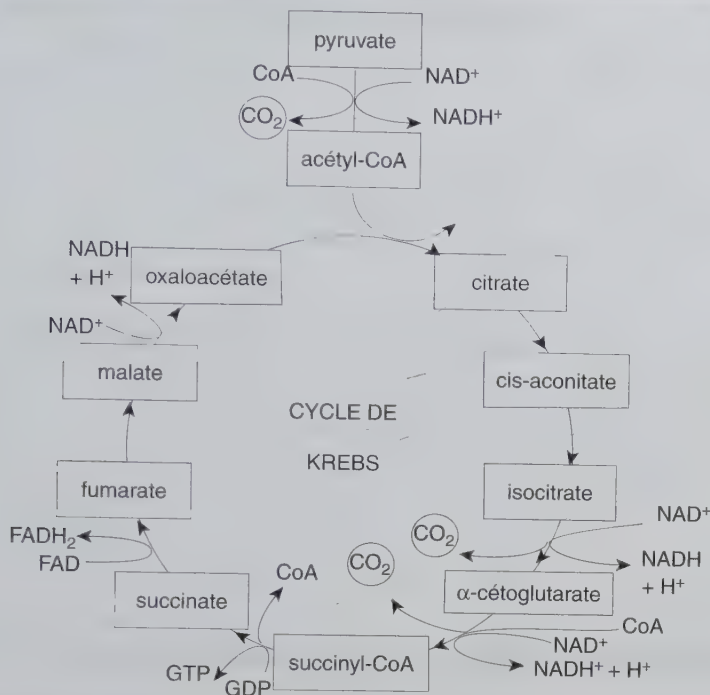
Le cycle de Krebs est lié à la membrane interne mitochondriale par la succino-déshydrogénase qui est intramembranaire.



Le cycle de Krebs (fig. 6.27) transforme les radicaux acétyle en CO_2 , atomes d'hydrogène et électrons. Ce cycle se déroule dans la chambre interne, suivant une séquence organisée de réactions enzymatiques, avec l'acide oxaloacétique comme substrat initial et terminal. Le produit final et commun du catabolisme des nutriments (glucides, protides, lipides) est l'acide acétique, dont le radical acétyle se

Fig 6.27

Les différentes étapes du cycle de Krebs.



combine avec le CoA. L'acétyl-CoA cède le radical acétyle CH_3CO à l'acide oxaloacétique : ainsi commence une succession de réactions d'oxydation, qui transforment chaque radical acétyle en deux molécules de CO_2 , 8 atomes d'hydrogène et 8 électrons.

Les atomes d'hydrogène et les électrons libérés à chaque cycle réduisent NAD^+ matriciel (nicotinamide adénine dinucléotide) et FAD^{++} . Ces coenzymes agissent comme agents de transfert d'hydrogène et d'électrons en vertu d'une oxydation et d'une réduction réversible : $\text{NAD} \rightarrow \text{NADH}$, $\text{FADH} \rightarrow \text{FADH}_2$. Dans le cytoplasme, le NAD cytosolique est réduit en NADH par la glycolyse.

Le rendement du cycle de Krebs est important. Par exemple, une molécule de glucose permet l'obtention de 38 molécules d'ATP, alors que la glycolyse, en anaérobiose, n'en fournit que 2.

Le cycle de Krebs, bien que se déroulant complètement dans la matrice, est lié à la membrane interne par la succino-déshydrogénase. Chaque cycle libère deux molécules de dioxyde de carbone, 8 protons H^+ et 8 électrons. Les électrons sont cédés au FAD et au NAD^+ mitochondrial.

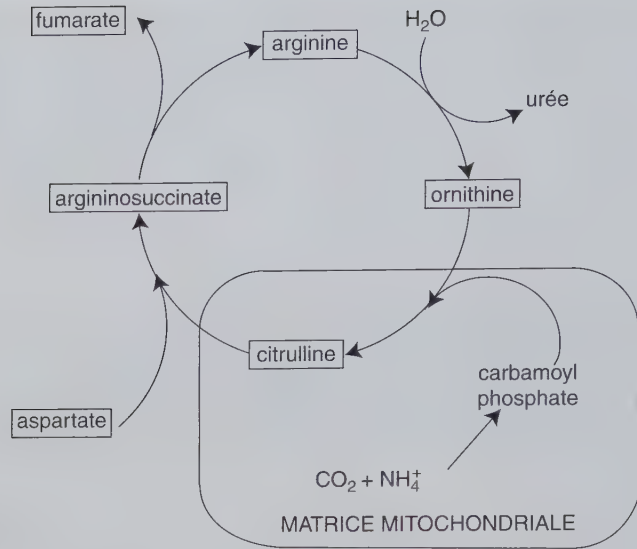
Le cycle de l'urée

Les acides aminés non utilisés dans la synthèse de protéines ne sont pas mis en réserve. Ils ne peuvent pas être excrétés. Ils sont utilisés pour fournir de l'énergie. La fonction amine donne naissance à NH_4^+ qui est converti en urée au cours d'un cycle dont une partie se déroule dans la mitochondrie (fig. 6.28).

NH_4^+ en présence d'ATP, de CO_2 et d' H_2O et d'une carbamoyl phosphatase donne naissance à un carbamoyl phosphate.

Fig 6.28

Une partie du cycle de l'urée se déroule dans la mitochondrie.



Mitochondrie et respiration cellulaire

La chaîne respiratoire ou unité d'oxydation

C'est un ensemble ordonné d'enzymes (fig. 6.29), constitué par :

- la NADH réductase qui constitue le complexe I;
- la succinate-Q réductase ou complexe II;
- la cytochrome c réductase-cytochrome b-c₁ ou complexe III;
- la cytochrome c oxydase ou complexe IV.

Fig 6.29

Représentation schématique de la chaîne respiratoire et de l'ATP synthase (complexe F₀-F₁).

La membrane interne de la mitochondrie contient les 4 complexes de la chaîne respiratoire.

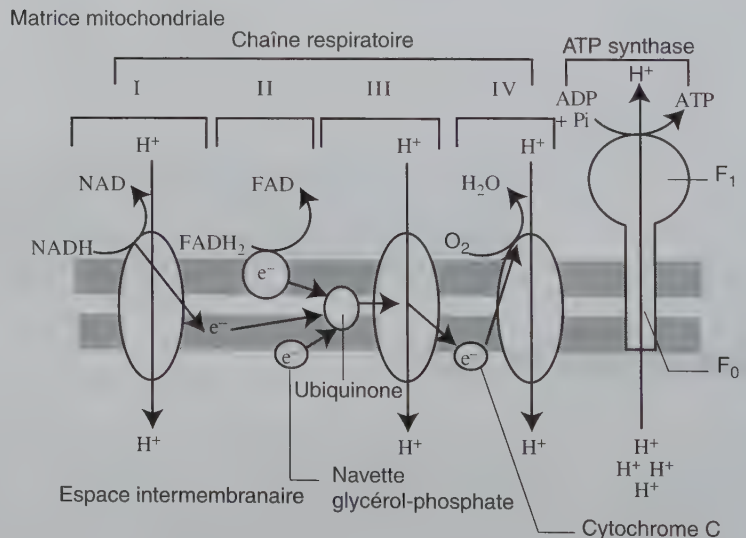
I. Complexe NADH-dés-hydrogénase.

II. Complexe succino-dés-hydrogénase.

III. Complexe b-c₁.

IV. Complexe cytochrome-déshydrogénase.

Les protons H⁺ sont transportés vers l'espace intermembranaire par les complexes I, III et IV. La différence de concentrations de ces ions (le gradient de protons) est utilisée pour synthétiser l'ATP à partir de l'ADP et du phosphate inorganique.



La chaîne respiratoire prépare la phosphorylation

Les électrons libérés par le cycle de Krebs sont cédés au NAD ou au FAD qui sont réduits en NADH et FADH₂.

NADH et FADH₂ cèdent ensuite leurs électrons aux quatre complexes de la chaîne respiratoire, contenus dans la membrane interne mitochondriale. Le transport des électrons libère l'énergie nécessaire à l'exportation des protons H⁺ dans la chambre externe.

Le transport des électrons

Le transport d'électrons se fait à travers ces quatre complexes protéiques (fig. 6.30). Il provoque le pompage de protons hors de la matrice. Les protons s'accumulent dans l'espace intermembranaire. Il se crée donc une force proton-motrice transmembranaire, constituée par un potentiel transmembranaire et par un gradient de pH.

Le *complexe I* catalyse le transfert d'une paire d'électrons de la NADH à l'ubiquinone.

Le *complexe II* permet la livraison d'électrons de faible énergie du succinate au FAD, puis à l'ubiquinone.

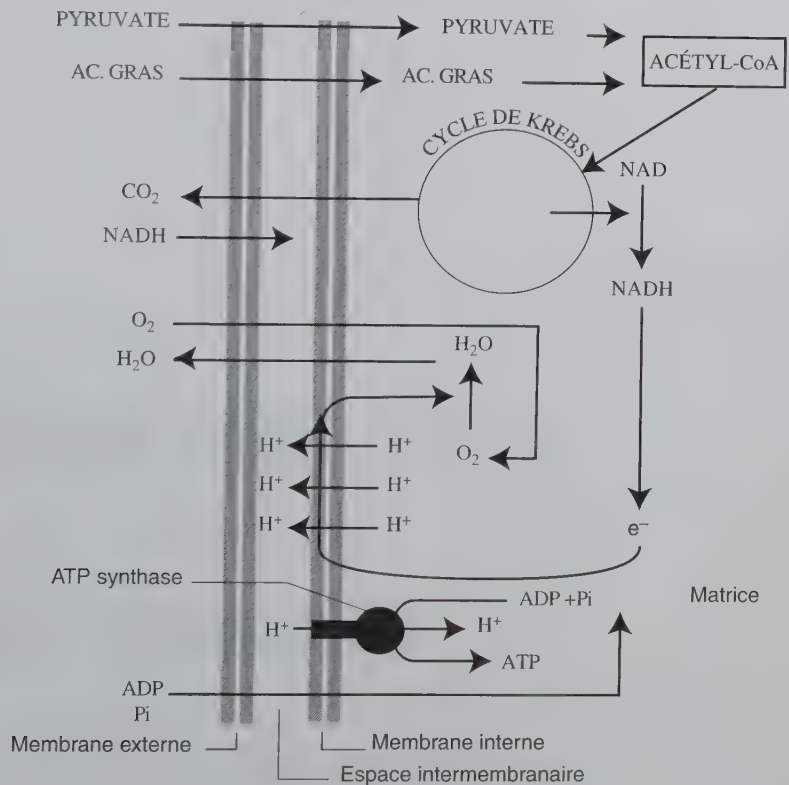
Le *complexe III* catalyse le transport d'électrons de l'ubiquinone réduite (UQH) au cytochrome c.

Le *complexe IV* constitue l'étape finale du transport d'électrons dans la chaîne d'oxydation.

Fig 6.30

Le NADH matriciel.

Le NAD est réduit par les électrons au cours du cycle de Krebs. Les radicaux acétyl proviennent de la β -oxydation des acides gras (hélice de Lynen) et du pyruvate, produit de dégradation des protéines et des sucres.



L'origine des électrons

■ Des électrons proviennent du NADH matriciel

Les électrons libérés par le cycle de Krebs réduisent le NAD^+ contenu dans la matrice en NADH. Les électrons du NADH sont ensuite transmis au complexe I, puis au complexe III par l'ubiquinone. Les électrons du complexe III sont transportés au complexe IV par le cytochrome c. L'oxygène moléculaire est l'accepteur final : il se forme de l'eau.

■ Des électrons proviennent du NADH cytosolique

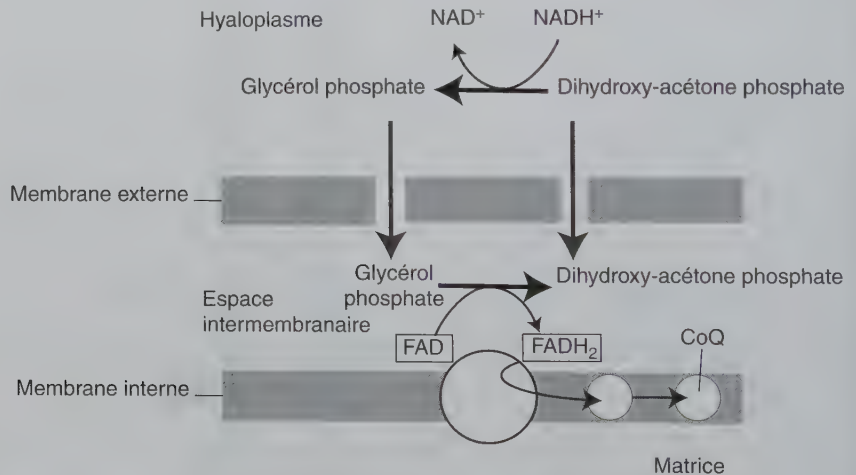
Le NADH cytosolique ne peut pas pénétrer dans la matrice mitochondriale. Le NAD^+ cytosolique est réduit en NADH par les électrons libérés par le catabolisme qui se déroule dans le cytosol. Le NADH cytosolique traverse la membrane externe par une *porine*. Cependant, bien qu'il ne puisse pas traverser la membrane interne, il cède ses électrons au NAD^+ matriciel grâce au fonctionnement de deux navettes, la *navette malate-aspartate* et la *navette glycérol-phosphate*.

La navette glycérol-phosphate/dihydroxyacétone-phosphate

La *navette glycérol-phosphate/dihydroxyacétone-phosphate* (fig. 6.31 et 6.32) échange un NADH contre un FADH_2 entre les deux compartiments. Le dihydroxyacétone-phosphate est une molécule cytosolique. Il est réduit par voie enzymatique par le NADH en glycérol-phosphate. Le glycérol-phosphate pénètre dans l'espace intermembranaire. Une glycérol-3-phosphate déshydrogénase est située dans la membrane interne et son site actif émerge dans l'espace intermembranaire : cette enzyme est une protéine à coenzyme d'oxydo-réduction à FAD. En oxydant le glycérol-phosphate en dihydroxyacétone-phosphate, elle réduit FAD en FADH_2 . FADH_2 cède ses électrons à l'ubiquinone (coenzyme Q). L'ubiquinone cède ses électrons au complexe III. La dihydroxyacétone-phosphate traverse la membrane externe et regagne le cytosol.

Fig 6.31

Navette glycérol-phosphate/dihydroxyacétone-phosphate (voir explication dans le texte).

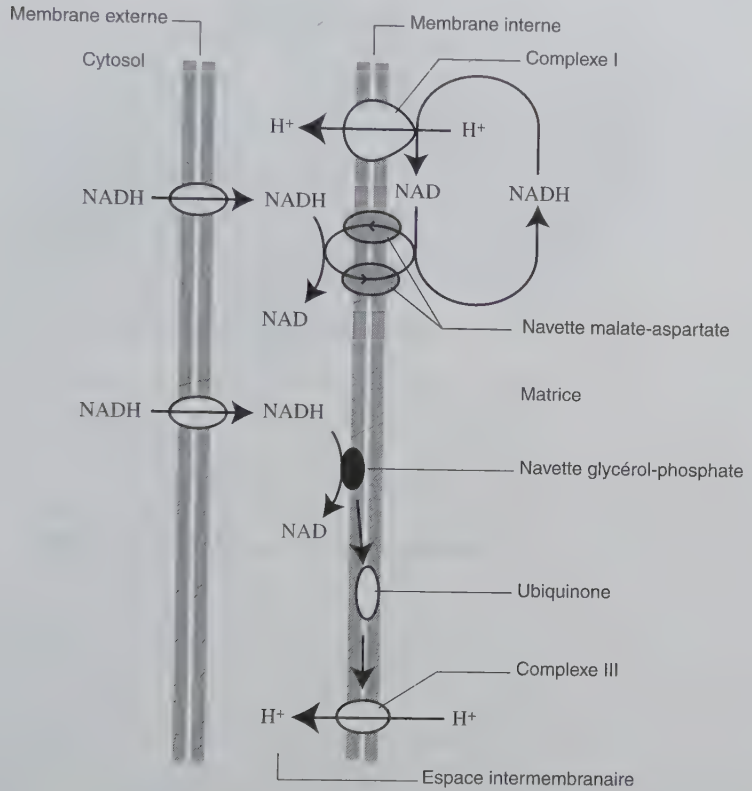


La navette malate-aspartate

Elle fonctionne dans les mitochondries du foie, du rein et du muscle cardiaque; elle permet le transport des électrons, à travers la membrane interne, en direction

de la matrice mitochondriale si le rapport NADH/NAD^+ est plus élevé dans le cytosol que dans la matrice. Cette navette est constituée par deux antiports, l'antiport malate/ α -cétoglutarate et l'antiport aspartate/glutamate (fig. 6.32), et quatre enzymes. Les électrons du NADH cytosolique sont transférés à l'oxaloacétate : il se forme ainsi du malate. Le malate traverse la membrane mitochondriale interne et gagne la matrice où il est réoxydé par NAD^+ . Le NADH formé cède ses électrons au complexe I. Une transamination de l'oxaloacétate aboutit à la formation d'aspartate. L'aspartate est transporté vers la face cytosolique.

Fig 6.32
Les navettes malate-aspartate et glycérol-phosphate.



■ Le FAD cède ses électrons au complexe II

Les deux électrons libérés par chaque cycle de Krebs réduisent FAD en FADH_2 . Les électrons sont transportés au complexe II par l'ubiquinone, et du complexe III au complexe IV par le cytochrome c. L'accepteur final étant l'oxygène moléculaire, il se forme de l'eau.

Formation du gradient de protons

La quantité d'énergie libérée, lors de chacune des combinaisons des électrons avec les complexes, est utilisée pour l'exportation des protons H^+ dans l'espace intermembranaire. Seuls les complexes I, III, IV interviennent dans cette exportation.

Le transport des protons dans l'espace intermembranaire détermine un *gradient de concentration des protons*. La face externe de la membrane interne devient positive, tandis que la face matricielle devient négative.

Rôle du gradient de protons

■ Dans la phosphorylation

Ce gradient de protons est responsable du fonctionnement de l'ATP synthase et donc de la synthèse de l'ATP à partir de l'ADP. La différence de concentration des protons, entre la face externe et la face interne de la membrane, provoque un flux de protons qui traverse l'ATP-synthase en direction de la matrice (voir les paragraphes « La phosphorylation oxydative de l'ATP » et « L'ATPase mitochondriale est un nanomoteur rotatif à protons »).

■ Dans le transport des ions

Le transport des ions sodium, calcium, potassium s'effectue par des canaux ioniques qui ont besoin de l'énergie libérée par le flux de protons en direction de la matrice.

■ Dans le transport des métabolites

Le transport des métabolites nécessite également l'énergie libérée par le flux de protons en direction de la matrice.

■ La réduction ou la disparition du gradient de protons

Les transports des ions ou des métabolites, à travers la membrane interne, utilisent d'assez grandes quantités de protons : ils provoquent une baisse de la concentration de protons sur la face externe de la membrane interne et donc une diminution parfois très sensible de la synthèse d'ATP.

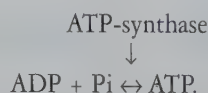
La phosphorylation oxydative de l'ADP

C'est le mécanisme par lequel l'ATP est synthétisé lorsque les électrons sont transférés du NADH ou du FADH₂ vers O₂ par une série d'électrons. Cette synthèse d'ATP est le résultat de la fixation d'un radical phosphoryle sur l'ADP. Le gradient de protons couple la *phosphorylation* à l'*oxydation*. Ce couplage est désigné par les termes de phosphorylation oxydative.

La phosphorylation oxydative aboutit à la formation d'une molécule très riche en *énergie échangeable*, l'adénosine triphosphate (ATP), une molécule de petite dimension qui diffuse facilement. Elle libère sans problème l'énergie stockée par la liaison P~P car cette liaison est une liaison faible, comparable aux liaisons covalentes classiques.

L'ATPase mitochondriale est un nanomoteur rotatif à protons

Elle appartient aux pompes de type F. La fonction de cette famille consiste à synthétiser de l'ATP à partir de l'ADP et de Pi, grâce à un gradient de protons préexistant (fig. 6.33) :



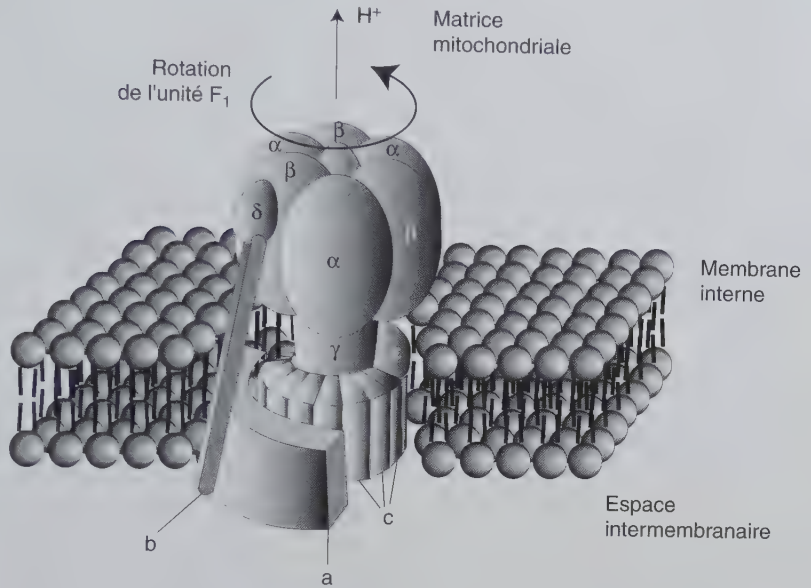
La structure de la partie F₀ est, actuellement, encore hypothétique : il est généralement admis qu'elle est constituée par des sous-unités « c » disposées en une couronne de 9 à 12 monomères et formant une sorte de rotor.

La structure de la partie F₁ est mieux connue. Elle comprend 3 sous-unités α, 3 sous-unités β disposées en alternance, regroupées en une sphère, et les sous-unités δ, ε, γ. La

plus grande partie de la sous-unité γ est située dans la partie sphérique. Les sites catalytiques sont situés dans les sous-unités β .

Fig 6.33

L'ATP synthase est un nanomoteur rotatif à protons. Le flux d'électrons à travers la sous-unité γ en direction de la matrice mitochondriale provoque une rotation de F_1 . La rotation modifie la configuration des sites catalytiques portés par les sous-unités β et provoque la phosphorylation de l'ADP.



La différence de potentiel entre la face externe de la membrane interne et sa face interne provoque un flux de protons qui traverse l'ATP-synthase en direction de la matrice.

Le flux de protons active l'ATP-synthase qui catalyse la réaction de phosphorylation de l'ATP.

Ce flux développe une force photomotrice (énergie électrochimique) : il est guidé par la sous-unité γ en direction du rotor. Le rotor tourne et fait tourner la sous-unité sphérique de F_1 . La force électrochimique est ainsi transformée en énergie mécanique (rotation) qui, à son tour, est convertie en énergie chimique. En effet, la rotation de l'unité sphérique de F_1 modifie la configuration des sites catalytiques ainsi que leur affinité pour les substrats : la phosphorylation de l'ADP en ATP dépendrait de la déformation des sites catalytiques.

En effet, les 3 sous-unités β , à un moment donné, ont une forme différente, en accord avec une activité fonctionnelle différente. Elles peuvent avoir :

- la forme O (ouverte);
- la forme L qui possède une faible affinité pour les substrats;
- la forme T qui, au contraire, se lie fortement aux substrats.

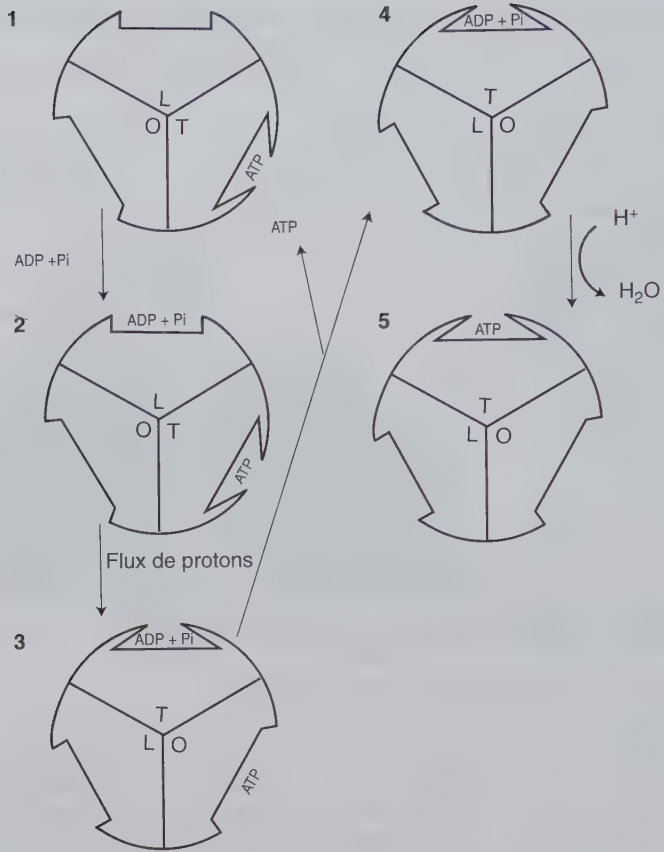
Supposons que la forme T soit liée fortement à l'ATP (1 de la fig. 6.34) : le site L est libre, il peut recevoir ADP et P_i (2). Si le flux d'électrons passe à ce moment-là, il transforme le site L en un site T, le site T en un site O et le site O en un site L (3). La transformation du site O en site L libère l'ATP. Puis, dans le site T (4), l'ADP et le P_i se combinent pour former une molécule d'ATP (5).

Le nombre de protons transportés à chaque tour du rotor est égal au nombre de sous-unités c, soit 9 à 12. À chaque tour, 3 molécules d'ATP sont synthétisées.

L'ATP synthase possède aussi, chez les bactéries anaérobies facultatives, une action inverse. Lorsque le flux de protons à travers le complexe F_0 - F_1 se produit dans le sens

Fig 6.33

Modification de la conformation des sites catalytiques de la sous-unité F_1 au cours du passage du flux d'électron.



matrice → chambre externe, l'ATP synthase déphosphoryle l'ATP en ADP + Pi. Ce mécanisme n'existe pas chez les Métazoaires et en particulier chez l'Homme.

Une protéine inhibitrice de l'ATP synthase, IF_1 , permet de prévenir l'hydrolyse de l'ATP lorsque le gradient électrochimique transmembranaire de protons baisse. IF_1 reconnaît une séquence spécifique de l'ATP synthase, se lie à cette molécule et bloque son activité.

Devenir de l'ATP, de l'eau et du dioxyde de carbone

L'adénosine triphosphate gagne le cytoplasme après avoir traversé la membrane interne (par l'intermédiaire des symports ADP/ATP), l'espace interne membranaire et la membrane externe. Dans le cytosol, il se dirige vers les régions de la cellule où il sera utilisé. Il semblerait, actuellement, qu'on ignore le mécanisme de ce déplacement. Quant aux molécules de dioxyde de carbone et d'eau, elles traversent passivement l'enveloppe mitochondriale pour gagner le cytosol.

Le transport des électrons par la chaîne respiratoire libère une énergie qui est utilisée pour créer un gradient de protons. Seuls les complexes I, III et IV interviennent dans le transport et l'accumulation des protons dans l'espace intermembranaire. Le flux protonique, qui traverse la sous-unité γ de l'ATPase, agit sur l'unité F_1 qui peut alors transformer l'énergie proton-motrice en énergie mécanique puis chimique, permettant ainsi la phosphorylation de l'ADP.

Fonctions de synthèse des mitochondries

Le début de la synthèse des hormones stéroïdes

Les cellules glandulaires endocrines, spécialisées dans la synthèse des hormones stéroïdes (œstrogènes, progestérone, testostérone, corticostérone...), possèdent des mitochondries qui interviennent dans le début de cette synthèse.

Les molécules de cholestérol pénètrent dans la matrice mitochondriale, par l'intermédiaire des complexes transporteurs situés au niveau des accolements transitoires des membranes interne et externe (voir le paragraphe « Importation des protéines d'origine cytosolique »).

Deux molécules, l'adrénodoxine et le cytochrome P450, interviennent au début de cette synthèse pour hydroxyler le cholestérol en prégnénolone. L'adrénodoxine est une protéine sphérique non héminique, située dans la membrane interne. Les réactions d'hydroxylation nécessitent l'activation de l'oxygène. Cette activation est réalisée par la protéine P450 qui est un composant terminal d'une chaîne de transport des électrons. Le NADPH transfère ses électrons de haute énergie à une flavoprotéine de cette chaîne. Les électrons sont ensuite dirigés sur l'adrénodoxine. L'adrénodoxine transfère un électron au cytochrome P450 qui passe de la forme ferrique à la forme ferreuse. La liaison de l'oxygène à l'hème est suivie par l'acceptation d'un second électron de l'adrénodoxine. À ce point, l'atome de fer est dans l'état +3 et l'oxygène lié dans l'état -2. Un des atomes de l'oxygène lié est ensuite réduit en eau : un atome d'hydrogène est éliminé du substrat RH pour former R[•]. Le radical libre transitoire acquiert l'autre oxygène lié pour former R-OH, qui est le produit hydroxylé. C'est ainsi que le cholestérol est hydroxylé en *prégnénolone*.

L'origine des phospholipides des membranes mitochondriales

Les lipides des mitochondries proviennent du réticulum endoplasmique lisse.

La synthèse de la phosphatidylsérine se déroule dans la partie cytosolique de la membrane du REL. Une molécule de sérine se fixe sur un phosphatidyle : la réaction est catalysée par la phosphatidylsérine synthase. La phosphatidylsérine est ensuite transloquée, depuis son lieu de synthèse, par une fraction membranaire appelée MAM (mitochondrial-associated membrane; membrane associée à la mitochondrie) qui ressemble à une membrane du réticulum endoplasmique. La phosphatidylcholine, également synthétisée dans le réticulum endoplasmique lisse, est importée de la même manière.

Les mitochondries produisent des précurseurs pour des biosynthèses

L'homme n'est capable de synthétiser que 10 acides aminés (acides aminés non essentiels) sur les 20 acides aminés de base : ces acides aminés non essentiels sont l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'aspartate, la cystéine, le glutamate, la glycine, la proline, la sérine, la tyrosine.

Des intermédiaires du cycle de Krebs, l'acide malique, l'acide oxaloacétique, l'acide α -cétoglutarique sont utilisés : par exemple, l'asparagine et la thréonine dérivent de l'acide oxaloacétique, la glutamine, la proline et l'arginine de l'acide α -cétoglutarique. Mais la synthèse de ces acides aminés ne fait que débiter dans la mitochondrie : elle se poursuit dans le cytosol.

Les mitochondries interviennent dans la première étape de la synthèse des stéroïdes en produisant de la prégnénolone. Elles utilisent des phospholipides (phosphatidylsérine, phosphatidylcholine) du réticulum endoplasmique lisse pour participer à la constitution de la membrane externe. Elles sont le siège du début de la synthèse de divers acides aminés non essentiels (asparagine, thréonine, glutamine, proline, arginine).

Rôle des mitochondries dans la thermogénèse

Les *protéines UCP* (uncoupling protein; protéine de découplage) interviennent également dans la diminution du gradient de protons. Elles constituent une famille de transporteurs qui découplent l'unité d'oxydation de la synthèse de l'ATP. Ces protéines sont des molécules-clés dans la thermogénèse induite par le froid ou l'alimentation.

Lorsque les protéines UCP sont activées, le gradient de protons disparaît. Cette disparition aboutit à l'arrêt de la synthèse de l'ATP et à la production de chaleur. Par exemple, dans la graisse brune, UCP-1 détourne l'énergie destinée à la synthèse d'ATP vers une thermogénèse en catalysant une fuite réglée de protons à travers la membrane interne.

À la fin de la grossesse, le nouveau-né possède un tissu adipeux brun qui provient de la différenciation de cellules mésenchymateuses. Ce tissu adipeux est localisé au niveau du cou et autour des reins. Il existe également chez les animaux hibernants. C'est un tissu de réserve. Il synthétise de grandes quantités de protéines de découplage UCP-1. À la naissance, une rapide activation de UCP-1 produit une augmentation importante de la production de chaleur par le nouveau-né. La graisse brune intervient non seulement dans la production de chaleur, mais également dans l'adaptation de la thermogénèse de l'organisme à la température du milieu ambiant. La *thermogénine*, une protéine GDP-dépendante de 32 kDa, constitue des pores dans la membrane interne mitochondriale. Ces pores assurent le passage des protons de l'espace intermembranaire en direction de la matrice. La synthèse d'ATP n'est donc plus possible, puisque les protons ne peuvent plus s'accumuler dans la chambre externe : l'anabolisme est interrompu. Par contre, l'énergie qui provient du catabolisme se transforme en énergie calorique.

Les mitochondries des tissus adipeux et du muscle strié contiennent des protéines de découplage UCP-2 et 3.

Des protéines de découplage, en provoquant la fuite permanente des protons vers la matrice, interrompent la phosphorylation : le transport d'électrons produit alors de la chaleur. C'est ainsi que les mitochondries de la graisse brune interviennent dans la thermogénèse.

Régulation du calcium cytosolique

Les mitochondries sont, avec le réticulum endoplasmique, le principal réservoir de calcium. Cependant, le réticulum endoplasmique en contient moins. Les mitochondries jouent un rôle crucial dans la détermination du taux de calcium cytosolique. La mitochondrie est dotée de mécanismes de transport du calcium, localisés dans la membrane interne. Il s'agit des canaux ioniques, des échangeurs $\text{Na}^{++}/\text{Ca}^{++}$ et des PTP (permeability transition pore; pore de transition de perméabilité) dénommés mégacanaux par un certain nombre d'auteurs.

La mitochondrie est capable de capturer le calcium à partir du cytosol, de le stocker dans sa matrice, puis de le libérer dans le cytosol.

Le calcium libéré a une activité régulatrice locale ou globale, c'est-à-dire pour l'ensemble de la cellule. Il contrôle de nombreux mécanismes cellulaires : la transcription, le fonctionnement d'enzymes comme les phosphatases, les kinases.

Les PTP sont habituellement fermés. L'ouverture des pores est déterminée par le taux de calcium contenu dans la matrice. Lorsque celui-ci est trop élevé, les PTP s'ouvrent et libèrent d'importantes quantités de calcium qui peuvent provoquer l'apoptose. Les cyclosporines, une famille de polypeptides extraites de *Trichoderma polysporum*, bloquent l'ouverture de ces canaux.

Le réticulum endoplasmique fournit à la mitochondrie une partie de son calcium, puisque l'augmentation du calcium mitochondrial correspond à une baisse du contenu en calcium des citernes du réticulum endoplasmique voisines de la mitochondrie.

Les mitochondries régulent des fonctions cellulaires en contrôlant le taux de calcium cytosolique. La mitochondrie est le principal réservoir de calcium. Le calcium est transporté par des canaux calciques, des échangeurs $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ et des PTP. La libération massive de calcium par les PTP peut déclencher l'apoptose.

Concentration de substances dans les mitochondries

Concentration des colorants

La coloration supra-vitale par le vert Janus (colorant vital en microscopie optique) est un exemple classique. Le vert Janus pénètre dans la cellule vivante : les enzymes cytoplasmiques le réduisent en un leuco-dérivé (dérivé incolore), qui est concentré dans les mitochondries et réoxydé : cette réoxydation lui redonne sa couleur primitive.

La rhodamine, visible seulement en fluorescence, colore également les mitochondries par accumulation dans leur matrice.

Concentration de la ferritine

Les cellules réticulaires phagocytent des hématies, récupèrent le fer contenu dans l'hémoglobine et le stockent sous la forme de ferritine. Les molécules de ferritine sont cédées aux jeunes érythroblastes situés autour des cellules réticulaires (cellules souches de la lignée rouge). Elles pénètrent dans les mitochondries où elles s'accumulent. Puis, elles sont brisées en molécules plus petites : les mitochondries éclatent et libèrent des granules contenant des molécules de ferritine qui interviennent dans la synthèse de l'hémoglobine.

Dépôts lipidiques

Après une courte période de jeûne, les mitochondries des hépatocytes établissent des rapports étroits avec les vacuoles lipidiques. À la surface de la gouttelette lipidique, des zones moins denses évoquent l'utilisation des lipides par la mitochondrie. En fait, au cours du jeûne, les glucides diminuent : les mitochondries font appel aux lipides qui sont oxydés activement et dégradés pour fournir des radicaux acétyle utilisés dans le cycle de Krebs.

Accumulation des protéines

Dans les ovocytes de *Planorbis*, les protéines s'accumulent sous une forme cristalline. Ces cristallisations protéiques sont formées de molécules de 6 nm de diamètre, séparées par des espaces de 8,5 nm.

Les mitochondries sont capables de concentrer des substances aussi diverses que des colorants, des protéines, des lipides, de la ferritine... pour ne donner que quelques exemples.

Les dysfonctionnements mitochondriaux provoquent de graves affections

Un certain nombre de maladies mitochondriales dépendent d'une mutation du génome, tandis que d'autres sont associées à un mauvais fonctionnement mitochondrial en rapport avec des modifications de leur environnement.

La baisse de la production d'énergie provoque des lésions tissulaires

Les dysfonctionnements mitochondriaux provoquent une baisse de la production d'énergie et de graves altérations tissulaires.

Ainsi, dans les neurones, la baisse de la production d'énergie crée une dépolarisation neuronale partielle, suivie d'une activation des récepteurs des acides aminés excitatoires, induite par l'augmentation de la concentration ambiante de glutamate.

Le dysfonctionnement mitochondrial déclenche aussi une augmentation du calcium intracellulaire, qui est libéré à partir des mitochondries (le réservoir le plus important de calcium) et du RE. De plus, l'accroissement du calcium intracellulaire entraîne l'augmentation de la production des radicaux libres et une augmentation de l'oxyde d'azote synthase.

De très rares maladies proviennent d'une mutation d'un gène de l'ADNmt

L'ataxie de Friedreich atteint une personne sur 50 000. Elle se caractérise par une incoordination des mouvements, une myasthénie (faiblesse musculaire) et assez fréquemment une hypertrophie cardiaque. Elle est due à l'absence ou à la mutation d'un gène qui code la frataxine, une protéine de la membrane externe de la mitochondrie. Cette protéine empêche la pénétration du fer dans la matrice mitochondriale. La symptomatologie varie en fonction du nombre de mitochondries atteintes. L'accumulation de fer, agent oxydant, induit la formation de radicaux libres dans la matrice, toxiques pour la chaîne respiratoire. La production d'énergie devient insuffisante pour pourvoir au fonctionnement normal d'organe comme le cerveau, les muscles cardiaque et squelettiques.

Cette anomalie est fréquemment associée à la perte de l'activité de l'aconitase, une enzyme de la matrice (voir « Le cycle de Krebs »). Cette enzyme intervient dans la formation de la ferritine à partir des molécules de fer qui ont pénétré dans la matrice (la ferritine n'entraîne pas la production de radicaux libres).

Trois maladies neurodégénératives, les maladies de Huntington (HD : Huntington disease), de Kennedy (SBMA : hereditary spinobulbar muscular atrophy; atrophie musculaire spinobulbaire) et l'ataxie spino-cérébelleuse type 1 (SCA-1 : type 1 spinocerebellar ataxia) possèdent un caractère génétique commun : présence d'une région instable, constituée par une répétition de CAG (cytosine, adénine, guanine). Cette répétition est située dans la partie codante du gène, pour HD et SBMA, et aboutit dans la protéine à une longue série de glutamines, voisine de l'extrémité amino-terminale, qui altère la fonction. Le mode d'action de la répétition de CAG n'est pas connu pour SCA-1.

Les maladies neurodégénératives sont souvent liées à un dysfonctionnement mitochondrial. En effet, chez les Primates, l'administration expérimentale prolongée d'acide 3-nitropropionique provoque une dégénérescence de la région striée de l'encéphale et des mouvements choréiformes. Cette substance accroît la production de radicaux libres dont la toxicité diminue la production d'énergie par la mitochondrie. Cette insuffisance de production d'énergie provoque la mort neuronale.

La sclérose latérale amyotrophique est liée à un déficit des réactions d'oxydation (ALS : amyotrophic lateral sclerosis; sclérose latérale amyotrophique). ALS est une maladie létale avec des paralysies provoquées par la mort des neurones moteurs cérébraux et spinaux.

La SOD 1 (SOD 1 : superoxyde dismutase 1 cuivre-zinc) est une enzyme très largement exprimée dans les cellules eucaryotes : elle protège les cellules contre les lésions provoquées par les radicaux libres. L'ALS serait provoquée par une surexpression de SOD 1 qui libère le calcium contenu dans la matrice mitochondriale, augmente la concentration des radicaux libres et provoque des lésions mitochondriales.

Les maladies mitochondriales commencent seulement à être connues. Seules quelques-unes sont évoquées dans ce bref paragraphe : l'ataxie de Friedreich produite par une altération de la chaîne respiratoire par des radicaux libres, les maladies de Huntington, de Kennedy et l'ataxie spino-cérébelleuse type I, les maladies neurodégénératives et la sclérose latérale amyotrophique.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADNmt	ADN mitochondrial
ADP	Adénosine DiPhosphate
AIF	Apoptosis Inducing Factor; facteur induisant l'apoptose
ALS	Amyotrophie Lateral Sclerosis; sclérose latérale amyotrophique
AMP	Adénosine MonoPhosphate
ATP	Adénosine TriPhosphate
ATPase	Adénosine TriPhosphatase
bcl	B-cell lymphoma; lymphome à cellule B
ctHsp	cytosolic Heat shock protein; protéine cytosolique de choc thermique
FAD	Flavine Adénine Dinucléotide
FADH	Flavine Adénine Dinucléotide réduit

HD	Huntington Disease; maladie de Huntington
HM	Histone Mitochondriale
HMG	High-Mobility Group; groupe de haute mobilité
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
HVDAC	Human Voltage-Dependent Anion Channel; canal anionique voltage-dépendant humain
Isp	Import site protein; site d'importation protéique
KIFIB	Kinesine Factor IB; facteur IB de la kinésine
KRP	Kinesin-Related Protein; protéine apparentée à la kinésine
MAM	Mitochondrial-Associated Membrane; membrane associée à la mitochondrie
Mas	Mitochondrial assembly; assemblage mitochondrial
MF	MicroFilament d'actine
MIM	Mitochondrial Inner Membrane; membrane interne mitochondriale
MOM	Mitochondrial Outer Membrane; membrane externe mitochondriale
MSF	Mitochondrial import Stimulation Factor; facteur mitochondrial de stimulation de l'importation
MT	MicroTubule
mtHsp	mitochondrial Heat shock protein; protéine mitochondriale de choc thermique
NAD	Nicotinamide Adénosine Dinucléotide
NADH	Nicotinamide Adénosine Dinucléotide réduit
NADPH	Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate réduit
NEM	N-EthylMaleimide; N-éthylmaléimide
PC	PhosphatidylCholine
PE	PhosphatidylEthanolamine
PS	PhosphatidylSérine
PTP	Permeability Transition Pore
RE	Réticulum Endoplasmique
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
SBMA	SpinoBulbar Muscular Atrophy; atrophie musculaire spinobulbaire
SCA	SpinoCerebellar Ataxia; ataxie spino-cérébelleuse
SOD 1	SuperOxyde Dismutase 1 cuivre-zinc
Tom	Translocase outer membrane; translocase de la membrane externe
Tim	Translocase inner membrane; translocase de la membrane interne
UCP	UnCoupling Protein; protéine de découplage
UQH	UbiQuinone réduite
VDAC	Voltage-Dependent Anion Channel; canal anionique voltage-dépendant

■ 1. Les mitochondries :

- ☐ 1. sont visibles en microscopie optique conventionnelle sans coloration.
- ☐ 2. sont facilement observables, en microscopie optique conventionnelle, après coloration par la rhodamine.
- ☐ 3. sont visibles sans coloration en contraste de phase.
- ☐ 4. sont colorables par le bleu de toluidine après fixation.
- ☐ 5. sont animées de mouvements de déplacement.

■ 2. La taille des mitochondries :

- ☐ 1. dépend de la nature des cellules qu'elles occupent.
- ☐ 2. est fonction de l'activité de synthèse de la cellule.
- ☐ 3. varie au cours du cycle cellulaire.
- ☐ 4. est plus petite après la mitochondriérèse.
- ☐ 5. augmente au cours de la phase S.

■ 3. Les mitochondries sont localisées :

- ☐ 1. uniquement dans le pôle basal des entérocytes.
- ☐ 2. dans la région basale des tubes contournés où elles occupent des compartiments délimités par des invaginations de la lame basale.
- ☐ 3. entre les myofibrilles du muscle strié squelettique au niveau des disques A.
- ☐ 4. dans l'article externe de la rétine.
- ☐ 5. dans le pôle apical des entérocytes.

■ 4. Les mouvements de déplacement des mitochondries dépendent :

- ☐ 1. des courants cytoplasmiques.

- ☐ 2. des molécules KIF qui déplacent la mitochondrie suivant un déplacement rétrograde.
- ☐ 3. de la présence de kinésine.
- ☐ 4. des filaments d'actine.
- ☐ 5. des microtubules.

■ 5. Les mitochondries sont immobiles dans :

- ☐ 1. les spermatozoïdes.
- ☐ 2. les fibres musculaires striées.
- ☐ 3. les fibroblastes.
- ☐ 4. les compartiments de la base des tubes contournés.
- ☐ 5. les cellules en cours de prophase.

■ 6. La membrane externe de la mitochondrie contient des porines :

- ☐ 1. constituées par trois sous-unités en feuillet β .
- ☐ 2. constituées par trois sous-unités en hélice α .
- ☐ 3. qui ont un poids moléculaire de 30 kDa.
- ☐ 4. qui laissent passer des molécules dont le PM peut atteindre 20 kDa.
- ☐ 5. qui s'associent aux MAPs.

■ 7. La membrane externe de la mitochondrie contient :

- ☐ 1. des pores anioniques qui sont des pores de transition de la perméabilité.
- ☐ 2. des translocases.
- ☐ 3. une acyl-CoA synthétase.
- ☐ 4. des porines interagissant avec la kinésine.
- ☐ 5. des molécules de bcl-2, une molécule dont la surexpression déclenche l'apoptose.

■ 8. La chambre externe :

- ☐ 1. est interrompue par places par des zones d'accolement de la membrane interne et de la membrane externe.
- ☐ 2. contient des caspases.
- ☐ 3. contient un facteur AIF.
- ☐ 4. est une réserve de calcium facilement disponible.
- ☐ 5. contient du cytochrome c.

■ 9. La membrane interne contient :

- ☐ 1. 80 % de lipides et 20 % de protéines.
- ☐ 2. environ 6 000 particules par μm^2 .
- ☐ 3. des cotransporteurs métabolites/protons.
- ☐ 4. des PTP.
- ☐ 5. des molécules de carnitine acyl-transférase.

■ 10. En dehors des transporteurs, la membrane interne est :

- ☐ 1. perméable aux protons.
- ☐ 2. imperméable aux acyl-CoA.
- ☐ 3. imperméable à l'AMP.
- ☐ 4. imperméable à l'ADP.
- ☐ 5. perméable aux métabolites d'origine matricielle.

■ 11. Les cardiolipines :

- ☐ 1. représentent 1/53^e de la quantité de lipides contenus dans la membrane externe.
- ☐ 2. sont des diphosphatidylglycérols.
- ☐ 3. contiennent deux molécules de glycérol.
- ☐ 4. sont combinées à des molécules de cholestérol.
- ☐ 5. assurent le passage des lipides cytosoliques activés.

■ 12. Les mitoribosomes :

- ☐ 1. sont sensibles au chloramphénicol.
- ☐ 2. ont la même taille que les ribosomes bactériens.

- ☐ 3. diffèrent par leur taille des ribosomes contenus dans le cytosol.

- ☐ 4. déterminent par leur activité l'aspect condensé de la mitochondrie.

- ☐ 5. sont en nombre suffisant pour lire les 61 codons sens.

■ 13. Les mitoribosomes :

- ☐ 1. sont constitués par des protéines synthétisées par la mitochondrie.

- ☐ 2. possèdent une sous-unité 25 S.

- ☐ 3. possèdent une sous-unité 35 S.

- ☐ 4. ont une taille identique pour des mitochondries appartenant à des cellules différentes.

- ☐ 5. ont une taille identique pour des mitochondries appartenant à des espèces différentes.

■ 14. Le génome mitochondrial humain code :

- ☐ 1. deux ARNr.

- ☐ 2. une trentaine de polypeptides.

- ☐ 3. la totalité de la NADH déshydrogénase.

- ☐ 4. la totalité de l'ATPase.

- ☐ 5. vingt-deux ARNt.

■ 15. La synthèse extramitochondriale des protéines mitochondriales :

- ☐ 1. débute après la phase M.

- ☐ 2. s'arrête à la fin de la phase G2.

- ☐ 3. commence à la fin de la phase S.

- ☐ 4. débute avec la phase G2.

- ☐ 5. s'arrête à la fin de la phase G1.

■ 16. Le signal d'adressage des protéines mitochondriales synthétisées dans le cytosol est :

- ☐ 1. carboxy-terminal.

- ☐ 2. uniquement hydrophile.

- ☐ 3. fortement acide.

- ☐ 4. amphiphile.
- ☐ 5. fortement basique.

■ 17. Les mitochondries et les bactéries :

- ☐ 1. ont la même sensibilité aux antibiotiques.
- ☐ 2. ont une chaîne respiratoire identique.
- ☐ 3. ont une composition membranaire voisine.
- ☐ 4. ont une polymérase identique.
- ☐ 5. diffèrent par la localisation des gènes mitochondriaux.

■ 18. L'activité des lipases est augmentée par :

- ☐ 1. l'adrénaline.
- ☐ 2. la noradrénaline.
- ☐ 3. l'insuline.
- ☐ 4. le glucagon.
- ☐ 5. l'hormone adrénocorticotrope.

■ 19. La mitochondrie intervient dans le début de la synthèse de :

- ☐ 1. l'alanine.
- ☐ 2. la glutamine.
- ☐ 3. l'arginine.
- ☐ 4. le tryptophane.
- ☐ 5. la méthionine.

■ 20. La thermogénine :

- ☐ 1. augmente la chaleur produite par la mitochondrie en activant la chaîne respiratoire.
- ☐ 2. est une protéine de découplage.
- ☐ 3. interrompt l'exportation des molécules d'ATP.
- ☐ 4. empêche la formation du gradient de protons.
- ☐ 5. existe principalement dans les tissus adipeux.

1.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	V

1. Les mitochondries sont visibles en MO conventionnelle après fixation et coloration.

2. En microscopie en fluorescence.

2.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Elle n'augmente pas pendant cette phase : elles sont immobiles dans la partie médiane de la cellule, en dehors de la plaque équatoriale.

3.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. dans les deux pôles de la cellule.

4. dans l'article interne.

4.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. dans le sens antérograde.

5.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. Elles sont mobiles dans les fibroblastes.

5. Elles sont mobiles au cours de la prophase : c'est à la métaphase qu'elles s'immobilisent.

6.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Elles laissent passer des molécules pouvant atteindre un PM de 10 kDa.

7.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Leur sous-expression déclenche l'apoptose.

8.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. C'est la chambre interne qui sert de réservoir de calcium.

9.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. C'est l'inverse.

10.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1 et 5. Elle est imperméable aux protons et aux métabolites matriciels.

11.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Les cardiolipines représentent 1/53^e des lipides de la membrane interne.

4. Les cardiolipines ne se combinent pas aux molécules de cholestérol, qui existent d'ailleurs en quantité extrêmement faible dans la membrane interne.

12.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. L'aspect condensé de la mitochondrie est déterminée par l'accumulation d'ADP.

5. Ils sont en nombre insuffisant.

13.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. La totalité des protéines des mitoribosomes, ou presque, est synthétisée dans le cytoplasme.

5. La taille est fonction de l'espèce à laquelle elles appartiennent.

14.

1	2	3	4	5
V	F	F	F	V

2. Une dizaine de polypeptides.

3. 7 unités de la déshydrogénase.

4. 2 unités de l'ATPase.

15.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. La synthèse des protéines non mitochondriales débute après la phase M.

4. C'est la synthèse intramitochondriale des protéines mitochondriales qui débute avec la phase G2.

5. Elle s'arrête à la fin de la phase G2.

16.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. Il est amino-terminal.

2. Il est amphiphile.

3. Il est fortement basique.

17.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. La polymérase bactérienne renferme six chaînes protéiques alors que la polymérase mitochondriale n'en possède qu'une seule.

18.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. L'insuline est sans action sur les lipases.

19.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4 et 5. Le tryptophane et la méthionine sont des acides aminés essentiels.

20.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1 et 3. Elle n'active pas la chaîne respiratoire, elle n'interrompt pas l'exportation des molécules d'ATP: elle découple la phosphorylation de l'oxydation, en favorisant la fuite des protons vers la matrice.

- 1. Citez un colorant vital des mitochondries. Décrivez son mode d'action.
- 2. Où est localisée la protéine bcl-2?
- 3. Quelle est la taille des molécules admises à pénétrer dans la chambre externe?
- 4. À quoi correspondent les zones d'accolement des membranes externe et interne mitochondriale?
- 5. Quelle est la forme des crêtes mitochondriales dans les cellules élaborant des stéroïdes?
- 6. Énumérez les trois principales molécules qui interviennent dans l'hydroxylation.
- 7. Citez les systèmes intervenant dans le transport du malate matriciel en direction du cytosol.
- 8. Quelle est la localisation de l'ATP synthase?
- 9. Quel est le rôle des protéines de découplage?
- 10. Citez un tissu dans lequel les mitochondries produisent de la chaleur sans produire d'ATP.
- 11. Quel est le rôle des cardiolipines?
- 12. Que deviennent les électrons libérés par le $FADH_2$?
- 13. Quel est le pourcentage des protéines codées par l'ADNmt?
- 14. Quelle est l'enzyme du cycle de Krebs qui est localisée dans la membrane interne mitochondriale?
- 15. Quelle force agit directement sur l'ATPase mitochondriale et aboutit à la synthèse de l'ATP?
- 16. Citez un cycle dont le début se déroule dans la mitochondrie.
- 17. Énumérez les quatre complexes qui interviennent dans la constitution de l'unité d'oxydation.
- 18. Quel est le principal caractère des gènes de l'ADN mitochondrial?
- 19. Chez les Mammifères, qui assure la transmission de l'ADN mitochondrial?
- 20. Pendant quelle phase du cycle les mitochondries synthétisent-elles leurs protéines?
- 21. Quelle est l'origine de l'ARN polymérase?
- 22. Quelle est la première molécule qui constitue la chaîne protéique (au cours de la protéogenèse) dans les mitochondries?
- 23. À quel moment s'effectue la synthèse extra-mitochondriale des protéines mitochondriales?
- 24. Donnez le mécanisme moléculaire du déplacement des mitochondries.
- 25. Citez les caractères des protéines destinées à l'espace intermembranaire.
- 26. Citez 3 points communs aux mitochondries et aux bactéries.
- 27. Quelles sont les fonctions des PTP?
- 28. Citez 5 acides aminés dont la synthèse débute dans les mitochondries.
- 29. Donnez l'origine de la phosphatidylsérine mitochondriale.
- 30. Énumérez les rôles du gradient de protons.

1. Le vert Janus. Après pénétration dans le cytoplasme, il est transformé par réduction en un leucodérivé (dérivé incolore), puis il s'accumule dans la mitochondrie où il est réoxydé et reprend sa couleur originale.
2. La protéine bcl-2 est localisée dans la membrane externe mitochondriale, dans la membrane externe des noyaux et dans la face externe du réticulum endoplasmique.
3. Les molécules doivent avoir une taille inférieure à 10 kDa.
4. Les zones d'accolement transitoire correspondent aux régions occupées par les complexes d'importations Tim et Tom des membranes mitochondriales interne et externe.
5. Les crêtes ont une forme tubulaire.
6. Le cytochrome P450, l'adrénodoxine et l'adrénodoxine réductase.
7. Les antiports malate/Pi et la navette malate/aspartate.
8. L'ATP synthase est localisée non seulement dans la membrane interne mitochondriale mais également dans la membrane des thylacoïdes des chloroplastes et dans la membrane plasmique des bactéries.
9. Les protéines de découplage permettent le passage des protons H^+ de la membrane externe vers la matrice et inhibent ainsi la formation d'une différence de potentiel. L'ATP synthase ne peut plus phosphoryler l'ATP alors que le transport d'électrons est toujours actif.
10. La graisse brune.
11. Les cardiolipines sont imperméables aux protons H^+ . Elles permettent aux lipides cytosoliques de pénétrer dans la matrice pour y subir la β -oxydation.
12. Les électrons libérés par le $FADH_2$ sont transportés au complexe II (succinate-déshydrogénase) par l'ubiquinone, du complexe III au complexe IV par le cytochrome c. Ils se combinent avec l'oxygène moléculaire (accepteur final) pour former de l'eau.
13. Il est d'environ 10 %.
14. La succinodéshydrogénase.
15. Le flux protonique.
16. Le cycle de l'urée.
17. Le complexe I ou NADH déshydrogénase, le complexe II ou succinodéshydrogénase, le complexe III ou complexe b-c₁, le complexe IV ou complexe cytochrome-déshydrogénase.
18. Ils ne possèdent pas d'introns.
19. La femelle.
20. La phase G2.
21. Le cytosol.
22. La formyl-méthionine.
23. Pendant la phase G2, S et le début de la phase G1.
24. Chez la Souris, une molécule KIF1B (kinesin factor 1B; facteur 1B de la kinésine), appartenant à la superfamille KRP (kinesin-related protein; protéine apparentée à la kinésine) est exprimée dans une très grande variété de tissus. KIF1B agit comme un monomère fixé par une de ses extrémités à la mitochondrie et par l'autre au microtubule : elle déplace la mitochondrie en direction de l'extrémité positive des microtubules (déplacement antérograde).
25. Leur PM est inférieure à 10 kDa.
26. Une sensibilité identique aux antibiotiques : le chloramphénicol, la kanamycine, la rifampicine bloquent la synthèse des protéines aussi bien chez les bactéries que chez les mitochondries. L'ARNT initiateur porte la méthionine aussi bien chez les bactéries que chez la mitochondrie.
27. Les PTP sont habituellement fermés. L'ouverture des pores est déterminée par le taux de

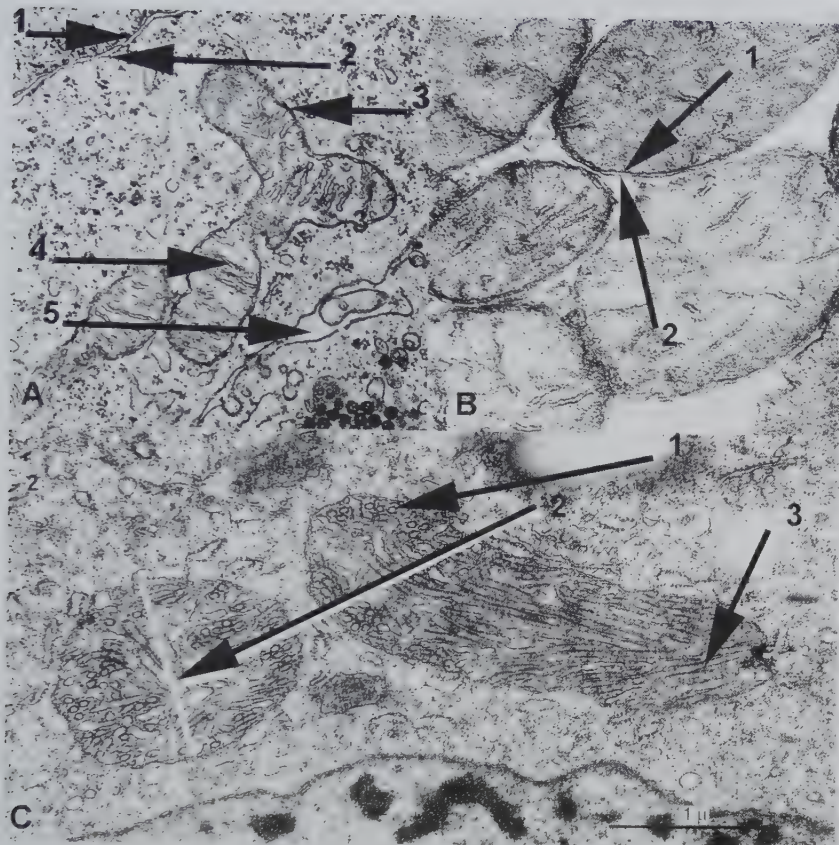
calcium contenu dans la matrice. Lorsque celui-ci est trop élevé, les PTP s'ouvrent et libèrent d'importantes quantités de calcium qui peuvent provoquer l'apoptose.

28. La thréonine, l'asparagine, la glutamine, la proline et l'arginine.

29. La synthèse de la phosphatidylsérine se déroule dans la partie cytosolique de la membrane

du REL. Une molécule de sérine se fixe sur un phosphatidyl: la réaction est catalysée par la phosphatidylsérine synthase. La phosphatidylsérine est ensuite transloquée depuis son lieu de synthèse par une fraction membranaire appelée MAM.

30. Il intervient dans la phosphorylation, dans le transport des ions et des métabolites d'origine mitochondriale.



■ Cliché A :

Flèche 1 :

Flèche 2 :

Flèche 3 :

Flèche 4 :

Flèche 5 :

■ Cliché B :

Flèche 1 :

Flèche 2 :

■ Cliché C :

Flèche 1 :

Flèche 2 :

Flèche 3 :

Cliché A :

Flèche 1 : *membrane interne du noyau.*

Flèche 2 : *membrane externe du noyau.*

Flèche 3 : *paroi mitochondriale.*

Flèche 4 : *crête mitochondriale.*

Flèche 5 : *espace intercellulaire.*

Cliché B :

Flèche 1 : *membrane interne mitochondriale.*

Flèche 2 : *membrane externe mitochondriale.*

Cliché C :

Flèche 1 : *crête tubulaire en coupe transversale.*

Flèche 2 : *mitochondrie.*

Flèche 3 : *crête tubulaire en coupe longitudinale.*

Endosomes précoces

Endosomes de tri
et de recyclage

Vésicules de transport

Endosomes tardifs

Sur le chemin de l'endocytose, les endosomes précoces sont une étape de tri et de recyclage. Les endosomes orientent les substances endocytées vers les compartiments auxquels ils sont destinés, et les récepteurs sont réadressés aux membranes dont ils proviennent. Ce recyclage ne perturbe pas du tout le transport unidirectionnel du contenu des endosomes.

Les endosomes sont des structures limitées par une membrane constituant un compartiment hétérogène qui intervient dans le tri, le transport et la transformation de molécules provenant de l'endocytose ou du TGN (*trans* Golgi network; réseau *trans* de l'appareil de Golgi).

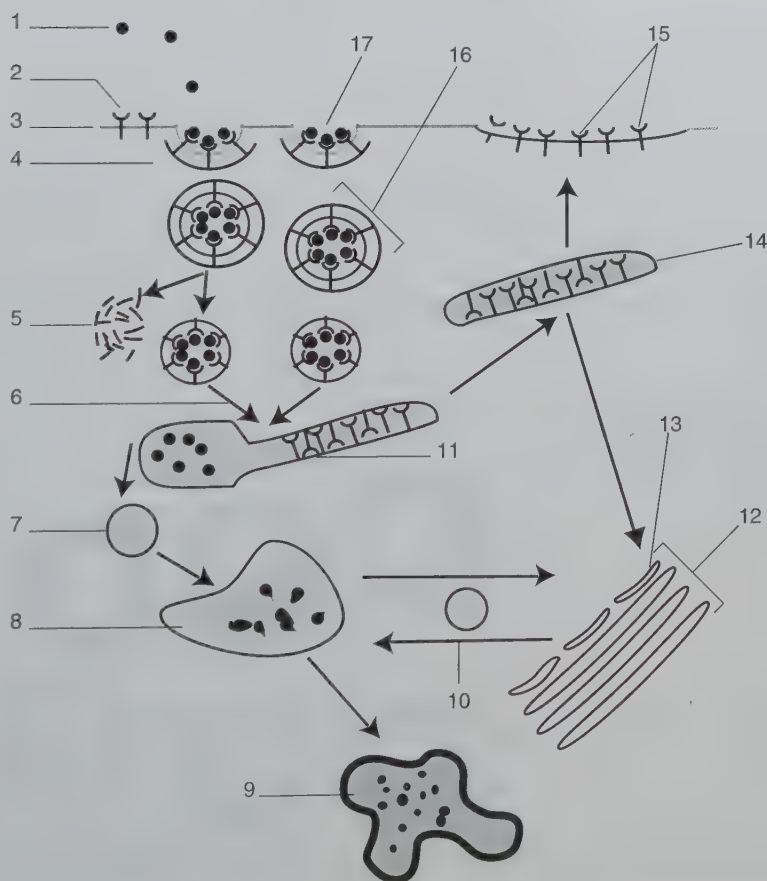
Les endosomes constituent un compartiment qui regroupe (fig. 7.1) :

- les endosomes précoces,
- les vésicules de transport ECV (endosomal carrier vesicle; vésicule endosomale de transport) ou MVC (multivesicular carrier; transport multivésiculaire),
- les endosomes tardifs.

Fig. 7.1

Les endosomes.

1. Ligand.
2. Récepteur membranaire.
3. Membrane plasmique.
4. Manteau de clathrine et d'adaptine.
5. Molécules de clathrine et d'adaptine provenant du déshabillage de la vésicule d'endocytose.
6. Fusion homotypique (fusion entre deux vésicules d'endocytose).
7. Vésicule endosomale de transport.
8. Endosome tardif.
9. Lysosome.
10. Vésicules à hydrolases.
11. Endosome de tri.
12. Appareil de Golgi.
13. Réseau *trans* de l'appareil de Golgi.
14. Endosome de recyclage.
15. Récepteurs recyclés.
16. Vésicule d'endocytose.
17. Endocytose (puits recouverts).



Biogenèse et fonctions des endosomes précoces

Biogenèse des endosomes précoces

■ Le système endosomal a été désigné par des termes extrêmement variés : le plus récent est vraisemblablement celui de CURL qui est un acronyme anglo-saxon pour « compartment of uncoupling of receptor and ligand » qui signifie zone de séparation du récepteur du récepteur et de son ligand. Le terme de réceptosome a été également utilisé ainsi que ceux d'endosomes tubulo-vésiculaire, endosomes de tri. Dans certains ouvrages, on trouve pour désigner les endosomes précoces, le terme d'endosomes périphériques qui souligne d'une manière tout à fait logique l'emplacement de ce que les Américains appellent « early endosome ». Nous nous en tiendrons à la traduction littérale qui est endosome précoce.

Les vésicules d'endocytose contrôlée, après internalisation, perdent leur manteau de clathrine et fusionnent les unes avec les autres pour constituer les endosomes précoces. Les vésicules de transport non recouvertes fusionnent aussi avec les endosomes précoces.

La fusion des vésicules d'endocytose se fait grâce à la présence, dans leur membrane et aussi dans le cytosol, de molécules qui n'ont pas encore toutes été identifiées (fig. 7.2).

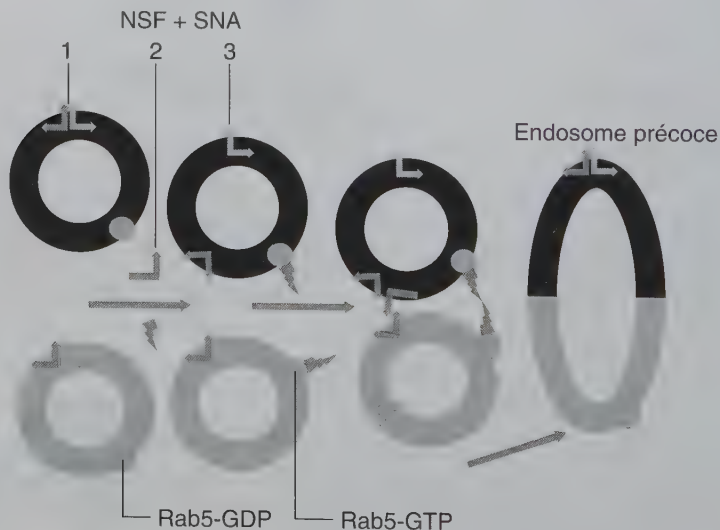
Divers facteurs interviennent : des facteurs d'identification comme *Rab-5*, des facteurs d'amarrage et d'arrimage (*rabex-5*; *rabaptine-5* et *EEA-1*).

Les protéines *Rab* (ras-bovin brain; ras extrait du cerveau de bovin [Ras : rat sarcoma : sarcome du rat]) appartiennent à la famille ras. Les protéines *Rab* règlent le trafic membranaire, c'est-à-dire le transport des vésicules entre les différents compartiments cellulaires, en intervenant dans l'identification des membranes. En effet, il existe un très grand nombre de *Rab* : chacune de ces molécules identifie d'une manière spécifique une structure déterminée. Une de ces protéines membranaires intervient dans la vectorisation de l'adressage des vacuoles d'endocytose, c'est la protéine *Rab5-GDP/GTP*. Sous la forme *Rab5-GDP*, cette protéine est inactive : lorsqu'elle est activée par échange de GDP en GTP, elle se transforme en *Rab5-GTP*. L'activation de *Rab5-GDP/GTP* dépend de la formation d'un complexe stable constitué par *rabex-5* (rab exchange; facteur d'échange de *rab5* GDP/GTP) et par la *rabaptine-5*.

La *rabaptine* est une molécule superroulée de 100 kDa, qui joue un rôle important dans le transport des vésicules d'endocytose. Elle a une localisation principalement cytosolique, mais elle occupe aussi une région membranaire voisine dans les vésicules d'endocytose. La *rabaptine* est un effecteur de *Rab5*. L'immunosuppression de la *rabaptine* inhibe la fusion des endosomes précoces dépendant de *Rab-5*.

EEA-1 (early endosome antigen 1; antigène 1 des endosomes précoces) est une protéine associée aux endosomes précoces, qui existe également dans la membrane

Fig 7.2
Formation d'un endosome précoce. Mécanisme de fusion des membranes de deux vacuoles d'endocytose.
1. v-SNARE et t-SNARE.
2. LMA-1.
3. v-SNARE.



des vésicules d'endocytose. Elle possède un motif de liaison avec la calmoduline, un site d'interaction avec Rab-5 et un domaine FYVE (phénylalanine, tyrosine, valine, acide glutamique) qui se lie sélectivement avec le phosphatidyl inositol 3-phosphate. EEA-1 non seulement amarre les endosomes les uns avec les autres, mais permet aussi leur fusion.

Lorsque l'amarrage est réalisé, une paire de protéines membranaires, les SNAREs, (une v-SNARE et un t-SNARE) agissent juste avant la fusion (ceux-ci sont appelés *cis*-SNARE) (v-SNARE : vesicular SNAP receptor; récepteur vésiculaire de SNAP. t-SNARE : target SNAP receptor; récepteur cible de SNAP. SNAP : soluble NSF attachment; protéine d'attachement du NSF. NSF : NEM-sensitive factor; facteur sensible à NEM. NEM; N-éthylméléimide).

Si les vésicules ont été correctement arrimées, les v-SNAREs de la membrane d'une vésicule peuvent interagir avec les t-SNAREs de la membrane de l'autre vésicule. Les vésicules sont alors solidement fixées l'une à l'autre, mais non encore fusionnées. L'action conjuguée de EEA et de SNARE provoque la fusion des deux vésicules.

Fonctions des endosomes précoces

Les endosomes précoces sont le siège d'une maturation des constituants importés. La maturation implique l'enlèvement des résidus, le recyclage des récepteurs de surface et l'involution de la membrane pour former les corps multivésiculaires.

Les endosomes précoces se divisent en :

- endosomes de tri (périphériques),
- endosomes de recyclage (périphériques ou périnucléaires).

■ Les endosomes de tri

Les endosomes de tri, dont le pH est de 6,2, sont situés à la périphérie de la cellule. Ils ont une structure tubulo-vésiculaire et en citerne typique. Les régions vésiculaires ont un diamètre de 0,3 à 0,4 μm : il s'en échappe des tubes étroits de 50 à 60 nm. Ils subissent en effet un début d'acidification de leur contenu, grâce à des pompes H^+ -ATPase. Cette acidification provoque la dissociation ligand/récepteurs de la plupart des ligands protéiques, y compris LDL (low density lipid; liquide de faible densité).

Les endosomes de tri séparent les molécules qui doivent être recyclées (comme les récepteurs, par exemple TfR [transferin receptor; récepteur de la transferrine] par les endosomes de recyclage. Les molécules non recyclées gagnent les endosomes tardifs par l'intermédiaire des corps multivésiculaires MVB (multivesicular body; corps multivésiculaire) aussi appelés ECV ou MVC.

La fusion des vacuoles d'endocytose avec les endosomes précoces dépend de l'annexine II qui doit être phosphorylée.

Mécanisme moléculaire du tri des récepteurs

Le tri des récepteurs internalisés se produit grâce à une ségrégation spatiale dans les MVBs et est contrôlé par l'activité tyrosine kinase.

Rôles de la morphologie des endosomes et du pH

Il semblerait que la morphologie et le pH bas de ces organites réalisent un mécanisme simple et élégant de tri, basé sur la géométrie de ces organites et le flux

■ La **transferrine** est une glycoprotéine plasmatique, dont la fonction principale est le transport du fer en se liant à deux atomes de fer.

■ Le **tri du récepteur EGFR** du facteur de croissance EGF dépend de l'existence d'un domaine tyrosine kinase situé sur la partie cytosolique du récepteur. L'analyse de l'endocytose de ce facteur (type sauvage) et d'un mutant dépourvu de ce domaine tyrosine kinase dans une souche de fibroblastes murins NIH 3T3 (National Institute of Health; Institut national de la santé) montre que l'internalisation se déroule de la même manière pour les deux molécules, mais que, 20 minutes après l'internalisation, les chemins suivis divergent. Le type sauvage se localise dans les vésicules internes des MVBs alors que le mutant tyrosine kinase négatif est retrouvé dans les formations tubulaires des endosomes précoces.

massif des composants moléculaires. En l'absence de toute autre information de tri, les récepteurs ancrés dans la membrane suivraient le flux membranaire, probablement par l'intermédiaire de la vésiculation et des tubules qui ont un diamètre très étroit (les molécules volumineuses restant dans les vésicules, tandis que les autres peuvent passer dans les étroits tubules).

L'incubation de cellules avec des LDLs fluorescents montre que la quantité de LDL par endosome s'accroît de 30 à 40 fois par période de 10 minutes. Par contre, l'accumulation de transferrine est seulement multipliée par trois dans les endosomes de tri : un seuil d'équilibre est atteint en 2 à 3 minutes. La transferrine abandonne les endosomes de tri après 1,5 à 3 minutes. Ces résultats indiquent que les LDLs, qui sont de grosses molécules, s'accumulent dans les vésicules des endosomes de tri, tandis que les petites molécules (la transferrine) gagnent les tubules.

■ Les endosomes de recyclage

La plupart des récepteurs de la surface cellulaire sont recyclés par les endosomes de recyclage (voir fig. 7.1).

Organisation

Les endosomes de recyclage (ERC) sont organisés en tubules interconnectés en un réseau. Dans de nombreuses cellules, la distribution, la morphologie de ces tubules sont similaires à ceux du TGN : toutefois, ces compartiments sont séparés les uns des autres.

Les ERC ont un contenu dont le pH est de 5,9-6. Un tel pH permet au ligand de se libérer de son récepteur et conserve au récepteur ses propriétés.

Mode de fonctionnement

Les récepteurs intramembranaires se réunissent dans une région tubulaire de l'endosome de recyclage. La région membranaire qui contient les récepteurs bourgeonne, forme une vésicule qui se déplace en direction de la membrane plasmique et fusionne avec elle. Les récepteurs ont ainsi regagné leur place et peuvent être réutilisés pour permettre l'internalisation de ligands. Un tel mécanisme de recyclage peut être mis en évidence en utilisant des anticorps du domaine extracellulaire, marqués à la ferritine. Les récepteurs qui ont fixé la ferritine (opaque au rayonnement électronique) sont visibles en microscopie électronique et il est possible de les suivre facilement.

Le devenir des récepteurs varie en fonction des cellules. Ils peuvent être recyclés, comme nous venons de le voir, dégradés, ou être déplacés vers l'appareil de Golgi : ils sont alors insérés dans la membrane du TGN pour être recyclés en direction de la membrane par les vacuoles d'exocytose ou les grains de sécrétion.

Le recyclage dépend de protéines spécialisées : ainsi les protéines RME/EHD (RME : receptor-mediated endocytosis; endocytose médiée par un récepteur) jouent un rôle important dans le fonctionnement des ERC. Ces protéines possèdent trois domaines : un domaine amino-terminal de liaison au nucléotide en forme de boucle P qui peut se lier à l'ATP ou à GTP, une région centrale EH (Eps homology; homologue d'Eps) formant un domaine super-enroulé et un domaine carboxy-terminal qui possède des homologies avec Eps15 (endocytosis protein; protéine de l'endocytose). RME-1 est une protéine cytosolique qui existe également dans la membrane de ERC. C'est la boucle P qui contrôle l'association de cette molécule avec la membrane de ERC. La protéine RME-1 contrôle l'élimination, vers la membrane plasmique, des protéines par ERC.

Différences entre endosomes de tri et de recyclage

Plusieurs observations démontrent que les endosomes de tri et de recyclage sont des organites différents :

- la localisation des endosomes de tri et de recyclage diffère : ils occupent des régions différentes de la cellule;
- les tubules endosomaux de recyclage contiennent de la transferrine et jamais de LDL ou d'autres ligands qui sont délivrés aux lysosomes après endocytose;
- il n'existe pas de connexions visibles entre les endosomes de tri (marqués par LDL et par la transferrine) et les endosomes de recyclage, marqués seulement par la transferrine;
- de plus, dans les cellules CHO (chinese hamster ovary; ovaire de hamster chinois), les endosomes de recyclage ont un pH plus alcalin, de 0,3 à 0,4 unité de plus que les endosomes de tri. Bien que les différences dans la distribution, le pH et le cargo (substance transportée), trouvées entre les deux composants des endosomes précoces, soient claires, les différences dans la constitution protéique membranaire ne sont pas bien connues. De récentes études suggèrent que Rab4 (ras-bovine; ras extrait du cerveau de bovin) est plus abondant dans la membrane des endosomes de tri que dans les tubules de recyclage.

Le manteau des vésicules de recyclage

Ces vésicules se recouvrent d'un revêtement de clathrine et d'adaptine. Elles transportent les récepteurs en direction de la membrane plasmique, avec laquelle elles fusionnent après perte de leur revêtement : les récepteurs pourront ainsi être réutilisés. Les vésicules de recyclage peuvent se recouvrir de coatomères en recrutant un ensemble de protéines COP-I (coat protein; protéine de revêtement) et ARF (ADP-ribosylation facteur; facteur de ribosylation de l'ADP). Ainsi, chez la Levure, la mutation de COP bloque des récepteurs membranaires : ils ne pourront pas être transportés vers la membrane plasmique.

Les MTs ne semblent pas intervenir dans le recyclage des récepteurs vers la surface; toutefois, la rupture des microtubules inhibe la fusion des endosomes précoces les uns avec les autres.

■ Endosomes et formation de vésicules destinées à l'exocytose

Le compartiment endosomal est capable de former des vésicules destinées à l'exocytose. Par exemple, les fibres nerveuses transmettent leur influx nerveux par l'intermédiaire de leur terminaison qui affecte souvent la forme d'un bouton terminal. Les substances neurotransmettrices comme la noradrénaline, l'acétylcholine sont contenues dans des vésicules de petites dimensions qui portent le nom de vésicules synaptiques. Lorsque la fibre nerveuse est excitée, les vésicules synaptiques libèrent le neurotransmetteur dans l'espace (fente synaptique) qui la sépare de l'organe innervé. La membrane des vésicules synaptiques, dont le contenu a été déversé dans la fente synaptique, s'incorpore dans la membrane du bouton terminal (membrane présynaptique). Cette membrane des vésicules synaptiques est récupérée par la cellule sous la forme d'une vésicule d'endocytose qui fusionne avec l'endosome précoce. Elle sera réutilisée pour la formation de nouvelles vésicules synaptiques. Le neurotransmetteur est synthétisé par les polyribosomes libres dans le cytosol. La membrane du compartiment endosomal précoce bourgeonne, forme de nouvelles vésicules dans lesquelles pénètre le neurotransmetteur.

Rôle dans la défense de l'organisme

Dans les cellules présentatrices d'antigène, qui sont des cellules appartenant au système histiocytaire, les antigènes capturés par ces cellules sont placés à la surface de la membrane cellulaire grâce à un mécanisme relativement complexe.

Les antigènes étrangers ont pénétré soit par endocytose, soit par phagocytose dans les endosomes où ils subissent une hydrolyse partielle.

En présence de peptides étrangers, ces cellules synthétisent, dans le réticulum endoplasmique granulaire, un complexe majeur d'histocompatibilité de type II (CMH II). Comme toutes les protéines synthétisées par le REG, le CMH II gagne l'appareil de Golgi, d'où il est acheminé à partir du réseau *trans* golgien vers les endosomes par des vésicules golgiennes. Le CMH II forme un complexe avec les peptides à activité antigénique. Ce complexe s'incorpore dans la membrane des endosomes précoces. Les régions membranaires, occupées par le complexe CMH II-antigènes, bourgeonnent pour former des vésicules qui viennent fusionner avec la membrane plasmique, de telle sorte que les antigènes sont exposés à la surface de la cellule. Une telle exposition est essentielle pour la défense de l'organisme : en effet, le peptide est présenté aux lymphocytes T qui induisent la réaction immunologique de l'organisme.

Rôle des microtubules dans l'organisation spatiale des endosomes précoces

Le système des endosomes précoces, qui s'étend de la périphérie cellulaire jusqu'à la région périnucléaire, subit des réarrangements spatiaux dépendant des traitements par la bréfeldine A (BFA). La BFA, entre autres, bloque l'échange entre GDP et GTP sur les tubulines, qui est nécessaire à la polymérisation et à la dépolymérisation des microtubules. Une courte exposition à la BFA provoque une fusion extensive et une tubulation des endosomes précoces en direction de la périphérie cellulaire; par contre, au cours d'une exposition prolongée (30 minutes et plus), les endosomes précoces subissent une rétraction en direction de la région centrosomale : cette rétraction est réversible et dépendante des microtubules.

Endosomes et transcytose

La transcytose est un mécanisme de transport par vésicules, d'une région de la membrane plasmique à une autre région de cette membrane. Dans les entérocytes, les protéines provenant du CGN (cis Golgi network; réseau golgien cis) sont excrétées dans les espaces intercellulaires : ces molécules sont endocytées, puis réexpédiées en direction du pôle apical par les endosomes précoces, avec lesquels elles ont fusionné.

Les endosomes précoces sont formés par la fusion des vacuoles d'endocytose; ils se divisent en endosomes de tri (pH 6), dont la membrane contient des marqueurs (TfR) qui séparent les molécules à recycler et interviennent dans le recyclage, et en endosomes de recyclage, morphologiquement différents des endosomes de tri : ils interviennent dans le recyclage d'une grande partie des récepteurs et des protéines membranaires, en expédiant ces molécules, par l'intermédiaire de vésicules de recyclage (recouvertes de clathrine ou de COPs), soit directement à la membrane plasmique par exocytose, soit indirectement par l'intermédiaire de l'appareil de Golgi.

Les vésicules endosomales de transport

Des vésicules ECV/MVC transportent les molécules entre les endosomes précoces et les endosomes tardifs.

Biogenèse

Les endosomes précoces forment, par vésiculation, des ECVs/MVCs de 200 à 400 nm de diamètre (voir fig. 7.1). Ces ECVs/MVCs, de forme sphérique, se distribuent dans tout le cytoplasme. Leur contenu a un pH de 6,5. Ils renferment de multiples vésicules, d'où leur nom de corps multivésiculaires. Leur membrane périphérique contient de l'annexine I. Ils se recouvrent, au cours de leur formation, de β -COPs. L'association de β -COPs, aussi bien que la formation des ECVs/MVCs, dépend du pH luminal : une protéine transmembranaire transmet des indications sur le pH aux coatomères (ϵ -COP est aussi associé aux endosomes : cette association dépend également du pH luminal). Pour certains auteurs, les corps multivésiculaires correspondraient à des endosomes tardifs et non à des vésicules endosomales de transport.

Il est cependant possible de démontrer l'existence des vésicules endosomales de transport. La bafilomycine est un inhibiteur spécifique des pompes à protons. Cette molécule est communément employée pour démontrer l'importance d'un pH bas dans la lyse de l'enveloppe virale. Dans certains types cellulaires, la bafilomycine agit sur le transport du matériel endocyté depuis les endosomes précoces jusqu'aux endosomes tardifs. Les cellules HeLa (lignée cellulaire provenant de cellules épithéliales humaines, isolés en 1952 par Grey, à partir d'un cancer épidermoïde du col utérin d'une femme noire nommée Helen Lane) sont fréquemment utilisées pour étudier les événements précoces se déroulant au cours l'infection virale. Des rhinovirus humains marqués au soufre 35 sont capturés par les vacuoles d'endocytose et subissent des modifications conformationnelles des particules antigéniques C à un pH de 5,6, aboutissant à la libération de l'ARN et déclenchant ainsi l'infection. En microscopie à fluorescence, on a pu constater que la bafilomycine arrête le transport de tous les marqueurs dans les endosome précoces. Leur transport ne se fait plus en direction des endosomes tardifs. Le nocodazole, qui est un agent de rupture ou de dépolymérisation des microtubules, inhibe le transport en accumulant les marqueurs dans les vésicules endosomales de transport.

In vitro, les ECVs/MVCs ne peuvent ni fusionner les uns avec les autres, ni avec les endosomes précoces, mais ils sont capables de fusionner avec les endosomes tardifs.

Déplacements vers les endosomes tardifs

L'aptitude des molécules à être délivrées des endosomes précoces aux endosomes tardifs dépend des MTs. Les MTs, en plus de leur rôle essentiel dans le trafic membranaire entre les endosomes précoces et tardifs, sont impliqués dans l'organisation spatiale de ces deux systèmes membranaires.

In vitro, ECVs/MVCs fusionnent avec les endosomes tardifs, grâce à un mécanisme au cours duquel interviennent :

- des *microtubules* nécessaires au transport;
- des protéines associées aux microtubules, en particulier CLIP-170 (cytoplasmic link protein; protéine de liaison cytoplasmique), une phosphoprotéine cytoplasmique capable de lier les vésicules transporteuses aux microtubules;

- de la *dynéine cytoplasmique* qui, comme CLIP-170, joue un rôle de moteur associé aux MTs : les ECVs/MVBs transmettent ainsi leur contenu aux endosomes tardifs (CLIP-170 intervient également dans l'organisation des endosomes précoces dépendant des microtubules);
- de l'*annexine I* qui est une protéine associée aussi bien à la membrane plasmique qu'à la membrane des MVCs ou des endosomes tardifs : elle est calcium-indépendante. La phosphorylation de l'annexine I calcium-indépendante dans les MVBs isolés la convertit en une forme calcium-dépendante qui intervient dans la fusion membranaire.

Déplacements vers l'appareil de Golgi

Les vésicules endosomales de transport (ECV/MVB) interviennent également dans le transport en direction de l'appareil de Golgi. En particulier, de telles vésicules transportent les récepteurs du mannose-6-phosphate indépendants des cations (CI-MPR : cation indépendant mannose-6-phosphate receptor) en direction de l'appareil de Golgi, où elles libèrent ces récepteurs. La libération de ces récepteurs dépend de la présence de cholestérol. En effet, dans les cellules mutantes d'ovaire de hamster placées en culture, il y a une accumulation de CI-MPR et de glycoprotéines lysosomales : cette accumulation anormale de CI-MPR est corrigée de manière post-translationnelle par la supplémentation du milieu de culture en cholestérol.

Des vésicules de transport (corps multivésiculaires ou MVBs) naissent des endosomes précoces et transportent les molécules vers les endosomes tardifs ou, dans certaines conditions, vers l'appareil de Golgi. Ces MVBs sont recouverts de COPs. Leur déplacement dépend des MTs, de CLIP-170 et de la dynéine : elles déversent leur contenu dans les endosomes tardifs en fusionnant avec eux.

Les endosomes tardifs

Origine

Il existe deux hypothèses expliquant l'origine des endosomes tardifs.

Dans la première hypothèse, les endosomes tardifs résultent de la transformation des endosomes précoces qui ont recyclé les récepteurs membranaires et d'autres molécules. Dans cette hypothèse, les corps multivésiculaires sont également les endosomes tardifs.

Dans la deuxième hypothèse, les endosomes tardifs sont des formations dans lesquelles des vésicules endosomales de transport (corps multivésiculaires provenant du bourgeonnement des endosomes précoces) viennent déverser leur produit de sécrétion. C'est cette deuxième hypothèse que nous retiendrons.

Structure et localisation

Les endosomes tardifs se distribuent autour du noyau. Ils ont une structure réticulo-vésiculaire. Ils contiennent des membranes internes. Ils possèdent un contenu dont le pH est compris entre 5 et 6, en moyenne 5,5, intermédiaire entre celui des endosomes précoces et celui des lysosomes. Ce pH dépend d'une H^+ -ATPase comparable à celle des lysosomes. Cette pompe à protons est apportée par les vésicules à clathrine-adaptine provenant du bourgeonnement du TGN, vésicules qui

transportent des hydrolases. Après avoir perdu leur revêtement de clathrine, elles fusionnent avec eux et libèrent leurs enzymes lysosomales dans la cavité de l'endosome tardif. Les endosomes tardifs se transforment ainsi en lysosomes : ils acquièrent un marqueur, le récepteur du mannose-6-phosphate.

Leur membrane contient :

- une nouvelle protéine Rab, Rab7-GTP, une protéine membranaire appartenant à la superfamille ras des petites GTPases : les membres de ce groupe interviennent dans la libération de l'énergie nécessaire au trafic membranaire; cette molécule constitue aussi un site de reconnaissance pour les vésicules de transport des hydrolases et les vésicules provenant des lysosomes. Enfin, Rab7-GTP est un marqueur des endosomes tardifs;
- une protéine périphérique, l'annexine I, qui joue un rôle dans les interactions intermembranaires, en particulier au cours de la fusion;
- une glycoprotéine lysosomale (lgp120 : lysosomal membrane glycoprotein; glycoprotéine lysosomale membranaire);
- l'acide lysobisphosphatidique (LBPA : lysobisphosphatidic acid) localisé spécifiquement dans la face luminale des endosomes tardifs et des lysosomes. LBPA règle le transport du cholestérol. Ce lipide joue un rôle structural dans la maturation des endosomes tardifs. En raison de sa résistance aux phospholipases, il stabilise les membranes lysosomales et celle des endosomes tardifs contre la dégradation. Il interviendrait aussi dans le tri des protéines par les endosomes tardifs.

Fonctions

Les endosomes tardifs sont partiellement responsables de la dégradation des protéines et des lipides.

Les endosomes tardifs contiennent de grandes quantités de membranes intraluminales. Ils s'enrichissent en hydrolases lysosomales et en membranes lysosomales, par fusion avec les vésicules de transport des hydrolases, qui insèrent ainsi des M6P-Rs (mannose-6-phosphate receptor; récepteur du mannose-6-phosphate) dans la membrane des endosomes tardifs. Les hydrolases lysosomales contiennent un radical M6P (mannose-6-phosphate) qui est reconnu par M6P-R : ce récepteur des hydrolases acides, a été localisé dans le TGN, l'appareil de Golgi, la membrane plasmique et les endosomes. Les endosomes tardifs en contiennent la plus grande partie). Les M6P-Rs sont concentrés sur les membranes intraluminales; ils sont recyclés vers le TGN avant que les endosomes tardifs ne fusionnent avec les lysosomes (voir fig. 7.1).

Les endosomes tardifs sont marqués par les anticorps anti-enzymes lysosomales. Bien qu'apparentés aux lysosomes, les endosomes tardifs ne sont pas des lysosomes typiques (les lysosomes typiques sont en effet dépourvus de M6P-Rs). Les endosomes tardifs sont des endosomes spécialisés, où les enzymes lysosomales sont libérées des M6P-Rs : ils servent de compartiments intermédiaires dans lesquels les ECVs/MVBs déchargent leur contenu.

Les lysosomes tardifs ne proviennent pas de la transformation des endosomes précoces : des vésicules de transport délivrent des enzymes lysosomales aux endosomes tardifs. Ce sont des organites apparentés aux lysosomes, qui jouent un rôle de compartiment intermédiaire. Leur membrane, marquée par M6P-R (qui n'existe pas dans les lysosomes typiques) contient un marqueur spécifique, LBPA.

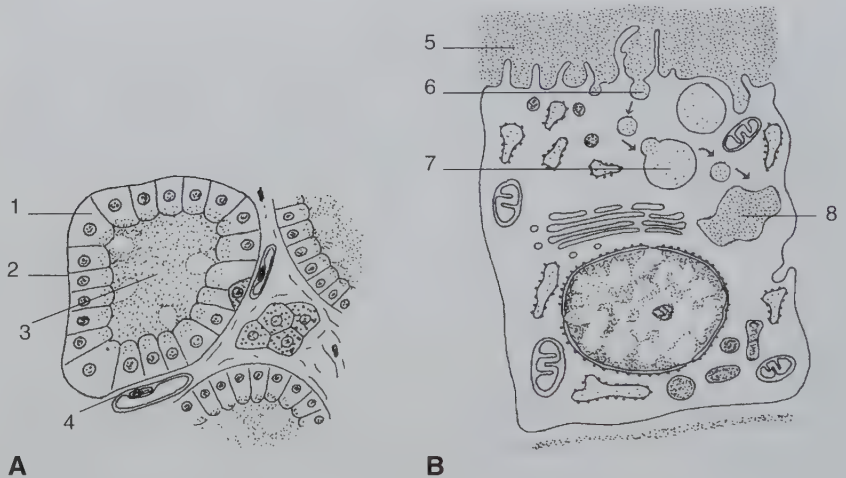
En dehors de cette fonction très générale des endosomes tardifs d'être une étape intermédiaire entre les endosomes précoces et les lysosomes et donc de commencer la lyse du matériel moléculaire importé, les endosomes tardifs interviennent dans un certain nombre de fonctions cellulaires dont nous ne donnerons ici que quelques exemples.

■ Rôle des endosomes tardifs dans la synthèse des hormones thyroïdiennes

Les cellules thyroïdiennes (fig. 7.3) responsables de la sécrétion des hormones thyroïdiennes, en particulier de la thyroxine, constituent un épithélium autour d'une cavité contenant une substance, la colloïde. L'ensemble épithélium/cavité constitue un follicule thyroïdien. Les cellules thyroïdiennes déversent leur produit de sécrétion dans la cavité du follicule sous la forme d'une molécule complexe, la thyroglobuline, une protéine d'un poids moléculaire de 650 000 Da, qui est une glycoprotéine associée à l'iodotyrosine, l'iodothyronine et l'iodohistidine. Lorsque l'organisme a besoin d'hormones thyroïdiennes, les cellules thyroïdiennes internalisent, par endocytose, des molécules de thyroglobuline. La thyroglobuline subit une protéolyse ménagée dans les endosomes : elle libère les hormones thyroïdiennes qui traversent la paroi endosomale grâce à des perméases, et, après avoir traversé le cytosol et la membrane cellulaire, gagnent la circulation sanguine.

Fig 7.3

Vésicule thyroïdienne.
Dans la colloïde, les radicaux tyrosine de la thyroglobuline subissent une ioduration. Il se forme ainsi une thyroxine T₄, une diiodotyrosine ainsi qu'une monoiodotyrosine. Ces molécules restent incorporées dans la thyroglobuline. Dans les endosomes tardifs, des protéases rompent les liens peptidiques qui unissent les hormones thyroïdiennes à la thyroglobuline.
A. Follicule thyroïdien.
1. Cellule thyroïdienne. 2. Follicule thyroïdien. 3. Colloïde.
4. Capillaire.
B. 5. Colloïde. 6. Endocytose. 7. Endosome précoce. 8. Endosome tardif.



■ Rôle des endosomes dans la capture de l'insuline

Les hépatocytes interviennent dans la régulation de la glycémie, en contrôlant le taux sanguin de l'insuline : si l'insuline est en excès, elle est détruite par ces cellules. La membrane plasmique des hépatocytes contient des récepteurs de l'insuline : il s'agit de protéines intramembranaires possédant deux sous-unités β transmembranaires (leur portion intracytoplasmique contient un domaine à activité tyrosine kinase), deux sous-unités α situées sur la face externe de la membrane. Les deux sous-unités α possèdent chacune un site de fixation de l'insuline.

L'endocytose de l'insuline débute par sa fixation sur les récepteurs : cette fixation provoque une phosphorylation du récepteur. Les récepteurs, associés chacun à deux molécules d'insuline, migrent vers les puits recouverts qui sont des zones de la

membrane plasmique, recouvertes de clathrine et d'adaptine. La membrane des puits recouverts, qui contient les molécules d'insuline combinées aux sites récepteurs, est internalisée par endocytose. Les vacuoles d'endocytose se déplacent vers les endosomes précoces avec lesquels elles fusionnent. Leur membrane, ainsi que les complexes récepteurs/insuline, sont incorporés dans la membrane des endosomes précoces. Les récepteurs sont recyclés en direction de la membrane plasmique, tandis que l'insuline est transportée vers les endosomes tardifs par des vésicules de transport ECVs/MVBs.

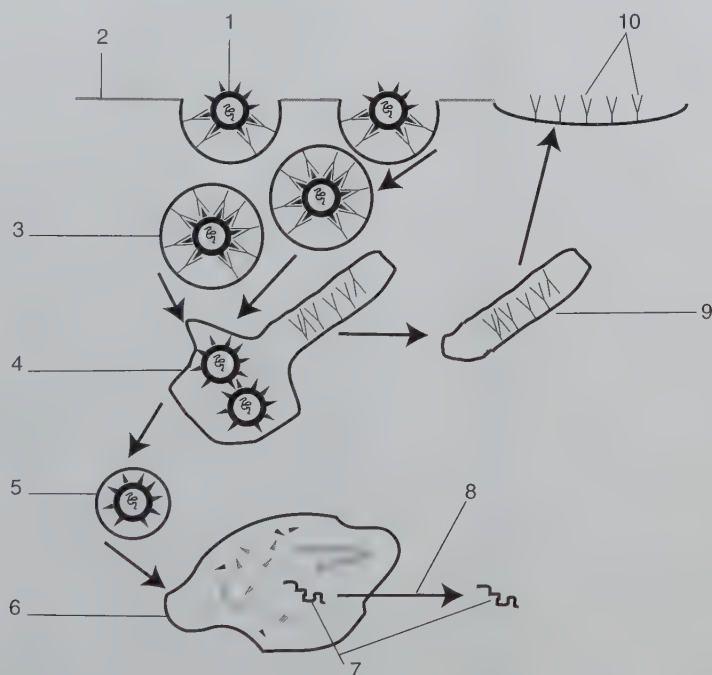
■ Endosomes et infection virale

Le virus de l'encéphalite transmise par les tiques est un flavivirus, un petit virus à ARN entouré d'une enveloppe, la nucléocapside formée essentiellement par une glycoprotéine, une protéine E. Elle est reconnue par les récepteurs de l'individu infecté (fig. 7.4). Le virus pénètre ainsi dans les endosomes des cellules hôtes, gagne les endosomes tardifs où une hydrolyse détruit la nucléocapside et libère l'ARN sans le détruire. L'ARN traverse alors la membrane grâce à une perméase et la cellule est infectée. Il serait théoriquement possible d'imiter ce moyen pour introduire des gènes dans des cellules dans un but thérapeutique. C'est malheureusement difficilement réalisable sur un organisme après la naissance, mais envisageable chez l'embryon pour pallier à une anomalie ou à une maladie d'origine génétique.

Fig 7.4

Infection virale par la voie endosomale (explication dans le texte).

1. Virus.
2. Membrane plasmique.
3. Vésicule d'endocytose.
4. Endosome de tri.
5. Vésicule endosomale de transport.
6. Endosome tardif.
7. ARN (ou ADN).
8. Passage du génome viral dans le cytosol.
9. Endosome de recyclage.
10. Récepteurs recyclés.



Les endosomes tardifs fusionnent avec les lysosomes

Finalement, les endosomes tardifs ne sont pas capables de digérer toutes les molécules. C'est la raison pour laquelle l'étape suivante est la fusion des endosomes tardifs avec les lysosomes, créant ainsi une sorte d'organe hybride.

Ces lysosomes se distinguent des endosomes tardifs par :

- leur pH compris entre 5 et 5,5;
- leurs marqueurs : alors que les endosomes tardifs possèdent les marqueurs lamp, les M6P-R, les lysosomes tardifs possèdent le marqueur lamp et NPC (dans les cellules normales) (NPC : Niemann Pick type C).

Les lysosomes peuvent être considérés comme la fin de l'endocytose. Ils ne communiquent pas directement avec le réseau *trans* de l'appareil de Golgi. Toutefois, ils peuvent communiquer par voie rétrograde avec les endosomes tardifs.

La protéine NPC pourrait fonctionner comme une protéine de liaison du cholestérol ou une protéine sensible au cholestérol. Une accumulation de cholestérol dans le compartiment endosomal tardif stimulerait le transport rétrograde, des lysosomes vers les endosomes, de la protéine NPC. En présence de cette protéine, le cholestérol serait trié et distribué aux différentes membranes cellulaires en fonction des besoins. Si cette protéine n'est pas fonctionnelle, alors le cholestérol s'accumule dans les membranes sous la forme de spires. Une telle accumulation bloque le transport rétrograde des endosomes vers le complexe de Golgi, comme le traduit l'accumulation du marqueur M6P-R dans les membranes des endosomes tardifs. L'accumulation de cholestérol dans les endosomes tardifs rend les membranes endosomales moins élastiques : le bourgeonnement vésiculaire est bloqué et le retour des vésicules vers l'appareil de Golgi ne peut se faire.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ADP	Adénosine DiPhosphate
ARF	ADP-Ribosylation Factor; facteur de ribosylation de l'ADP
ATPase	Adénosine TriPhosphatase
BFA	BréFeldine A
CGN	Cis Golgi Network; réseau golgien <i>cis</i>
CHO	Chinese Hamster Ovary; ovaire de hamster chinois
CLIP	Cytoplasmic LIinker Protein; protéine cytoplasmique de liaison
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
COP	COat Protein; protéine de revêtement
EEA1	Early Endosome Antigen1; santigène 1 des endosomes précoces
ECV	Endosomal Carrier Vesicle; vésicule endosomale de transport
EGF	Epithelial Growth Factor; facteur de croissance épithéliale
EGFR	Epithelial Growth Factor Receptor; récepteur du facteur de croissance épithéliale
EH	Eps Homology; homologue d'Eps
Eps	Endocytosis protein; protéine de l'endocytose
ERC	Endosome de recyclage
GDP	Guanosine DiPhosphate
GTP	Guanosine TriPhosphate
HRP	HorseRadish Peroxidase; peroxydase du raifort
Lamp	Lysosomal-associated membrane protein; protéine membranaire associée au lysosome
LBPA	LysoBisPhosphatidic Acid; acide lysobisphosphatidique
LDL	Low Density Lipid; lipide de faible densité
lgp	lysosomal membrane glycoprotein; glycoprotéine membranaire lysosomale

M6P	Mannose-6-Phosphate
M6P-R	Mannose-6-Phosphate Receptor; récepteur du mannose 6-phosphate
MT	MicroTubule
MVB	MultiVesicular Body; corps multivésiculaire
MVC	MultiVesicular Carrier; transport multivésiculaire
NEM	N-EthylMaléimide
NIH	National Institute of Health; Institut national de la santé
NSF	N-ethylmaleimide-Sensitive Factor; facteur sensible à N-éthyl-maléimide
Rab	Ras-bovine brain; Ras extrait du cerveau de bovin
Ras	Rat sarcoma; sarcome du rat
RME	Receptor Mediated Diagnosis; endocytose médiée par un récepteur
SNAP	Soluble NSF Attachment Protein; protéine soluble d'attachement de NSF.
TfR	Transferrin Receptor; récepteur de la transferrine
TGN	<i>Trans</i> Golgi Network; réseau de golgi <i>trans</i>
t-SNARE	target SNAPs-REceptor; récepteur cible de SNAPs
v-SNARE	vesicular SNAPs-REceptor; récepteur vésiculaire des SNAPs

■ 1. Les endosomes :

- ☐ 1. sont une étape de tri.
- ☐ 2. sont une étape de recyclage.
- ☐ 3. trient et orientent les substances endocytées vers leur compartiment de destination.
- ☐ 4. recyclent les récepteurs, permettant ainsi un transport bidirectionnel des substances endocytées.
- ☐ 5. participent à la transcytose.

■ 2. Les endosomes regroupent un ensemble de structures limitées par une membrane; il s'agit :

- ☐ 1. des endosomes de tri.
- ☐ 2. des endosomes précoces.
- ☐ 3. des MVCs.
- ☐ 4. des endosomes tardifs.
- ☐ 5. des endosomes tardifs qui ont fusionné avec les lysosomes.

■ 3. Les endosomes précoces :

- ☐ 1. ne sont alimentés que par l'endocytose.
- ☐ 2. proviennent de la fusion des vacuoles d'endocytose.
- ☐ 3. jouent un rôle dans le recyclage des récepteurs.
- ☐ 4. interviennent dans le tri.
- ☐ 5. forment les corps multivésiculaires.

■ 4. Les endosomes de tri :

- ☐ 1. possèdent un contenu dont le pH est neutre.
- ☐ 2. sont constitués par des vésicules.
- ☐ 3. sont constitués par des tubes étroits.
- ☐ 4. subissent une acidification par fusion avec les vésicules à hydrolases.
- ☐ 5. sont caractérisés par la présence de Rab4.

■ 5. Les endosomes précoces contiennent :

- ☐ 1. H⁺-ATPase.
- ☐ 2. Tfr.
- ☐ 3. v-SNARE.
- ☐ 4. EEA 1.
- ☐ 5. Rab4.

■ 6. Le tri du récepteur EGF-R dépend :

- ☐ 1. de l'existence d'un domaine tyrosine kinase situé dans la partie luminale du récepteur.
- ☐ 2. d'une ségrégation spatiale dans les MVBs.
- ☐ 3. du pH des endosomes.
- ☐ 4. de la morphologie des endosomes précoces.
- ☐ 5. d'un marqueur spécifique.

■ 7. Les endosomes de tri :

- ☐ 1. assurent le recyclage de tous les récepteurs membranaires.
- ☐ 2. assurent très rapidement le recyclage d'une fraction des récepteurs.
- ☐ 3. n'interviennent pas dans le recyclage des récepteurs.
- ☐ 4. dépendent, au cours du recyclage, l'énergie libérée par une protéine membranaire qui appartient à la superfamille des GTPases.
- ☐ 5. dépendent de l'ATPase.

■ 8. Les tubules des endosomes de recyclage :

- ☐ 1. sont disposés en réseau.
- ☐ 2. ont une morphologie semblable à ceux du TGN.
- ☐ 3. ont une distribution semblable à celle du TGN.
- ☐ 4. communiquent directement avec ceux du TGN.
- ☐ 5. sont limités par des membranes aptes à l'exocytose.

■ 9. Les endosomes de tri et de recyclage :

- ☐ 1. occupent les mêmes régions de la cellule.
- ☐ 2. contiennent tous deux des LDLs.
- ☐ 3. ne sont pas connectés les uns aux autres.
- ☐ 4. sont interconnectés.
- ☐ 5. possèdent un contenu ayant le même pH.

■ 10. Les MTs :

- ☐ 1. sont responsables de l'organisation spatiale des endosomes précoces.
- ☐ 2. n'interviennent pas dans l'organisation spatiale des endosomes précoces.
- ☐ 3. interviennent dans le recyclage des récepteurs vers la surface.
- ☐ 4. jouent un rôle dans la fusion des endosomes précoces les uns avec les autres.
- ☐ 5. assurent le déplacement des ECVs/MVBs.

■ 11. Les ECVs/MVCs :

- ☐ 1. ont un pH faiblement acide.
- ☐ 2. possèdent une membrane contenant des molécules d'annexine.
- ☐ 3. se recouvrent, au cours de leur formation, de β -COPs.
- ☐ 4. peuvent fusionner avec les endosomes précoces.
- ☐ 5. peuvent fusionner les uns avec les autres.

■ 12. La fusion des ECVs/MVCs avec les endosomes tardifs nécessite :

- ☐ 1. des MTs.
- ☐ 2. CLIP 170.
- ☐ 3. une dynéine cytoplasmique.
- ☐ 4. de l'annexine I.
- ☐ 5. des protéines de revêtement (β -COPs).

■ 13. Les endosomes tardifs :

- ☐ 1. se localisent autour du noyau.
- ☐ 2. ont un contenu dont le pH est 6,5.
- ☐ 3. contiennent une pompe à protons provenant du TGN.
- ☐ 4. contiennent, dans leur membrane, une protéine Rab9 appartenant à la superfamille ras des petites GTPases.
- ☐ 5. contiennent un marqueur situé dans la membrane, l'acide lysobisphosphatidique.

■ 14. Les endosomes tardifs :

- ☐ 1. contiennent, dans leur membrane, MGP-R qui existe aussi dans la membrane des lysosomes.
- ☐ 2. sont marqués par des anticorps anti-enzymes lysosomales.
- ☐ 3. jouent un rôle de compartiment intermédiaire entre les MVCs et l'appareil de Golgi.
- ☐ 4. ne sont pas des lysosomes typiques, car leur membrane contient des MGP-Rs.
- ☐ 5. contiennent des MGP-Rs qui sont recyclés vers la membrane plasmique.

1.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

2.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

4. Le recyclage des récepteurs n'a aucune action sur le transport unidirectionnel.

5. Ces endosomes tardifs ne sont alors plus des endosomes : ils sont devenus des lysosomes.

3.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

4.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Le pH du contenu des endosomes de tri est de 6,2.

4. L'acidification dépend des pompes H^+ -ATPase.

5.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

6.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. 5. Le tri de EGF-R dépend d'un domaine tyrosine kinase localisé dans la partie cytosolique.

7.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	F

1. 3. Les endosomes de tri assurent le recyclage d'une partie des récepteurs membranaires.

4. La GTPase Rab4 est un régulateur des interactions membranaires nécessaires au recyclage.

5. Ce mécanisme de recyclage dépend de Rab4 qui appartient à la superfamille ras des GTPases.

8.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Les tubules des endosomes de recyclage et du TGN sont séparés les uns des autres et ne communiquent pas entre eux.

9.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	F

1. Ils n'occupent pas les mêmes régions cellulaires.

2. Les endosomes de recyclage ne contiennent jamais de LDLs (ce qui n'est pas le cas des endosomes de tri).

4. Ils ne sont pas interconnectés.

5. Le pH des endosomes de recyclage est plus alcalin que celui des endosomes de tri.

10.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. Les MTs interviennent dans l'organisation et le réarrangement spatiaux des endosomes précoces.

3. Ils ne jouent aucun rôle dans le recyclage des récepteurs vers la surface.

11.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. 5. Les ECVs/MVCs ne peuvent fusionner qu'avec les endosomes tardifs.

12.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

13.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. Le pH du contenu des endosomes tardifs est de 5,5.

14.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. MGP-R n'existe pas dans la membrane des lysosomes.

3. Les endosomes tardifs jouent un rôle de compartiment intermédiaire entre les MVCs et les lysosomes.

5. Les MGP-Rs sont recyclés vers l'appareil de Golgi.

- 1. Énumérez les fonctions des endosomes.
- 2. Quelle est l'origine des endosomes précoces?
- 3. Quelle est l'origine et quel est le rôle du pH du contenu des endosomes précoces?
- 4. Quel est le marqueur des endosomes précoces?
- 5. Quelles sont les fonctions des endosomes de tri?
- 6. Quel rôle jouent les MVBs/ECVs (multivesicular bodies/endosome carrier vesicles)?
- 7. Quel part les endosomes de tri jouent-ils dans le recyclage?
- 8. Décrire schématiquement les endosomes de recyclage.
- 9. Quel rôle jouent les microtubules dans le recyclage des récepteurs par les endosomes de recyclage?
- 10. Citez trois observations qui démontrent que les endosomes de tri et les endosomes de recyclage sont des organites différents.
- 11. Montrez, par un exemple, qu'il existe des échanges entre les endosomes de recyclage et le TGN.
- 12. Citez les protéines susceptibles de revêtir les vésicules de recyclage.
- 13. Quels sont les caractères morphologiques des ECVs/MVBs?
- 14. Citez une protéine commune à la membrane plasmique, aux MVBs et aux endosomes.
- 15. Quels sont les éléments qui interviennent dans la migration des ECVs vers les endosomes tardifs?
- 16. Quels sont les caractères morphologiques des endosomes tardifs?
- 17. Quels sont les propriétés et rôle de l'acide lysobisphosphatidique?
- 18. Citez les organites dont la membrane contient M6P-R.
- 19. Comment se déroule le recyclage des M6P-Rs?
- 20. L'absence d'une molécule, dans la membrane des endosomes tardifs, permet de les différencier actuellement des lysosomes. Laquelle?

1. Les endosomes sont un compartiment hétérogène qui intervient dans le tri, le recyclage des récepteurs membranaires, le transport et la transformation (par exemple la maturation des éléments importés) de molécules provenant de l'endocytose contrôlée et du CGN.

2. Les endosomes précoces proviennent de la fusion des vacuoles d'endocytose.

3. Le contenu des endosomes précoces est légèrement acidifié (pH 6,2), grâce au fonctionnement de pompes H^+ -ATPase intramembranaires. Un tel pH permet la dissociation des complexes ligand/récepteur de la plupart des récepteurs protéiques.

4. TfR (transferrin receptor). La transferrine est une glycoprotéine plasmique dont la principale fonction est le transport du fer.

5. Les endosomes de tri séparent les molécules qui doivent être recyclées, comme les récepteurs (par exemple TfR), par les endosomes de recyclage. Les molécules non recyclées gagnent les endosomes tardifs par l'intermédiaire des MVBs (multivesicular bodies).
6. Les MVBs/ECVs transportent le contenu des endosomes précoces vers les endosomes tardifs, dans lesquels ils déversent leur contenu.
7. Les endosomes de tri ne recyclent qu'une faible partie des récepteurs membranaires : ils interviennent dans le recyclage rapide. Par exemple, dans les cellules CHO (chinese hamster ovary), 25 % des sondes lipidiques fluorescentes, qui ont gagné les endosomes de tri, sont très rapidement recyclés : les 75 % restant sont recyclés plus lentement par les endosomes de recyclage.
8. Les endosomes de recyclage constituent un réseau de tubules interconnectés, dont le diamètre est en moyenne de 50 nm.
9. Les microtubules ne jouent aucun rôle.
10. Les endosomes de tri et de recyclage occupent des régions différentes de la cellule. Les endosomes de recyclage ont un pH plus alcalin (0,3 à 0,4 unité de plus) que les endosomes de tri. Il n'existe pas de relation visible entre les endosomes de tri et les endosomes de recyclage.
11. Les glycoprotéines de la membrane plasmique, qui doivent subir l'endocytose, perdent leur acide sialique. Or, ces glycoprotéines récupèrent leur acide sialique en un temps beaucoup plus long que celui nécessaire au recyclage des récepteurs : cela implique que ces glycoprotéines désialylées passent dans le TGN, où elles sont resialylées.
12. Les vésicules de recyclage peuvent être recouvertes soit par un revêtement adaptine-clathrine, soit par des coatomères.
13. Les vésicules endosomales de transport, formées par vésiculation des endosomes précoces, ont un diamètre de 200 à 400 nm, sont recouvertes par des molécules de β -COPs, contiennent de multiples vésicules.
14. L'annexine I.
15. Les microtubules, CLIP-170 (cytoplasmic link protein) ainsi que la dynéine cytoplasmique.
16. Les endosomes tardifs sont périmucléaires : ils ont une structure réticulo-vésiculaire et contiennent des membranes internes.
17. L'acide lysobisphosphatidique est un marqueur localisé spécifiquement sur la face luminale des endosomes tardifs et des lysosomes. Résistant aux phospholipases, il joue probablement un rôle de stabilisation des membranes lysosomales et des endosomes tardifs. Il interviendrait aussi dans le tri des protéines, effectué par les endosomes tardifs.
18. Le TGN, la membrane plasmique et les endosomes.
19. Les molécules de M6P-R sont concentrées dans la membrane des endosomes tardifs. Elles sont recyclées vers le TGN, avant la fusion des endosomes tardifs avec les lysosomes.
20. Les M6P-Rs (mannose-6-phosphate-receptors).

En 1958, Palade découvre les ribosomes, constituants universels des êtres vivants. Cette découverte révolutionne nos connaissances du fonctionnement cellulaire. Les ribosomes libres synthétisent les protéines cellulaires. Cette synthèse est, en quelque sorte, une fonction d'assimilation qui, au travers de la protéogenèse, permet à la cellule de reconstituer sa propre substance, en synthétisant ces macromolécules caractéristiques (spécifiques) de l'espèce que sont les protéines. La cellule élabore aussi, grâce à l'association ribosome/réticulum endoplasmique (découvert par Porter, Claude et Fulham en 1945), des protéines qu'elle déverse dans le milieu extracellulaire, après un passage obligatoire par l'appareil de Golgi.

Les ribosomes

Les ribosomes sont des particules compactes, constituées de ribonucléoprotéines, accolées ou non à la face externe des membranes du réticulum endoplasmique, qui assurent la synthèse des protéines en assemblant des acides aminés dans un ordre prédéterminé par l'ADN.

Forme

La forme des ribosomes est universelle. En coupe longitudinale, ils sont légèrement elliptiques. Ils sont constitués par deux sous-unités de taille inégale et de forme différente.

Architecture des ribosomes

Chez les Procaryotes, la forme des ribosomes a été étudiée avec les techniques de coupes en série en microscopie électronique et de reconstitution à partir de ces coupes. La forme des ribosomes chez les Eucaryotes est extrêmement voisine.

Le coefficient de sédimentation des ribosomes des Procaryotes est de 70 S pour le ribosome entier (50 S pour la grande sous-unité, 30 S pour la petite); chez les Eucaryotes, il est de 80 S (60 S pour la grande sous-unité, 40 S pour la petite).

Un ribosome possède *trois sites de liaison* :

- un site de liaison pour l'ARN messenger,
- un site P qui intervient dans la liaison du peptidyl-ARNt,
- un site A qui intervient dans la liaison de l'aminoacyl-ARNt.

Les sites A et P sont très voisins lors de l'autre : cette proximité oblige les anticodons des molécules d'ARNt à s'apparier à des codons contigus de l'ARN messenger.

Les techniques de microscopie immuno-électronique ont permis, en utilisant des anticorps spécifiques, de localiser, à la surface des sous-unités, un certain nombre d'activités enzymatiques.

Les descriptions classiques, désormais abandonnées, décrivaient, sur la grande sous-unité : un site peptidyle, un site aminoacyle.

■ La petite sous-unité

Chez la bactérie *Escherichia coli*, la *petite sous-unité* est allongée : elle mesure 5,5 nm sur 20 nm d'épaisseur ; elle est ellipsoïde, possède une extrémité en forme de tête, une portion rétrécie ou cou, un corps formé par une structure lamellaire épaisse, le plateau ou la plate-forme (fig. 8.1).

La petite sous-unité contient :

- les *deux sites de liaison des ARNr* qui sont localisés dans une crevasse située entre la plate-forme et le tiers supérieur ;
- le *site de fixation de l'ARN messager*.

Avec l'extrémité de l'ARNr 16 S, ces sites sont situés dans une région en forme de plate-forme localisée entre la partie la plus haute et la partie la plus basse de la sous-unité 30 S. L'ARNr 16 S joue, avec les ARNr 5 S et 23 S, un rôle central dans la synthèse des protéines. Ainsi une séquence de l'ARN ribosomal 16 S sélectionne le site d'initiation sur l'ARN messager.

La petite sous-unité se loge dans la concavité supérieure de la grande sous-unité.

■ La grande sous-unité

La *grande sous-unité* (en moyenne 20 nm de largeur, 22 nm de hauteur et 15 nm d'épaisseur) possède trois bras (encore appelé digitations ou protubérances). Un de ces bras forme le dossier de cet organe, qui aurait ainsi la forme d'un fauteuil, les deux autres bras moins épais correspondant aux accoudoirs.

Fig 8.1

Structure du ribosome.

A. Petite sous-unité. 1. Plate-forme ou plateau. 2. Les deux flèches indiquent le site aminoacyl et le site peptidyle situés dans le sillon limité par la plate-forme et le tiers supérieur de la petite sous-unité. 3. Tête. 4. Cou.

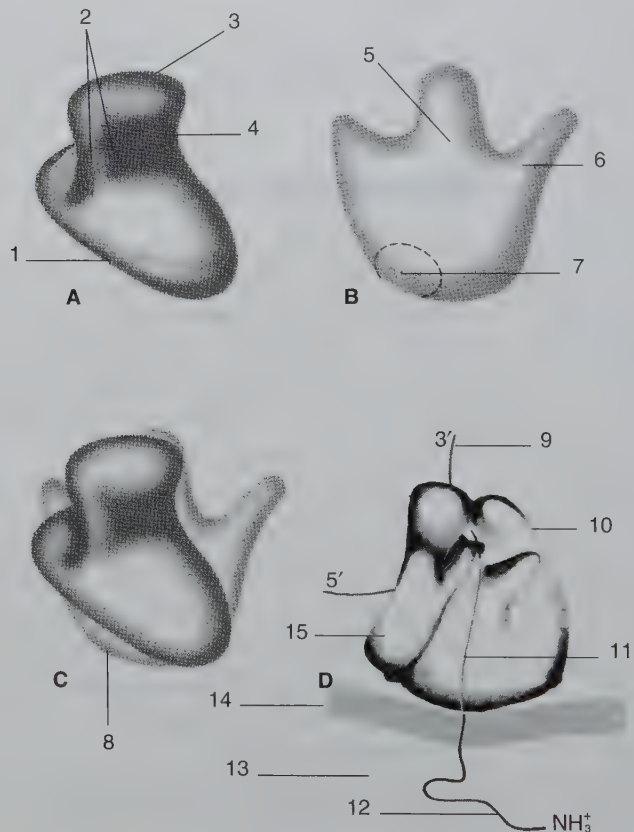
B. Grande sous-unité. Noter l'existence des trois protubérances digitiformes.

5. Peptidyl-transférase.

6. GTPase. 7. Site de sortie.

C. Ribosome : disposition des deux sous-unités l'une par rapport à l'autre. 8. Site de sortie

D. Ribosome traduisant un ARNm. 9. ARNm. 10. Grande sous-unité. 11. Segment de protéine néosynthétisée située dans le tunnel de la grande sous-unité. Il comprend 35 acides aminés. 12. Extrémité amino-terminale de la protéine en cours de synthèse. 13. Cavité du REG. 14. Membrane du REG. 15. Petite sous-unité. (L. STRYER, *La biochimie*, Flammarion Médecine-Sciences.)



La grande sous-unité contient (fig. 8.1) :

- le *site peptidyl-transférase* localisé entre les deux protubérances de la grande sous-unité; la peptidyl-transférase catalyse la formation de la liaison peptidique;
- le *site GTPasique* situé à la base d'une protubérance digitiforme: les déplacements de l'ARN messager et de l'ARN de transfert sont tributaires de l'énergie fournie par l'hydrolyse de GTP;
- le *site de sortie* qui est situé à gauche de la base de la grande sous-unité. Le site de sortie est l'ouverture d'un tunnel qui traverse verticalement la grande sous-unité: sa longueur est de 35 résidus aminés.

Cette grande sous-unité est aussi perforée de deux canaux, dont un seul paraît complet. Il fait communiquer la portion du siège du fauteuil, située en avant du dos et entre les accoudoirs, avec la face dorsale de la grande sous-unité.

Les ribosomes traduisent en protéines les informations transportées par les ARNm. La petite sous-unité a trois sites de liaison: un pour l'ARNm, un site peptidyl-ARNt et un site aminoacyl-ARNt.

Composition

Les ribosomes sont formés par l'association d'acides nucléiques et de protéines.

■ Les ARN ribosomaux

Dans les cellules procaryotes, la grande sous-unité contient un ARNr 5 S et un ARNr 23 S, la petite sous-unité un ARNr 16 S.

Dans les cellules eucaryotes, la grande sous-unité contient trois types d'ARNr: un ARNr 28 S, un ARNr 5,8 S, un ARNr 5 S. La petite sous-unité renferme un ARNr 18 S.

Le rôle des ARN ribosomaux est encore mal connu.

■ Les protéines ribosomales

La structure des diverses protéines qui constituent les ribosomes est connue et il est même possible de reconstituer un ribosome en associant les protéines et les ARNr. Il ne semble pas que l'assemblage des protéines soit spontané: il dépend plutôt d'un agencement programmé.

Les protéines S

Les protéines S (short) de la petite sous-unité reconnaissent l'ARNm.

Les protéines L

33 protéines, L1 à L33, se répartissent dans la grande sous-unité.

Les protéines ribosomales S et L assurent de nombreuses fonctions qui permettent aux ribosomes de traduire les informations transportées par l'ARNm.

La protéogenèse

Les ribosomes décryptent l'ARNm et assemblent les acides aminés (protéogenèse). La protéogenèse est l'ensemble des réactions biochimiques qui, utilisant comme matériaux les acides aminés, aboutit à la formation de protéines.

■ **21 protéines**, désignées respectivement par la lettre **S** et un chiffre compris entre 1 et 21, d'un poids moléculaire de 30 à 40 kDa chacune, occupent la surface du ribosome. Elles entourent l'ARNr dont certaines séquences restent néanmoins accessibles. Les protéines S1, S4, S7, S11, S12, S13, S18, S21 reconnaissent et fixent l'ARNm. Il semblerait que l'ARNm soit maintenu par un canal antéro-postérieur qui traverse le col de la tête de la petite sous-unité. Ce canal débouche sur les sites A et P. Les sites A et P sont de nature protéique. Certaines protéines jouent le rôle de récepteurs aux facteurs d'élongation, tandis que d'autres contrôlent la rigueur de la traduction. Les protéines masquent la presque totalité de l'ARNr 16 ou 18 S (Procaryotes ou Eucaryotes). Toutes les protéines agissent en coopération. Par exemple, une zone regroupe les extrémités 3' et 5' de l'ARNm. Dans cette zone, 8 protéines ont été parfaitement identifiées. Il existe des protéines réceptrices à tous les facteurs de régulation de la synthèse protéique: l'appariement des codons et des anticodons est vérifié par la protéine S12. Elle contrôle la rigueur de la traduction. La streptomycine interagit avec S12 et bloque l'appariement codon/anticodon.

■ Les **protéines L** interviennent :

- dans la translocation en présence de GTP (fixé sur le ribosome), qui délivre l'énergie nécessaire au déplacement de l'ARNm et à la libération de l'acyl-ARNt;
- dans la fixation (protéines L7 et L12) d'un facteur d'élongation (EF-G);
- dans la formation d'une liaison peptidique entre la chaîne peptidique déjà formée et un nouvel acide aminé;
- dans la constitution d'un canal longitudinal, logeant la chaîne protéique en formation et la protégeant contre les enzymes protéolytiques.

■ Le code génétique

L'ADN est porteur des informations nécessaires à la mise en place d'un acide aminé en position correcte dans l'enchaînement polypeptidique. Mais il est situé dans le noyau, alors que la synthèse protéique se déroule dans le cytoplasme, grâce aux ribosomes qui associent les acides aminés les uns aux autres. Il est donc indispensable que l'information génétique nucléaire soit transférée au ribosome. Une molécule d'ARNm sert de messenger pour ce transfert. Les informations que contient l'ADN sont transcrites sous la forme d'une molécule d'ARNm.

Le ribosome a pour rôle essentiel de lire le message venant de l'ADN et de le traduire, cette traduction s'exprimant par la synthèse de protéines. L'information génétique est conservée sous la forme d'un *code* basé sur le fait que chaque brin d'une molécule d'acide nucléique est composé de séquences d'adénine, de cytosine, de guanine et de thymine (A, C, G, T). Les protéines sont constituées de 20 acides aminés différents.

Avec seulement quatre signes, A, C, G, T, la molécule d'ADN est capable, par l'intermédiaire des ARNm, d'ordonner en séquences précises les acides aminés. Le *code génétique* est constitué par des *triplets* (ou *codons*), groupes de trois bases prises parmi les quatre de l'ADN. Ces codons se succèdent tout au long du brin d'ADN (il existe 64 codons différents pour 20 acides aminés). L'ordre des codons préside à l'assemblage des acides aminés dans un ordre déterminé.

La traduction se fait grâce à une machinerie capable de lire la molécule d'ARNm et d'associer les acides aminés les uns aux autres. Cette machinerie nécessite la présence de molécules d'ARNt qui transportent, sous la forme d'aminocyl-ARNt, les acides aminés vers la molécule d'ARNm, aux codons duquel les ARNt s'associent *via* leur anticodon. Cette rencontre entre acides aminés, ARNt et ARNm a lieu au sein du ribosome.

■ La traduction de l'ARN messenger

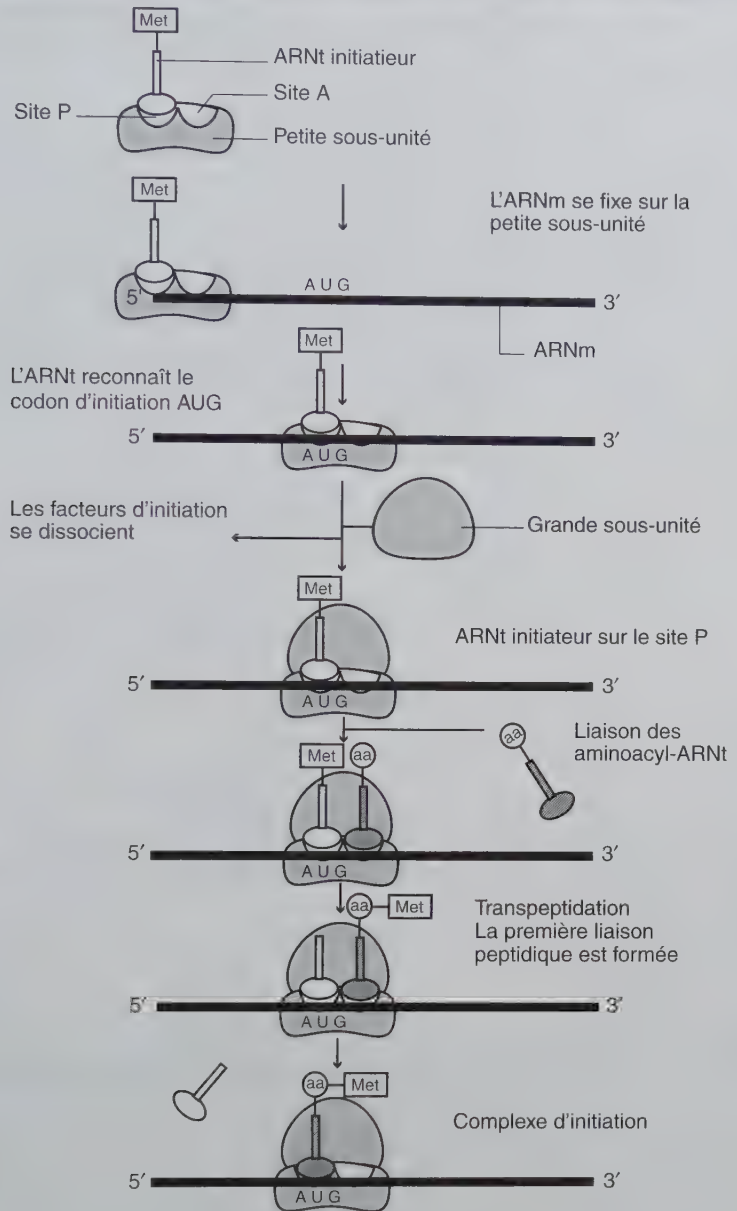
Les ARNt transportent les acides aminés et permettent leur assemblage dans l'ordre prévu par l'ARNm. Schématiquement, chaque ARNt transporte spécifiquement un acide aminé particulier fixé sur la branche acceptrice; cependant quelques acides aminés ont une spécificité moins étroite et se combinent à deux ou trois ARNt (toujours les mêmes), étant bien entendu que ces ARNt ne transportent qu'un seul acide aminé à la fois. Ceci correspond au fait qu'il existe 64 codons différents pour 20 acides aminés.

L'acide aminé à transporter se fixe sur l'ARNt grâce à une *aminoacyl-synthétase*. Il existe autant d'aminocyl-ARNt-synthétases que d'acides aminés (c'est-à-dire 20). Chaque aminocyl-synthétase peut reconnaître un ou plusieurs ARNt (au maximum 6). Dans un premier temps, elle se lie à l'acide aminé pour constituer un complexe. Ce complexe se combine, par *complémentarité stérique*, à un ARNt et fixe, sur l'extrémité 3', l'acide aminé qu'il transporte. L'aminocyl-ARNt ainsi formé se libère du complexe et peut alors participer à la traduction. Il se fixe, par son anticodon, sur le codon de l'ARNm occupant le site A et joue donc un rôle d'adaptateur spécifique.

Phase d'initiation (fig. 8.2)

L'ARNt initiateur se fixe sur le site P. — La synthèse d'une nouvelle chaîne protéique dépend de la fixation d'un ARNt initiateur (aminocyl-ARNt) sur le site P. Or le site P est destiné à fixer les molécules de peptidyl-ARNt. Cet acide aminé initiateur porte toujours une méthionine chez les Eucaryotes (une aminocyl-méthionine chez les Bactéries).

Fig. 8.2
Protéogenèse chez les
Eucaryotes : initiation.



■ Chez les Procaryotes, l'ARNm se fixe sur la petite sous-unité en présence de Mg^{++} et de facteurs d'initiation (IF1, IF2, IF3) ainsi qu'un acide aminé formylé initiateur, transporté par l'ARNt^{Met}, le formyl-méthionyl-ARNt^{Met}. Chez les Eucaryotes, un complexe de préinitiation est formé en l'absence de l'ARNm : eIF2 et l'acide aminé initiateur, le Mét-ARNt^{Met} non formylé, s'associent à la petite sous-unité. L'ARNm (associé à eIF-4A, eIF-4B et la Cap-binding protein I) est abordé par le complexe de préinitiation à partir de la coiffe 5'.

L'ARNt initiateur se fixe sur la petite sous-unité. — La molécule d'ARNt initiateur se fixe sur la petite sous-unité ribosomale avant l'ARN messager. Le facteur d'initiation eucaryote 2 (eIF2 [eucaryotic initiation factor; facteur d'initiation eucaryote]) est indispensable à la fixation de l'ARNt initiateur. Dès que l'ARNt initiateur s'est combiné à la molécule de méthionine, une molécule eIF2 se fixe fortement à lui. Ainsi la molécule eIF2 contrôle le taux global de la synthèse.

La petite sous-unité ribosomale guide l'ARNt initiateur afin qu'il puisse trouver le codon de départ de la synthèse (par exemple AUG) sur l'ARN messager.

Association avec la grande sous-unité ribosomale. — Dès que la petite sous-unité est fixée à l'ARN messager, au niveau du codon de départ, et que l'ARNt

initiateur est associé au site P, la grande sous-unité se lie à la petite sous-unité. Le complexe d'initiation est alors formé. Un aminoacyl-ARNt (aa-ARNt) se fixe sur le site A.

Une *transpeptidation*, déterminée par la peptidyl-transférase, transfère la méthionine au radical aminé libre de l'acide aminé aa pour former la méthionine-aa. Cette transpeptidation nécessite des ions K^+ . L'ARNt situé sur le site A devient ainsi porteur de la méthionine-aa. L'ARNt, qui était porteur de la méthionine, est libéré : cette libération s'effectue en présence du facteur d'élongation EF2 (elongation factor; facteur G ou translocase) et au prix de l'hydrolyse d'une nouvelle molécule de GTP. En même temps, un mouvement de l'ARNm et du ribosome l'un par rapport à l'autre (translocation) place le mét.-aa-ARNt (le peptidyl-ARNt) au site P, tandis que le codon suivant se place au site A. L'ARNt porteur d'un autre acide aminé se fixe sur ce codon.

Élongation

Au cours de la phase d'élongation, les ARNt chargés de leur acide aminé reconnaissent et se fixent sur le codon correspondant de l'ARNm occupant le site A (fig. 8.3).

Chez les Procaryotes, un complexe Tu/Ts [EF-Tu et EF-Ts (E : elongation; F : factor; T : temperature; u : unstable; s : stable)] assure la fixation de chaque

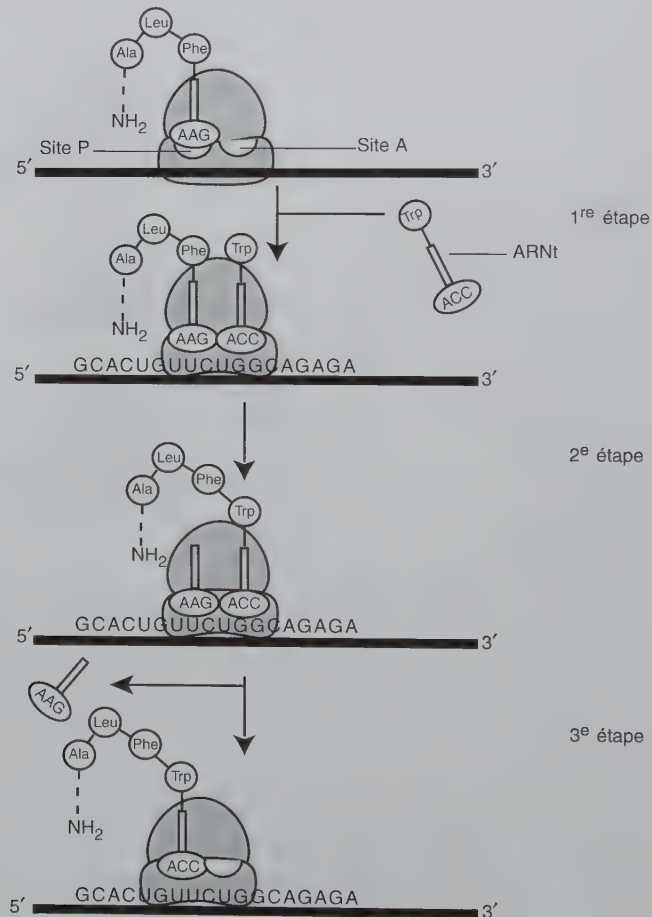
Fig. 8.3

Protéogenèse chez les Eucaryotes : phase d'élongation.

1^{re} étape : un aminoacyl-ARNt (ARNt porteur du tryptophane par exemple) se fixe sur le site A.

2^e étape : une liaison peptidique réunit la phénylalanine et le tryptophane.

3^e étape : le ribosome se déplace d'une longueur d'un codon et expulse la molécule d'ARNt dont l'anticodon était AAG.



aminoacyl-ARNt au ribosome. Un complexe TuGTP activé s'attache à la boucle TyCG des ARNt. Le GTP est ensuite hydrolysé. Le cycle recommence avec la réactivation de TuGDP en TuGTP par Ts qui joue le rôle de facteur d'échange (du GDP pour du GTP).

Chez les Eucaryotes, les protéines Tu, Ts sont remplacées par les facteurs d'élongation EF1 et EF2 β . Dès qu'un nouvel aminoacyl-ARNt est disposé au site A (par exemple le phénylalaninyl-ARNt), la méthionine s'associe à ce nouvel acide aminé et forme un peptidyl-ARNt-phénylalanine. À ce stade, le peptidyl-ARNt est fixé au site A du ribosome, qui se déplace d'un codon en direction du Mét-ARNt^{Mét} sur la chaîne de l'ARNm.

La catalyse (par les facteurs d'élongation chez les Bactéries, EF2 et EF2 β chez les Eucaryotes) de la translocation utilise l'énergie libérée par l'hydrolyse de GTP. Cette translocation expulse, du site P, l'ARNt déchargé (c'est-à-dire non fixé à l'acide aminé qu'il transportait) et y accueille le peptidyl-ARNt.

Cette suite d'événements se répète à chaque addition d'un acide aminé à la chaîne en croissance. Deux molécules de GTP sont ainsi consommées : une dans la mise en place de l'ARNt, l'autre dans la translocation de la chaîne à chaque insertion d'un acide aminé. Reconnu, le complexe EF1-GTP-peptidyl-ARNt se lie alors au codon suivant d'ARNm, au niveau du site A, au prix de l'hydrolyse de la molécule de GTP en GDP + Pi.

Une succession de transpeptidations et de translocations aboutit à la synthèse d'une protéine.

Arrêt de la synthèse

Cette synthèse s'arrête lorsque le *codon de fin de lecture* UAA (ou UAG ou UGA) apparaît sur le *site de reconnaissance A* (fig. 8.4). La protéine est libérée grâce à un facteur RF (releasing factor; facteur de libération) et le ribosome est dissocié en ses sous-unités. Cette phase de dissociation nécessite l'hydrolyse de GTP en GDP + Pi, qui libère l'énergie nécessaire.

Les informations transmises par l'ADN sont codées sous la forme d'une succession de groupes de trois bases (triplet ou codon). L'ARNm, qui a une forme complémentaire du gène, est lu par le ribosome. Les ARNt qui transportent les acides aminés (en principe un par acide aminé) reconnaissent les codons par leur anticodon. La lecture de l'ARNm est précédée par la formation du complexe d'initiation. En effet, l'ARNm se fixe sur la petite sous-unité, isolée, en même temps qu'un acide aminé initiateur, la méthionine transportée par l'ARNt^{Mét}. La grande sous-unité rejoint ce complexe et un ribosome fonctionnel est formé. Un autre ARNt, transportant l'acide aminé suivant (designé par aa), se fixe sur le site A. Une peptidyl-transférase transfère la méthionine (transpeptidation) sur le radical aminé libre de l'acide aminé aa, pour former la méthionine-aa. Le ribosome se déplace le long de la molécule d'ARNm (translocation) : le mét.-aa-ARNt (le peptidyl-ARNt) occupe alors le site P et un autre codon occupe le site A. Un ARNt porteur d'un autre acide aminé se fixe sur ce codon. Une nouvelle transpeptidation, suivie de translocation en présence de facteurs d'élongation, se produit. La protéine néoformée s'allonge ainsi par alternance de transpeptidation et de translocation jusqu'à la lecture d'un codon stop (UAA, UAG ou UGA).

Les polysomes

Les polysomes sont des formations constituées par une molécule d'ARNm, sur laquelle se fixent plusieurs ribosomes (fig. 8.5).

Fig. 8.4
 Protéogénèse chez les
 Eucaryotes : fin de la synthèse
 protéique.

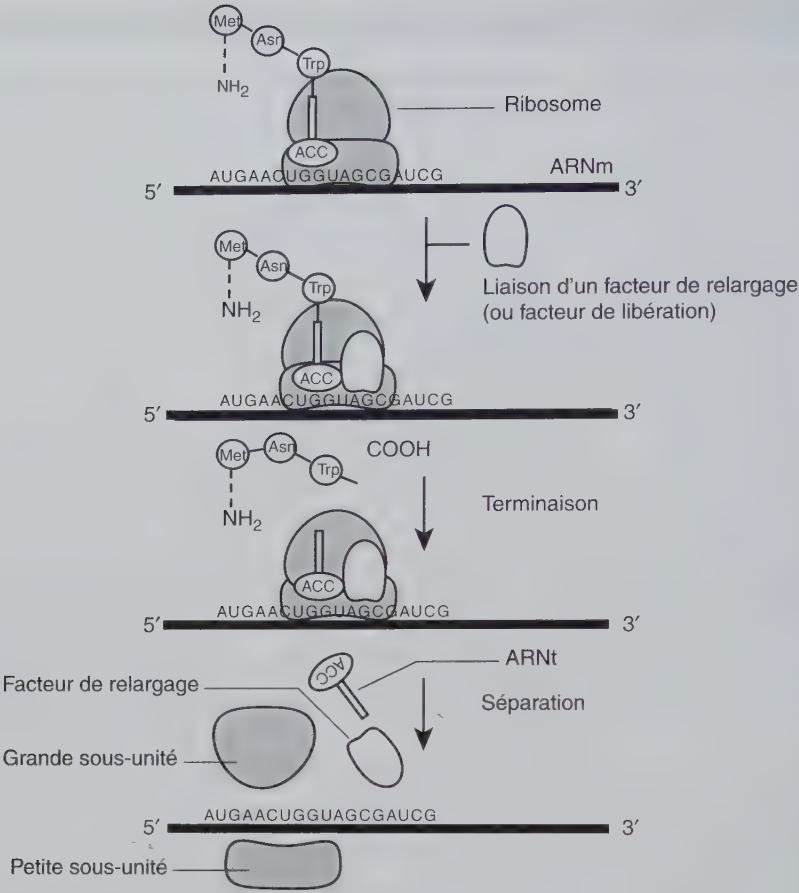
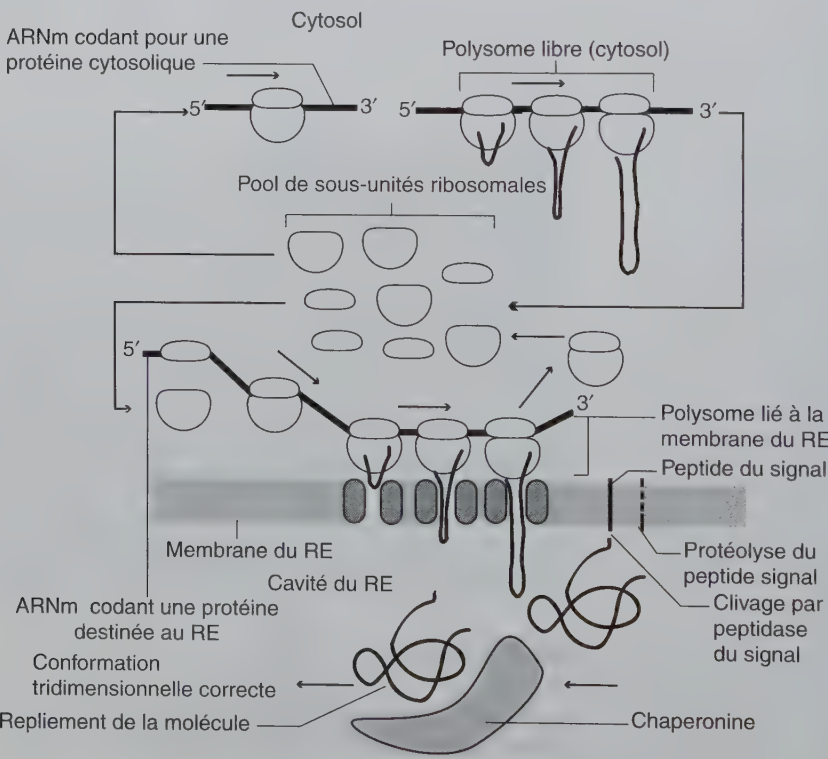


Fig. 8.5
 Polyribosomes liés à la
 membrane du RE et poly-
 ribosomes libres.



Plusieurs ribosomes lisent en même temps la molécule d'ARNm et forment des polysomes. Ils sont :

- libres dans le cytosol,
- ou fermement attachés aux membranes du réticulum endoplasmique.

■ Les polysomes libres

Les polyribosomes libres dans le cytosol élaborent des protéines destinées à la cellule et à ses organites. Ainsi, ils élaborent des protéines destinées au cytosol (par ex. les protéines de la glycolyse ou les protéines du cytosquelette), les protéines périphériques de la face cytosolique de la membrane plasmique, les protéines des mitochondries, des peroxysomes, de l'appareil de Golgi, etc.

Une molécule d'ARNm est en général lue simultanément par un grand nombre de ribosomes distants de 5 à 15 nm.

Les ribosomes et la molécule d'ARNm établissent des rapports étroits (la zone de contact sur la sous-unité a une longueur d'une dizaine de nanomètres : chaque sous-unité entre en contact avec 25 à 30 nucléotides de la molécule d'ARNm).

En fin de synthèse, les ribosomes des polysomes se séparent en leurs deux sous-unités.

■ Les polysomes liés au REG

Les polysomes liés à la membrane du réticulum endoplasmique élaborent les protéines à destinée extracellulaire et également des protéines membranaires intrinsèques.

■ Sens de synthèse des protéines

Les protéines sont synthétisées de l'extrémité amino-terminale à l'extrémité carboxy-terminale. L'extrémité amino-terminale est donc synthétisée la première. Ceci a été mis en évidence par les techniques de marquage pulsé, pratiqué sur des réticulocytes (hématies jeunes qui synthétisent activement l'hémoglobine). Des prélèvements d'hémoglobine, appartenant à des réticulocytes mis en présence de leucine marquée, montrent que les extrémités amino-terminales contiennent plus de leucine marquée que les extrémités carboxy-terminales.

■ Le réticulum endoplasmique

Le RE est un ensemble de cavités (soit tubulaires, soit en forme de citerne), occupant 10 à 15 % du volume cellulaire, isolé du cytosol par une membrane recouverte ou non par des ribosomes, responsable des biosynthèses des protéines ou de phospholipides (fig. 8.6).

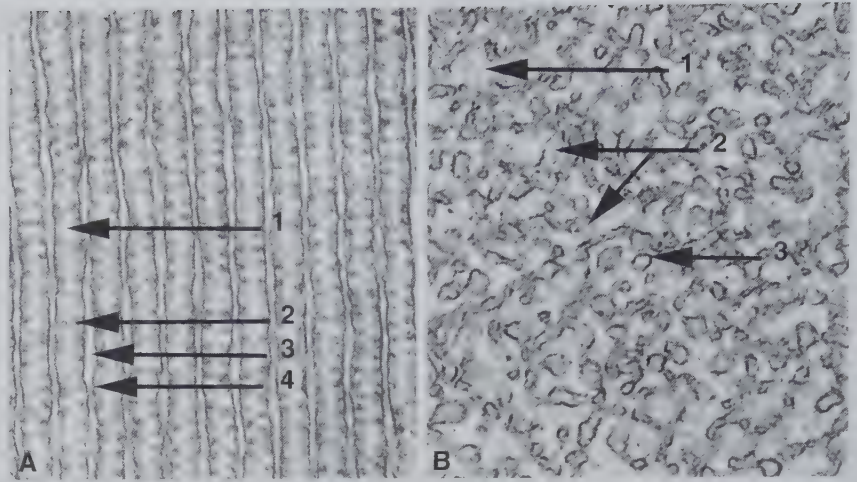
Structure

Lorsque les ribosomes s'accrochent contre le feuillet externe de la membrane, le réticulum endoplasmique lisse (REL) devient le réticulum endoplasmique granulaire (REG).

Le REL synthétise des stéroïdes, des lipides. Le REG forme des protéines destinées à la cellule ou à l'exportation (sécrétion).

Fig. 8.6

Réticulum endoplasmique.
A. Réticulum endoplasmique granulaire. 1. Cytosol. 2. Ribosome. 3. Lumière du réticulum endoplasmique granulaire. 4. Membrane du réticulum endoplasmique granulaire.
B. Réticulum endoplasmique lisse. 1. Cytosol. 2. Lumière du réticulum endoplasmique lisse. 3. Membrane du réticulum endoplasmique lisse.



Le REL et le REG cohabitent dans la même cellule : dans l'hépatocyte, le REL constitue 1/3 et le REG 2/3 de l'ensemble du RE.

■ Composition membranaire

Les techniques d'ultracentrifugation différentielle isolent la membrane du RE sous la forme de petites vésicules, les *microsomes*, recouvertes ou non de ribosomes. Les techniques de cryofracture montrent que la quantité de protéines, dans ces cytomembranes, est inférieure à celle de la membrane plasmique.

L'analyse biochimique de ces membranes (traitées préalablement par la ribonucléase pour éliminer les ribonucléoprotéines) révèle que les membranes du RE n'ont pas la même composition que la membrane plasmique; elles contiennent 30 % de lipides, 70 % de protéines et la quantité de sucre est négligeable.

La membrane du RE contient :

- les enzymes nécessaires à la synthèse des protéines, au métabolisme des lipides, aux phénomènes de détoxification. Le cytochrome P450, qui intervient dans les mécanismes de détoxification, est une protéine intrinsèque : son site actif se localise sur la face cytosolique; sa réduction se fait par la P450 réductase qui est un cofacteur. Il existe un cofacteur pour 15 cytochromes.
- les enzymes intervenant dans le transfert des sucres sur les protéines, les glycosyltransférases (enzymes de glycosylation), situées sur la face luminale.
- les enzymes intervenant dans la synthèse des stéroïdes et la biosynthèse des phospholipides (synthétisés dans le REL).

La membrane du RE contient aussi des lipides : ils sont poly-insaturés. Cette poly-insaturation se traduit par une diminution de la longueur des chaînes d'acides gras. Le pourcentage de sphingomyélines est très bas, il y a moins de glycolipides. Le pourcentage de cholestérol est plus bas que dans la membrane plasmique, d'où une augmentation considérable de la fluidité de ces membranes.

■ Asymétrie de la membrane

Des molécules glucidiques, glycoprotéiques et glycolipidiques entrent en rapport avec la face luminale.

La glucose-6-phosphatase et la nucléoside-phosphatase sont des protéines intégrées sur la face luminale, tandis que le cytochrome P450 est transmembranaire et que le cytochrome b_5 et les deux réductases (la cytochrome P450-réductase et la cytochrome b_5 -réductase) sont situés sur la face cytosolique.

Le REG et le REL sont deux formes du RE qui diffèrent par la présence ou l'absence de ribosomes accolés aux membranes et l'aspect des cavités limitées (cisternes ou tubules). Les membranes du RE contiennent des enzymes (en rapport avec la synthèse protéique ou lipidique, la détoxification, le transfert des sucres). La membrane est asymétrique : la face luminale est limitée par des glycoprotéines ou glycolipides, la face cytosolique contient des réductases.

Translocation des protéines néosynthétisées dans la lumière du RE

La transcription et la translocation des protéines destinées au RE s'effectuent de la manière suivante (voir fig. 8.5 ; 8.7 et 8.8) :

Le ribosome, formé par l'association de la petite sous-unité, de l'ARNm et de la grande sous-unité commence à synthétiser une protéine qui porte, à son extrémité amino-terminale, un signal peptidique hydrophobe d'adressage au RE.

Le signal peptidique est reconnu par une SRP (small recognition particle; petite particule de reconnaissance). Une SRP est un complexe ribonucléoprotéique, formé par un ARN 7 S associé à des protéines, qui fait la navette entre la membrane du RE et le cytosol : il s'associe au signal peptidique dès que celui-ci émerge de la grande sous-unité. La SRP se fixe alors sur le site A de la grande sous-unité et bloque temporairement la transcription jusqu'à ce que la sous-unité soit fixée sur le RE.

Fig. 8.7
Début de la synthèse d'une protéine.

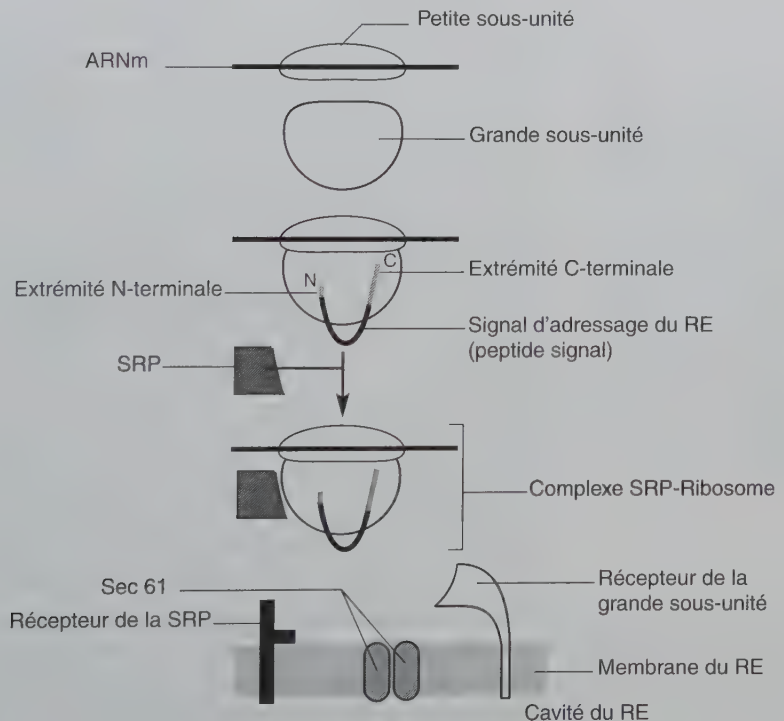
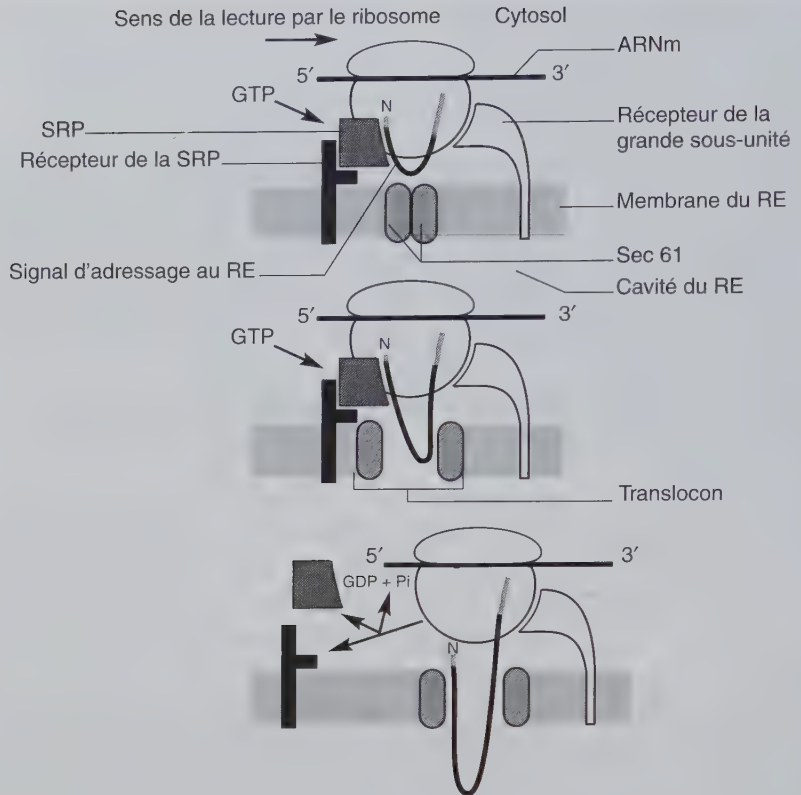


Fig. 8.8
Translocation d'une protéine
dans le RE.



■ Cette molécule transmembranaire, le **translocon** possède un pore interne d'un diamètre de 4 à 6 nm. Elle est constituée chez *S. cerevisiae* par 3 à 4 copies d'un complexe hétérotrimérique de Sec61 (secretion; sécrétion). Comme cette protéine de translocation possède un pore, il est facile de penser que le translocon ne sert qu'au passage de la molécule. En réalité, le translocon orchestre aussi la localisation, l'orientation, la maturation et éventuellement la dégradation des chaînes naissantes.

La SRP agit comme une étiquette et permet à l'ensemble SRP/ribosome de s'unir au récepteur de la SRP, une protéine intrinsèque de la membrane du RE. Cette liaison est GTP-dépendante.

Le ribosome se fixe par sa grande sous-unité à un récepteur membranaire du RE, le récepteur du ribosome. La grande sous-unité du ribosome repose alors sur un transporteur de protéine transmembranaire du RE, le **translocon**.

Le pore interne du translocon est aqueux : il est situé au-dessous de la grande sous-unité qui l'obture partiellement.

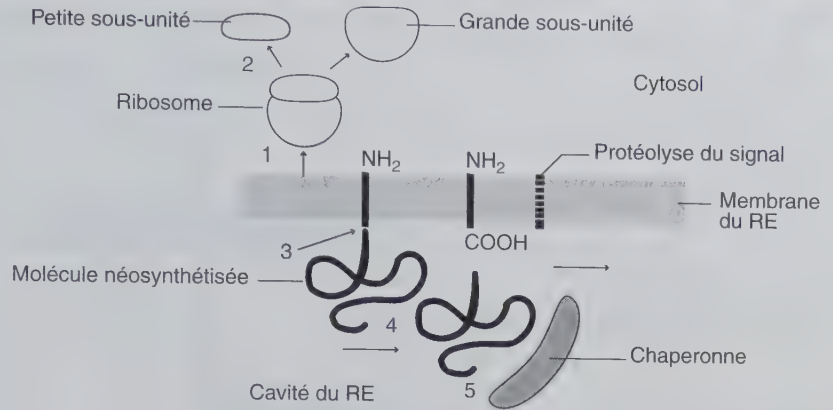
Dès que le ribosome est fixé sur la membrane du RE, la SRP se sépare de la séquence signal (cette séparation nécessite l'union de GTP à une protéine G) et également du site A et du récepteur de la SRP. Cette séparation SRP/récepteur de la SRP autorise le début de la translocation (passage à travers la membrane du RE par le translocon) : elle dépend de l'hydrolyse de GTP lié.

L'extrémité 5' de la molécule protéique en cours de synthèse se fixe sur un des éléments de la membrane du RE, tandis que le peptide signal demeure dans le pore de translocation. L'élongation de la protéine et, probablement, une machinerie de translocation poussent la boucle protéique dans le RE, au fur et à mesure que la biosynthèse progresse. Cette translocation est co-traductionnelle (elle se déroule en même temps que s'effectue la traduction). Elle est ATP-dépendante.

À la fin de la traduction, le peptide signal est éliminé du pore de translocation mais demeure intramembranaire. Une peptidase sépare le signal du reste de la molécule (fig. 8.9). Cette excision marque donc la fin de la synthèse et le début du transfert de la molécule protéique néoformée dans le RE. Les ribosomes se déta-

Fig. 8.9

Fin de la translocation. 1. Le ribosome se sépare de la membrane. 2. Les sous-unités se dissocient. 3. La peptidase du signal sépare le signal du reste de la molécule. 4. Repliement de la molécule néosynthétisée. 5. La chaperonne donne aux protéines leur conformation définitive.



chent de la membrane : leurs deux sous-unités se séparent et gagnent un pool. Elles pourront éventuellement être réutilisées pour de nouvelles synthèses.

Les protéines synthétisées sont en général glycosylées au cours de la traduction (la glycosylation est co-traductionnelle).

■ Devenir des protéines intramembranaires

Certaines protéines élaborées par les ribosomes, accolés au RE, sont des protéines intramembranaires à traversée soit unique, soit multiple.

Protéines à traversée unique

Les protéines à traversée unique, en cours de synthèse, possèdent un peptide signal amino-terminal ou interne (fig. 8.10A). Lorsque le peptide signal est amino-terminal, il joue le même rôle que précédemment. Mais la protéine est aussi porteuse d'un *peptide de terminaison de transfert hydrophobe*, qui se fixe dans la membrane, immédiatement après le clivage du peptide signal. Ce peptide de terminaison de transfert, en forme d'hélice α , demeure dans la membrane : il se forme ainsi un segment transmembranaire, porteur d'une extrémité carboxy-terminale dans le cytosol et d'une extrémité amino-terminale dans la lumière du RE.

Lorsque le peptide signal est interne (c'est-à-dire compris dans la molécule), il est également reconnu par la SRP : le ribosome s'accôle à son récepteur sur le RE et synthétise la protéine ; mais le peptide signal ne joue pas, comme précédemment, un rôle de terminaison de transfert : il est un signal d'initiation de transfert qui se lie à la protéine au cours de la translocation. Si les acides aminés chargés positivement sont plus nombreux dans le segment protéique qui précède le signal d'initiation, la protéine est insérée dans la membrane du RE, de telle sorte que l'extrémité amino-terminale est située dans le cytosol et l'extrémité carboxy-terminale dans la lumière du RE. Par contre, si les acides aminés chargés positivement sont surtout localisés après le signal d'initiation, c'est l'extrémité carboxy-terminale qui se situera dans le cytosol.

Protéines à traversées multiples

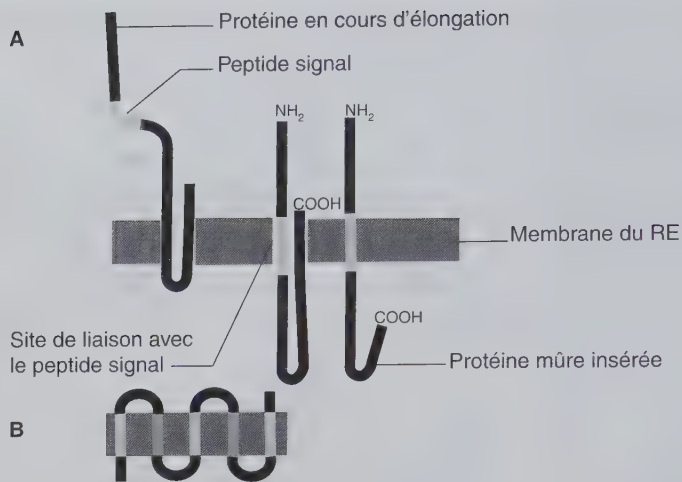
Les protéines à traversées multiples décrivent, entre les segments intramembranaires, des boucles, alternativement dans le cytosol et dans la lumière du RE. Ces protéines contiennent plusieurs peptides signal internes qui jouent le rôle d'initiateur de transfert et, alternativement en fonction de leur position, un rôle

Fig. 8.10

Insertion d'une protéine dans la membrane du RE.

A. Protéine à traversée unique possédant un signal d'adressage interne (non situé à l'extrémité).

B. Protéine à passages multiples : le signal est répété tout au long de la molécule; ces signaux jouent, en alternance, le rôle de peptide d'initiation de la translocation et de terminaison du transfert.



d'initiateur ou de terminaison de la translocation (fig. 8.10B). Ces séquences peptides signal se succèdent tout au long de la molécule. La première séquence rencontrée initie la translocation, une boucle pénètre dans le RE : au moment où la seconde séquence passe dans le translocon, la translocation s'arrête, de telle sorte que le segment protéique qui lui succède reste dans le cytosol. Une troisième séquence agira comme facteur de translocation et ainsi de suite.

Les deux sous-unités du ribosome se réunissent immédiatement après la formation du complexe d'initiation. Le ribosome ainsi constitué reste libre dans le cytosol. La synthèse protéique commence. Une SRP se fixe sur un signal peptidique, localisé à l'extrémité amino-terminale de la protéine en cours de synthèse, et forme avec le ribosome un complexe. Ce complexe se lie au récepteur de SRP contenu dans la membrane du REG. Le ribosome se fixe sur le translocon (protéine membranaire du REG). La protéine en cours de synthèse, fixée par ses deux extrémités (carboxy-terminale sur le ribosome, signal peptidique dans la membrane du RE) décrit, en s'allongeant, une boucle qui pénètre dans le RE par le pore du translocon. En fin de synthèse, la protéine, fixée à la membrane uniquement par le peptide signal, est libérée dans la cavité du REG par une peptidase. Les protéines intramembranaires sont insérées dans la membrane du REG au cours de leur synthèse.

■ **La plupart des protéines du REG sont glycosylées**, qu'elles soient à destination endogène ou exogène (enzymes, protéoglycanes, etc.). Une classe majeure de glycoprotéines est caractérisée par des sucres liés au groupe OH de la sérine et de la thréonine. La O-glycosylation ne se produit que dans l'appareil de Golgi. Une seconde classe de glycoprotéines possède des sucres liés à l'asparagine par une liaison amide (liaison N-glycosidique). La biosynthèse de ces oligosaccharides, par N-glycosylation, s'effectue aussi bien dans le REG que dans l'appareil de Golgi. Ces oligosaccharides comprennent une N-acétylglycosamine, du glucose, du mannose et des résidus glucidiques. Les sucres, qui doivent participer à la glycosylation, sont activés (la N-acétylglycosamine par l'UDP, le mannose par GDP). La N-glycosylation nécessite une séquence spécifique d'acides aminés, Asn-X-Thr (ou Ser), dans laquelle X peut être n'importe quel acide aminé (excepté la proline et l'acide aspartique).

La N-glycosylation des protéines

Le RE assure la N-glycosylation des protéines (fig. 8.11, 8.12).

La glycosylation est l'ensemble des mécanismes qui assurent la transformation d'une protéine en une glycoprotéine.

■ Rôles de la glycosylation

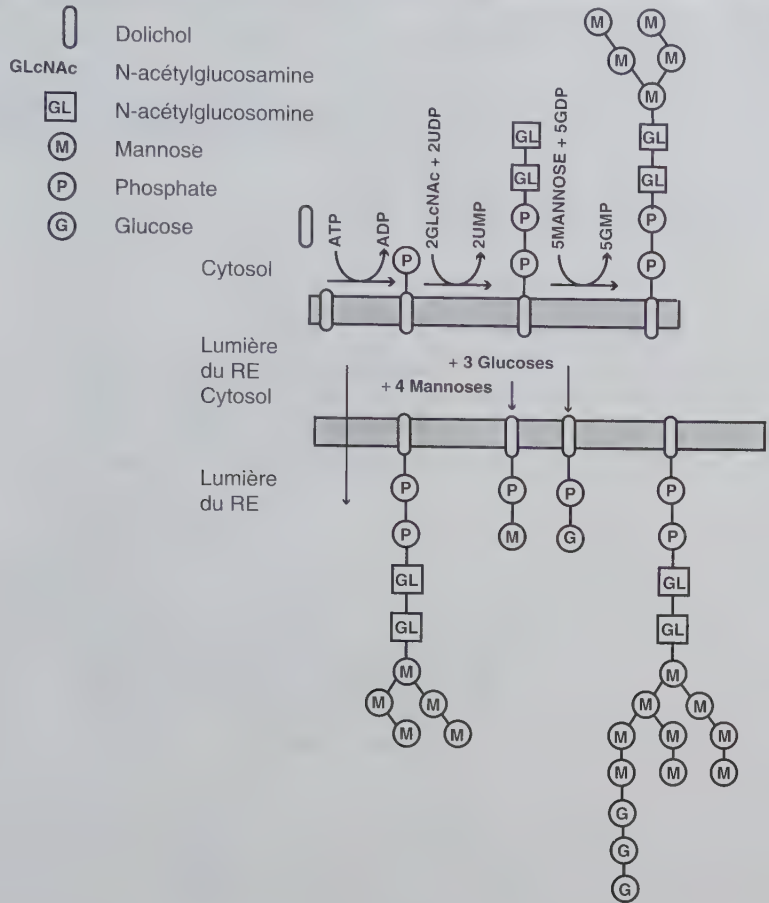
La glycosylation modifie la solubilité, la stabilité et la charge des protéines. Les groupes glucidiques des glycoprotéines servent de signaux de reconnaissance : ils interviennent dans le ciblage des protéines et la reconnaissance d'autres protéines et d'autres cellules.

■ Déroulement

Le *dolichol* est un acide gras à chaîne carbonée très longue, intramembranaire. Il est synthétisé dans le cytoplasme, puis inséré dans la membrane. La N-glycosylation débute par l'activation du dolichol par phosphorylation par l'ATP.

Fig. 8.11

Glycosylation : synthèse d'un oligosaccharide.



Glycosylation du dolichol

Le *dolichol phosphate* est localisé à la surface cytoplasmique du RE : il se combine à 2 résidus N-acétylglucosamine en présence de 2 UDP (qui libèrent deux phosphates) et forme le N-acétylglucosamine-pyrophosphoryl-dolichol, (GlcNAc)₂-P-P-dolichol. Sur cette molécule, 5 résidus mannose s'accrochent successivement et constituent un (Man)₅(GlcNAc)₂-pyrophosphoryl-dolichol (Man : mannose) : (Man)₅-(GlcNAc)₂-P-P-dolichol.

Cette molécule possède, grâce à ces additions de sucre, une arborisation sucrée qui s'épanouit sur la face cytoplasmique de la membrane du RE.

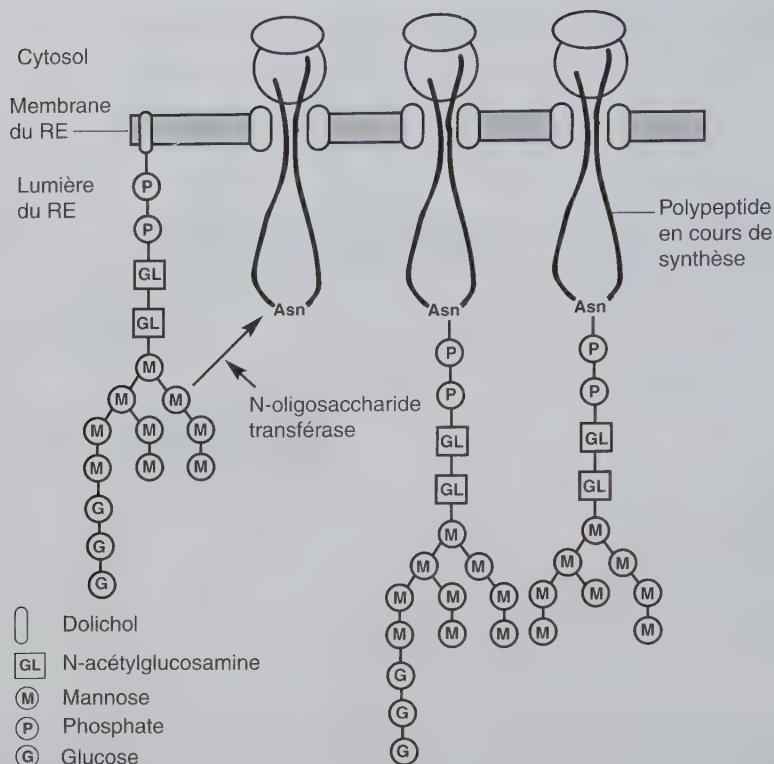
Le (Man)₅-(GlcNAc)₂-P-P-dolichol est ensuite réorienté vers la face luminale du RE, par un mouvement de flip-flop. Après cette réorientation, l'arborisation sucrée s'accroît encore par accrochage séquentiel de 4 résidus mannose, puis de 3 résidus glucose. Il se forme ainsi un *intermédiaire complet*, le (Glc)₃-(Man)₉-(GlcNAc)₂-P-P-dolichol.

Transfert des résidus sucrés sur la protéine

Elle se déroule en même temps que la protéine est synthétisée. L'arborisation sucrée est transférée du dolichol (fig. 8.12) sur le polypeptide en cours de synthèse, qui émerge de la membrane du RE dans la lumière. Ce transfert donne naissance à une glycoprotéine répondant à la formule : (Glc)₃-(Man)₉-(GlcNAc)₂-protéine.

Fig. 8.12

Transfert de l'oligosaccharide sur une protéine. La N-glycosylation est co-traductionnelle.



Des glucosidases du RE enlèvent 3 résidus mannose et 1 résidu glucose : $(\text{Glc})_3-(\text{Man})_9-(\text{GlcNAc})_2$ -protéine devient $(\text{Man})_8-(\text{GlcNAc})_2$ -protéine. La N-glycosylation s'achève dans l'appareil de Golgi.

Par contre la *O-glycosylation*, qui ne se déroule que dans l'appareil de Golgi, est post-traductionnelle et n'intéresse que des protéines complètement repliées.

Sites et ordre d'accrochage des sucres

Les sites et les types de glycosylation sont déterminés par la présence, sur la surface de la protéine, d'acides aminés appropriés, de séquences d'acides aminés, et également par la disponibilité des enzymes (l'ordre d'accrochage est déterminé par l'ordre d'intervention des glycosyltransférases) et des substrats afin de mener à bien les réactions de glycosylation.

■ Les glycoprotéines liées au glycosylphosphatidylinositol (GPI)

L'exocytose des vésicules de sécrétion, qui contiennent dans leur membrane les protéines N-glycosylées, permet l'incorporation de leur membrane dans la membrane plasmique, la face luminale étant tournée vers le milieu extracellulaire. La fraction protéique de la glycoprotéine est synthétisée, sous la forme d'une protéine, par des ribosomes libres dans le cytosol. Cette protéine est adressée au REG. Elle traverse la membrane par son extrémité amino-terminale : l'extrémité carboxy-terminale reste insérée dans la double couche lipidique. Elle subit alors une N-glycosylation, absolument superposable à ce qui a été décrit précédemment, puis acquiert une conformation repliée.

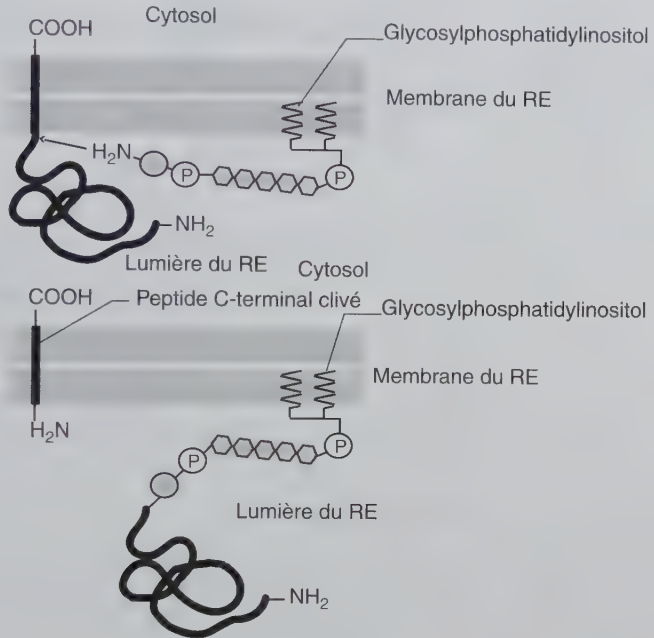
Les précurseurs cytosoliques de GPI s'organisent en un groupement glycosylphosphatidylinositol, sur la face externe de la membrane du REG (fig. 8.13). Un mouvement de flip-flop transporte la partie cytosolique de la molécule dans la lumière, tandis que la partie correspondant au phosphatidylinositol reste insérée dans la membrane.

Une peptidase sépare l'extrémité carboxy-terminale du reste de la protéine néosynthétisée.

La protéine, qui n'est plus insérée sur la face interne (luminale) de la membrane du RE, se lie sur le GPI.

Fig. 8.13

Protéine liée à la membrane par le GPI (glycosylphosphatidylinositol).



La N-glycosylation des protéines intervient dans la formation des glycoprotéines : elle se déroule dans le REG. La O-glycosylation a lieu entièrement dans l'appareil de Golgi. Les glycoprotéines du cell coat sont apportées à la membrane plasmique par exocytose. La fraction protéique, synthétisée hors du RE, est incorporée dans la membrane du REG. La glycosylation intéresse l'extrémité amino-terminale située dans la cavité du RE. GPI, qui fixera la glycoprotéine à la membrane plasmique, passe de la face cytosolique de la membrane à la face luminale et se lie à la glycoprotéine, qui a été libérée dans la cavité par une peptidase.

Repliement des protéines dans la lumière du RE

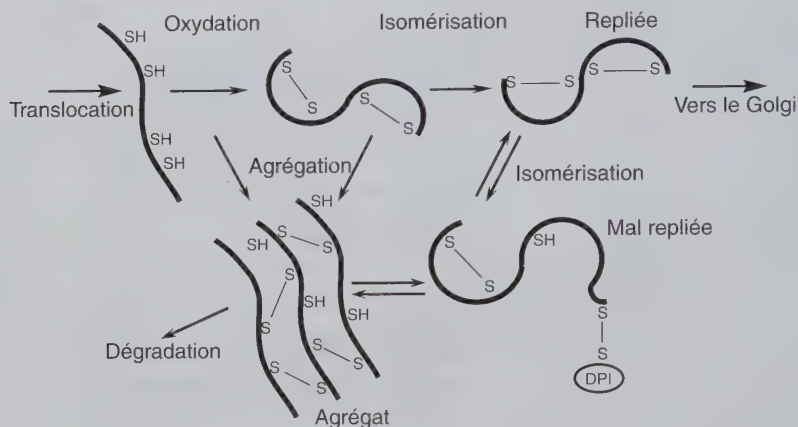
Le repliement des protéines néosynthétisées dépend soit d'une protéine enzymatique, la disulfure isomérase (DPI : disulfide protein isomerase), soit d'une protéine chaperonne, la BiP (Binding protein; protéine de liaison), soit de la calnexine et de la calréticuline.

■ La protéine DPI

La protéine DPI (fig. 8.14) contient des sites actifs, formés par une séquence aminée comprenant deux cystéines séparées par deux acides aminés (par exemple Cys-Gly-His-Cys : ces sites actifs sont capables de se lier aux cystéines de la molécule protéique néosynthétisée). DPI, grâce à l'environnement oxydant du RE, en présence

de glutathion et d'ATP, catalyse la formation de ponts disulfures : la formation de ces ponts se traduit par une oxydation, c'est-à-dire par la perte de 4 hydrogènes et la formation d'une liaison covalente unissant des groupes de deux molécules de cystéine. L'ATP nécessaire à la formation des ponts S—S est acheminé dans la lumière du RE par des protéines transporteuses, situées dans la membrane du RE. Mais DPI peut aussi provoquer l'isomérisation de molécules mal repliées ou la réduction (suppression d'un disulfure). Si DPI ne peut corriger une mauvaise conformation, les molécules constituent des agrégats qui sont très rapidement dégradés.

Fig. 8.14
Protéine DPI et repliement
des protéines nouvellement
synthétisées.



■ Les protéines porteuses d'oligosaccharides mal formées ne peuvent se replier. Les glycosidases I et II, contenues dans le RE, transforment les oligosaccharides des protéines mal formées en oligosaccharides monoglycosylés. Ces protéines se lient alors soit à la **calréticuline**, soit à la **calnexine** pour être entièrement déglycosylées. Les protéines partiellement repliées sont reglycosylées en présence de l'UDP-Glc transférase, puis forment un complexe avec la calnexine ou la calréticuline. Une fois correctement repliées, la glycosidase II les libère dans le RE. La calréticuline et la calnexine sont des protéines résidentes, porteuses d'un signal de rétention dans le RE, KDEL (séquence d'acides aminés formée par la lysine, l'asparagine, la glutamine et la leucine).

■ La protéine BiP

En présence d'ATP, la BiP (binding protein; protéine de liaison), une protéine chaperonne de la famille des Hsp, permet aux glycoprotéines d'acquies leur forme définitive. Elle pourrait aussi intervenir en conservant les protéines naissantes dans le RE, afin de permettre leur destruction par des protéases.

■ Les protéines calréticuline et calnexine (voir ci-contre)

Diverses protéines (DPI, BiP) replient les molécules protéiques du RE.

Le phénomène de translocation inverse

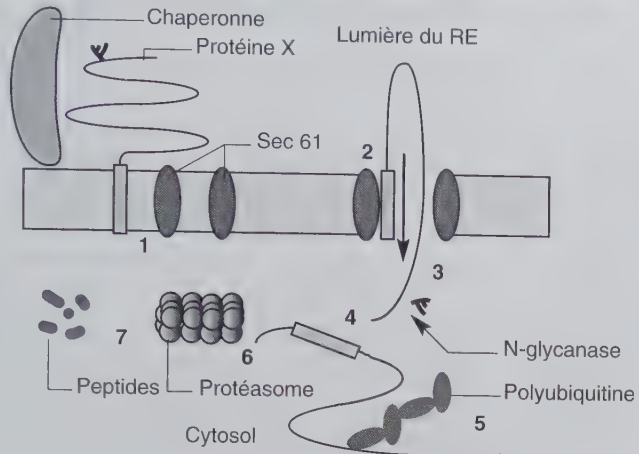
La translocation inverse correspond au passage, à travers le translocon, des protéines néosynthétisées du RE au cytosol.

■ Protéines destinées à la destruction

Dans des conditions normales, les protéines synthétisées, contenues dans le RE, peuvent être destinées à la destruction (protéines mal formées, protéines en quantité trop importante, etc.). Une molécule chaperonne du RE assure le transport rétrograde des protéines à détruire (fig. 8.15). Elles sont ramenées dans le cytosol, en passant à travers le translocon. Une fois exposées dans le cytosol, ces protéines sont rapidement dégradées, par la N-glycanase libérée à partir de la membrane du RE, et poly-ubiquitinylées. Le protéasome, un complexe protéolytique, les hydrolyse en de multiples petits peptides. Les détails de ces processus varient suivant les protéines.

Fig. 8.15

Translocation inverse. 1. Une chaperonne force l'association protéine X (néoformée) avec le translocon. 2. Translocation inverse du RE vers le cytoplasme. 3. Déglycosylation par la N-glycanase. 4. Libération de la protéine dans le cytosol. 5. Polyubiquitinylation. 6. Ciblage vers le protéasome. 7. Dégradation.



■ Devenir des peptides provenant de la protéolyse

Les protéines cytosoliques usées, qui doivent être renouvelées, sont détruites par les protéasomes. Cette protéolyse libère des peptides pouvant avoir une activité antigénique.

Ces peptides sont transloqués dans le RE par des protéines porteuses, les TAPs (transporter in antigen processing; transporteur impliqué dans la présentation antigénique) (fig. 8.16).

■ Les **TAPs** appartiennent à une grande famille de transporteurs à traversées membranaires multiples liée à l'ATP, les ABCs (ATP-binding cassette).

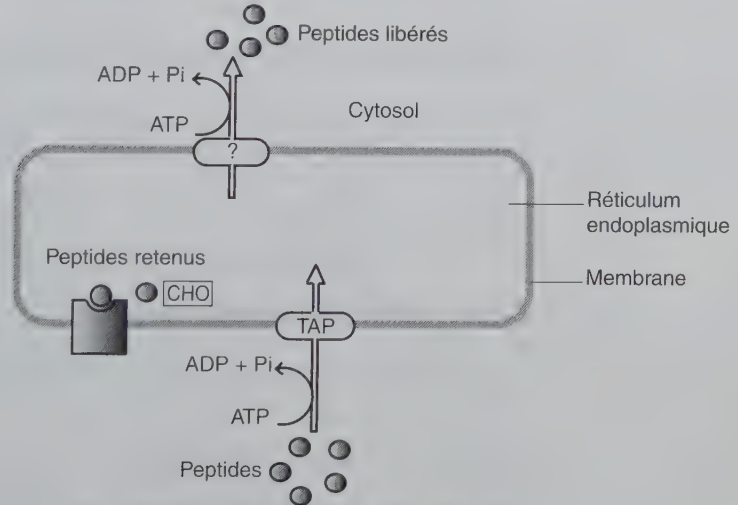


Fig. 8.16

Translocation, par les TAPs, de peptides nucléaires ou cytoplasmiques dans le RE.

■ **Au soi** : c'est-à-dire à l'organisme auquel appartiennent les lymphocytes T cytotoxiques (référence à self et not self, ce qui est soi et ce qui n'est pas soi).

Parmi ces peptides transloqués, certains se fixent sur MHC I (major histocompatibility complex I; complexe majeur d'histocompatibilité I) puis sont emportés avec le flux membranaire vectoriel pour être présentés à la membrane sur toutes les cellules de l'organisme. Les antigènes ainsi présentés sur une cellule normale appartiennent, par définition, **au soi**, et les lymphocytes T cytotoxiques ne les reconnaissent pas. Si la cellule est anormale (tumorale ou infectée par un virus) les peptides produits par la cellule et présentés par MHC I sont reconnus comme n'appartenant pas au soi : les lymphocytes cytotoxiques lysent la cellule.

■ Exemple de systèmes viraux

Les virus, en infectant une cellule, provoquent la synthèse de peptides viraux qui sont chargés dans le RE sur les molécules du MHC I et sont donc présentés à la membrane; ceci constitue, pour le système immunitaire, le signal que cette cellule est infectée. Mais certains virus à ADN, comme l'adénovirus, le virus de l'*Herpes simplex*, le virus d'Epstein Barr et le cytomégalovirus, possèdent des moyens sophistiqués pour éviter d'être détectés par les systèmes immunitaires de leurs hôtes. La plupart de ces mécanismes préviennent la présentation antigénique.

Le cytomégalovirus, par exemple, détourne les protéines MHC I néosynthétisées. Il accomplit cet exploit grâce à son gène US2. US2 code une protéine qui transloque, du RE au cytosol, les nouvelles protéines MHC I synthétisées. Les protéines MHC, révélatrices de la présence du cytomégalovirus, sont rapidement détruites dans le cytosol par le *protéasome*. Ainsi, les molécules de MHC I chargées de peptides viraux ne peuvent atteindre la membrane plasmique. La cellule n'est pas reconnue comme infectée.

Les protéines néosynthétisées anormales du RE sont transportées hors du RE, à travers le translocon, puis détruites dans le cytosol par les protéasomes. Si les peptides libérés dans le cytosol ont une activité antigénique, ils sont transloqués dans le RE par les TAPs. Les peptides, qui, dans le RE, ne se combinent pas à MHC, subissent une translocation inverse. Les virus infectant un organisme provoquent la synthèse de peptides viraux qui s'associent à MHC I et s'insèrent dans la membrane plasmique où ils sont détectés par les lymphocytes cytotoxiques. Le cytomégalovirus exprime le gène US2 codant une protéine qui transloque les molécules néosynthétisées de MHC I du RE vers le cytosol : elles y sont détruites par le protéasome.

Biosynthèse des lipides destinés aux membranes cellulaires

La biosynthèse des lipides destinés aux membranes cellulaires se produit sous le contrôle d'enzymes membranaires, situées sur la face cytosolique, grâce à une cascade de réactions enzymatiques (fig. 8.17). En effet, la membrane du REL fabrique la quasi-totalité des lipides indispensables à la construction de nouvelles membranes cellulaires.

■ Les acides phosphatidiques

Les acides phosphatidiques se fabriquent sur la moitié cytosolique de la membrane du REL.

Les dérivés des acides phosphatidiques

Les principaux phospholipides membranaires du REL dérivent des acides phosphatidiques et sont la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS), le phosphatidylinositol (PI).

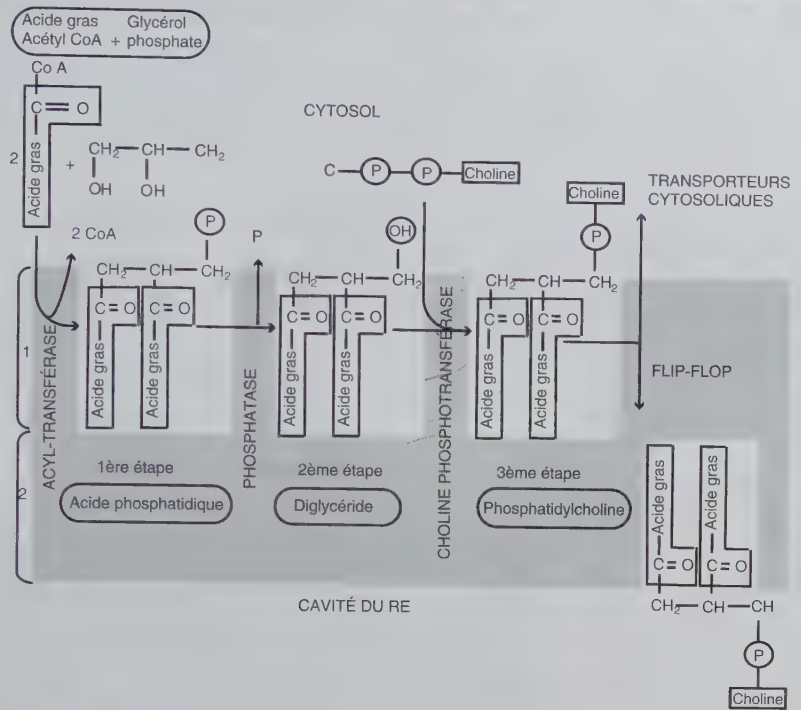
La formation des acides phosphatidiques et leurs modifications ultérieures se déroulent dans la moitié cytosolique de la double couche lipidique du REL. Ils se forment par addition, au glycérophosphate, de deux acides gras, grâce à l'action d'une acyltransférase contenue dans les membranes du REL.

Ils sont insolubles dans l'eau et séjournent donc facilement dans la membrane du RE.

Fig. 8.17

Synthèse d'un phosphatide : la phosphatidylcholine.

1. Couche lipidique externe.
2. Couche lipidique interne.
2 molécules d'acides gras couplées à l'acétylcoenzyme A se combinent au glycérol phosphate pour former l'acide phosphatidique grâce à l'acyltransférase. Au cours de la 2^e étape, l'acide phosphatidique donne une molécule de diglycéride grâce à l'action d'une phosphatase. Au cours de la 3^e étape, la choline, en présence de choline phosphotransférase, s'associe au diglycéride et constitue la phosphatidylcholine. Cette synthèse se déroule dans la couche lipidique externe. La molécule phosphatidique peut soit gagner la couche lipidique interne, soit être transportée par des transporteurs cytosoliques (protéines de transfert) en direction des mitochondries ou des peroxysomes.



Rôle de la flippase de la membrane du RE

La membrane du RE contient un facteur de translocation, une flippase, qui transporte les lipides de la face cytosolique à la face luminale, en particulier les phospholipides contenant de la choline (et non ceux qui contiennent de l'éthanolamine, de la sérine ou de l'inositol). Cela signifie que PC atteint la face luminale beaucoup plus facilement que PE, PS ou PI. Le facteur de translocation préserve la double couche et il est responsable de la distribution asymétrique des lipides que l'on y trouve.

■ Rôle dans la stéroïdogénèse

Le RE, en collaboration avec les mitochondries, participe à la synthèse de nombreux lipides destinés à l'exportation, et en particulier à celle des hormones stéroïdes qui, étant liposolubles, sont excrétées par diffusion à travers la membrane plasmique. Dans la matrice mitochondriale, le cholestérol est utilisé pour synthétiser une molécule intermédiaire, la *prégnénolone*. Cette molécule est exportée en direction du RE, où une enzyme intramembranaire, le cytochrome P450, possède un site actif sur la face cytosolique. La prégnénolone ne pénètre donc pas dans le RE, mais subit une série d'hydroxylations, qui donne naissance soit à des œstrogènes, des androgènes ou de la progestérone, soit à des métabolites qui retournent dans la matrice mitochondriale pour être transformés en aldostérone ou en cortisol.

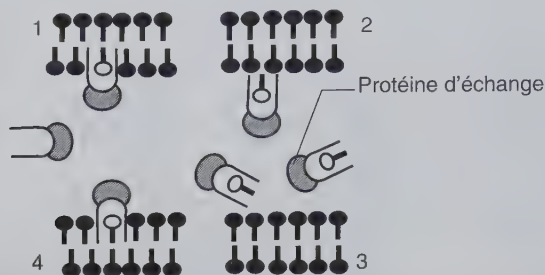
■ Les protéines de transfert des phospholipides

Des protéines de transfert (ou protéines d'échange) peuvent transporter des phospholipides d'une membrane à une autre (fig. 8.18). Ces protéines d'échange sont spécifiques : elles ne peuvent transporter qu'un type donné de phospholipides.

Dans le cas du RE, les protéines de transfert capturent les phospholipides grâce à un site de fixation des phospholipides. Elles transportent ces phospholipides extraits de la membrane et les insèrent dans une autre membrane. La PS est ainsi capturée, décarboxylée, puis livrée à la membrane mitochondriale. Il en est de même pour la PE, qui est acheminée sans modification à la mitochondrie.

Fig. 8.18

Transport d'une molécule de phospholipide proche du RE. 1-2. Capture d'une molécule du feuillet externe de la membrane du RE. 3-4. Insertion de cette molécule dans le feuillet externe de la membrane d'une mitochondrie.



Le RE intervient dans la biosynthèse des lipides, en particulier des phospholipides (PC, PE, PI, PS), qui sont élaborés dans la moitié cytosolique de la membrane du RE, puis transportés sur la face luminale par une flippase. La prégnénolone synthétisée dans les mitochondries est transformée sur la face cytosolique de RE soit en œstrogènes, soit en progestérone, soit en androgènes. Des protéines de transfert transportent PS et PE depuis la face cytosolique du RE jusqu'à la membrane externe des mitochondries.

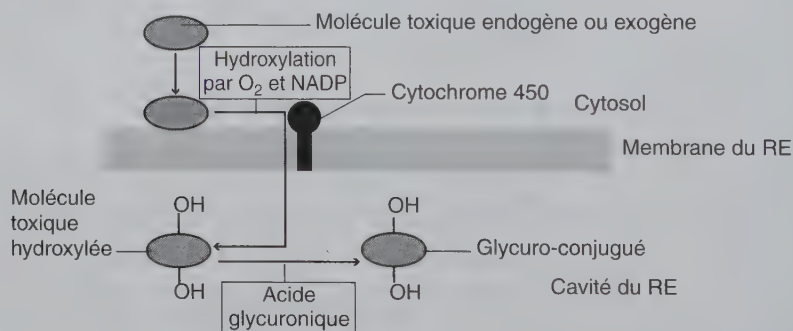
Détoxication par le RE

Le RE joue un rôle essentiel dans la détoxication (fig. 8.19).

La détoxication est l'élimination des substances toxiques dans un organisme.

Fig. 8.19

Détoxication par le RE.



Elle se déroule dans le foie, les reins, l'intestin, les poumons, la peau. Elle se produit par hydroxylation et glycuconjugaison.

Le processus de détoxication débute par une hydroxylation dans le cytosol, puis une série de réactions d'oxydation, catalysées par une classe de protéines particulièrement actives, le cytochrome P450 associé à la cytochrome P450-réductase. Ces molécules sont transloquées dans la cavité du RE, où elles se combinent avec l'acide glycuronique pour former une molécule non toxique. Le RE détruit les substances toxiques.

Stockage du calcium par le RE

La membrane du RE contient une Ca^{++} -ATPase, désignée par SERCA (sarco-plasmic/endoplasmic reticulum calcium pump; pompe calcique du réticulum sarcoplasmique) qui pompe le calcium dans le RE, le concentre dans la lumière et le stocke sous une forme liée à une protéine.

La membrane du RE contient également deux types de canaux ioniques, qui libèrent le calcium contenu dans la lumière : le complexe InsP_3R (inositol-triphosphate receptor; récepteur de l'inositol-triphosphate), qui est composé de quatre molécules de IP_3R et de FKBP (FK binding protein; protéine se liant à FK), et le complexe RyR (ryanodine receptor; récepteur de la ryanodine, un alcaloïde végétal) constitué par trois molécules de RyR et de quatre molécules de FKBP.

■ **FKBP** : FK désigne un immunosuppresseur, le tacrolimus, utilisé dans le traitement des rejets survenant à l'occasion de greffes d'organe. Cet immunosuppresseur se fixe sur des molécules qui constituent ces deux types de canaux ioniques.

■ Les récepteurs InsP_3Rs

Dans les fibres nerveuses, l'ouverture des canaux est activée à la fois par le calcium et InsP_3 . Dans les autres cellules, InsP_3 est un second messenger produit par l'activation d'un récepteur membranaire. L'activation de la pompe de la membrane plasmique (PCMA : plasma membrane calcium pump; pompe à calcium de la membrane plasmique), qui pompe le calcium en dehors de la cellule, libère InsP_3 qui active le canal ionique InsP_3R . La fixation de InsP_3 sur InsP_3R provoque une augmentation rapide de la concentration du calcium cytosolique.

■ Les récepteurs RyRs

Localisés dans la membrane du RE du muscle strié squelettique ou cardiaque (sarcoplasme), ils sont activés par l'adénosine diphosphoribose cyclique et inhibés par la ryanodine. Ces canaux existent également dans les cellules non musculaires.

La cellule contient deux pompes à calcium : PCMA, située dans la membrane plasmique, pompe le calcium vers l'extérieur de la cellule, SERCA, située dans la membrane du RE, pompe le calcium en direction du RE. Les canaux ioniques InsP_3R et RyR libèrent le calcium contenu dans le RE.

Protéines résidentes du RE

Les protéines résidentes sont des protéines qui restent dans le RE.

Le tri, entre les protéines exportées et les protéines résidentes, dépend d'une séquence KDEL, localisée à l'extrémité carboxy-terminale. Cette séquence KDEL se fixe à un récepteur membranaire du RE et maintient ainsi la protéine dans le RE.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

A	Aminoacyl
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	ARN messenger
ARNr	ARN ribosomal
ARNt	ARN de transfert
BiP	Binding Protein; protéine de liaison

DPI	Disulfide Protein Isomerase; protéine disulfure isomérase
EF	Elongation Factor; facteur d'élongation
eIF	eucaryotic Initiation Factor; facteur d'initiation chez les Eucaryotes
FK	tacrolimus (un immunosuppresseur)
FKBP	FK Binding Protein; protéine se liant à FK
GPI	GlycosylPhosphatidylInositol
GTP	Guanosine TriPhosphate
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
IF	Intermediate Filament; filament intermédiaire
InsP3	Inositol 1,4,5-triPhosphate
InsP3R	Inositol 1,4,5-triPhosphate Receptor; récepteur de l'inositol 1,4,5-triphosphate
IP3R	Inositol 1,4,5-triPhosphate Receptor; récepteur de l'inositol 1, 4, 5-triphosphate
L	Long
Man	Mannose
MHC	Major Histocompatibility Complex; complexe majeur d'histocompatibilité
P	Peptidyl
PC	PhosphatidylCholine
PE	PhosphatidylEthanolamine
PI	PhosphatidylInositol
PS	PhosphatidylSérine
RE	Réticulum Endoplasmique
REG	Réticulum Endoplasmique Granulaire
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
RF	Releasing Factor; facteur de libération
RyR	Ryanodine Receptor; récepteur de la ryanodine
S	Short; court
Sec	Secretion; sécrétion
SERCA	Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium pump; pompe calcique du réticulum sarcoplasmique
SRP	Small Recognition Particle; petite particule de reconnaissance
TAP	Transporter in Antigen Processing; transporteur impliqué dans la présentation antigénique.
Ts	Temperature stable; température stable
Tu	Temperature unstable; température instable
UDP	Uridine DiPhosphate

■ 1. Les ribosomes :

- ☐ 1. ont une forme universelle.
- ☐ 2. existent dans toutes les cellules.
- ☐ 3. sont constitués par l'association constante de deux sous-unités.
- ☐ 4. possèdent une petite sous-unité traversée par un canal antéro-postérieur traversé par la protéine néoformée.
- ☐ 5. possèdent une petite sous-unité qui comporte 3 sites de liaison.

■ 2. Le code génétique de l'ADN nucléaire :

- ☐ 1. est universel.
- ☐ 2. est constitué par des groupes de 3 bases.
- ☐ 3. comprend 64 codons.
- ☐ 4. est traduit par le seul fonctionnement des ribosomes.
- ☐ 5. est utilisé pour la synthèse de tous les constituants cellulaires.

■ 3. Chez les Eucaryotes, la petite sous-unité, au cours de la phase d'initiation, forme un complexe :

- ☐ 1. avec le formyl-méthionyl-ARNt^{Mét}.
- ☐ 2. avec eIF2, eIF3, eIF4, eIF5.
- ☐ 3. avec IF1, IF2, IF3.
- ☐ 4. avec l'ARNm.
- ☐ 5. en présence de Mg⁺⁺.

■ 4. Les polysomes libres élaborent toutes les protéines :

- ☐ 1. du cytosquelette.
- ☐ 2. ayant une activité lysosomale.
- ☐ 3. des mitochondries.
- ☐ 4. de la membrane des peroxysomes.
- ☐ 5. de la membrane des vacuoles lipidiques.

■ 5. Le RE :

- ☐ 1. occupe en moyenne 30 % du volume cellulaire.
- ☐ 2. est fragmenté en microsomes par l'ultracentrifugation.
- ☐ 3. a la même composition que la membrane plasmique.
- ☐ 4. contient des enzymes nécessaires à la synthèse des lipides.
- ☐ 5. intervient, grâce au cytochrome P450, dans des mécanismes de détoxification.

■ 6. La membrane du RE contient :

- ☐ 1. des lipides poly-insaturés.
- ☐ 2. une plus grande quantité de glycolipides que la membrane plasmique.
- ☐ 3. un taux de cholestérol plus bas que celui de la membrane plasmique.
- ☐ 4. des molécules glucidiques en rapport avec la face luminale.
- ☐ 5. du cytochrome b₅ situé sur la face cytosolique.

■ 7. Les molécules suivantes sont intégrées sur la face luminale du RE :

- ☐ 1. le cytochrome P450.
- ☐ 2. les glycoprotéines.
- ☐ 3. les glycolipides.
- ☐ 4. la nucléoside-phosphatase.
- ☐ 5. le cytochrome b₅.

■ 8. La SRP :

- ☐ 1. est un signal peptidique de l'extrémité carboxy-terminale de la protéine néosynthétisée.
- ☐ 2. est un complexe ribonucléique.
- ☐ 3. se fixe sur le site P de la grande sous-unité.

- ☐ 4. reconnaît un signal peptidique hydrophobe d'adressage au RE.
- ☐ 5. combinée avec la protéine néosynthétisée permet la fixation de l'extrémité de cette protéine sur un récepteur de la SRP de la membrane du RE.

■ 9. Le translocon :

- ☐ 1. est reconnu par la SRP.
- ☐ 2. possède un pore aqueux.
- ☐ 3. est constitué par un complexe hétérotrimérique de Sec61.
- ☐ 4. organise la localisation des protéines en cours de synthèse.
- ☐ 5. fixe la grande sous-unité du ribosome.

■ 10. Au cours de la protéosynthèse :

- ☐ 1. la SRP se sépare de la séquence signal de la protéine en cours de synthèse avant que le ribosome soit fixé sur la membrane du RE.
- ☐ 2. l'extrémité amino-terminale de la protéine néosynthétisée se fixe sur une molécule de la membrane du RE.
- ☐ 3. la séparation SRP-récepteur permet le début de la translocation.
- ☐ 4. la translocation est GTP-dépendante.
- ☐ 5. la translocation est cotraductionnelle.

■ 11. À la fin de la traduction :

- ☐ 1. le peptide signal ne se situe plus dans le pore, mais il demeure transmembranaire.
- ☐ 2. une peptidase sépare le signal du reste de la protéine synthétisée.
- ☐ 3. les ribosomes se détachent de la membrane du RE.
- ☐ 4. les deux sous-unités restent associées.
- ☐ 5. les ribosomes détachés du RE constituent alors un pool de ribosomes libres.

■ 12. Le RE :

- ☐ 1. intervient seul dans la synthèse d'hormones stéroïdes.
- ☐ 2. synthétise, à partir du cholestérol, une molécule intermédiaire, la pregnénolone.

- ☐ 3. transforme la pregnénolone, par une série de méthylations, en œstrogènes.
- ☐ 4. fournit des phospholipides à la membrane mitochondriale externe.
- ☐ 5. fournit la PS qui est acheminée sans modification à la mitochondrie.

■ 13. Au cours de la détoxification :

- ☐ 1. le RE assure l'hydroxylation de la substance toxique.
- ☐ 2. la substance toxique est oxydée par le cytochrome P450.
- ☐ 3. l'oxydation se déroule dans le cytosol.
- ☐ 4. l'oxydation se déroule dans la lumière du RE.
- ☐ 5. les molécules hydroxylées et oxydées se combinent avec l'acide glycuronique après translocation.

■ 14. À propos du cytomégalo virus (CMV) :

- ☐ 1. le CMV n'est pas détecté par le système immunitaire de l'hôte.
- ☐ 2. le CMV associe directement un signal aux protéines MHC classe I qui sont alors importées dans le RE.
- ☐ 3. les nouvelles protéines MHC traversent le translocon.
- ☐ 4. les protéines MHC révélatrices sont détruites dans le RE.
- ☐ 5. un protéasome détruit les acides nucléiques du cytomégalo virus.

■ 15. Au cours de la synthèse des lipides :

- ☐ 1. les acides phosphatidiques se fabriquent dans la moitié cytosolique de la membrane du RE.
- ☐ 2. les phosphatides se forment par addition, au glycérophosphate, de deux acides gras.
- ☐ 3. cette addition d'acides gras dépend d'une acyl-transférase synthétisée par le REL.
- ☐ 4. les phospholipides sont transportés de la face cytosolique vers la face luminale.
- ☐ 5. les PE, PS, PI sont transportés de la face cytosolique vers la face luminale, plus facilement que les PC.

■ 16. Les protéines mal formées, néosynthétisées dans le RE :

- ☐ 1. peuvent être détruites dans le RE.
- ☐ 2. subissent un transport rétrograde.
- ☐ 3. sont, généralement, immédiatement polyubiquitinylées dans le cytoplasme.
- ☐ 4. subissent d'abord une dégradation par la N-glucanase libérée à partir des membranes du RE.
- ☐ 5. sont hydrolysées après dégradation et polyubiquitinylation par les lysosomes.

■ 17. La protéine DPI :

- ☐ 1. possède une activité ATP-dépendante.
- ☐ 2. possède des sites actifs formés par une séquence de deux cystéines séparées par deux acides aminés.

- ☐ 3. possède une activité dépendant essentiellement du pH.
- ☐ 4. a la faculté de former des ponts disulfures unissant des groupes de deux cystéines.
- ☐ 5. a la possibilité de provoquer l'isomérisation des molécules mal repliées.

■ 18. La membrane du RE contient :

- ☐ 1. de très nombreuses pompes à sodium.
- ☐ 2. des SERCAs qui libèrent le calcium dans le cytosol.
- ☐ 3. deux types de pompes InsP3R et RyRs, qui libèrent le calcium dans le cytosol.
- ☐ 4. des canaux calciques dont l'ouverture est activée par le calcium et InsP3.
- ☐ 5. des canaux calciques dont les récepteurs sont inhibés par la ryanodine.

1.

1	2	3	4	5
V	F	F	F	V

2. Ils n'existent pas dans les cellules anucléées comme c'est le cas pour les hématies des Vertébrés supérieurs et les kératinocytes anucléés de l'épiderme.

3. Les deux sous-unités sont associées uniquement au cours de la traduction.

4. Le canal antéro-postérieur de la petite sous-unité est traversé par l'ARNm.

2.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. Le code génétique de l'ADN mitochondrial ou bactérien est différent de celui de l'ADN nucléaire.

4. Le code génétique est traduit grâce à une machinerie qui comprend l'ARNm, l'ARNt, etc.

5. Le codé génétique ne concerne que la synthèse des protéines.

3.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. La petite sous-unité forme un complexe avec le Mét-ARNt^{Mét} non formylé.

3. Elle forme un complexe avec les facteurs eIF.

4.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	F

2. Les enzymes lysosomales sont synthétisées par le REG.

3. Les mitochondries sont capables de synthétiser un nombre limité des protéines qui les constituent.

5. Les vacuoles lipidiques ne sont pas limitées par une membrane mais par des microfilaments de vimentine.

5.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. Le RE occupe 15 % du volume cellulaire.

3. Le RE a une composition différente : 30 % de lipides, 70 % de protéines et une quantité de sucre négligeable.

6.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. La quantité de glycolipides est inférieure à celle de la membrane plasmique.

7.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Le cytochrome P450 est transmembranaire.

5. Le cytochrome b_5 est situé sur la face cytosolique.

8.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. La SRP est un complexe nucléoprotéique qui s'associe au signal peptidique de la protéine en cours de synthèse.

3. La SRP se fixe sur le site A.

9.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. La SRP possède son propre récepteur sur la membrane du RE.

10.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. La SRP se détache de la séquence signal lorsque le ribosome est fixé sur le translocon.

4. La translocation est ATP-dépendante.

11.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. 5. Les deux sous-unités se dissocient et chacune gagne un pool.

12.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Le RE, en association avec la mitochondrie, intervient dans la synthèse des hormones stéroïdes.

3. La pregnénolone est transformée par une série d'hydroxylations.

5. La PS est capturée, décarboxylée et acheminée à la mitochondrie.

13.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Le RE n'est pas responsable de l'hydroxylation qui se déroule dans le cytosol.

4. La série d'oxydations se déroule sur la face cytosolique du RE.

14.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	F

2. Le cytomégalo virus insère le gène US2 dans le génome de la cellule hôte : ce gène code une protéine qui transporte les protéines MHC du RE dans le cytoplasme.

4. 5. Les MHC sont détruites par les protéasomes.

15.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. L'acyltransférase étant une protéine, elle est synthétisée par le REG.

5. Les phospholipides contenant de la choline (PC) sont transportés plus rapidement que les autres phospholipides.

16.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Les protéines mal formées, contenues dans le RE, regagnent le cytoplasme en traversant, de manière rétrograde, les translocons.

3. Les protéines subissent une dégradation (dans le cytoplasme) par la N-glucanase avant d'être polyubiquitinylées et 5. hydrolysées par les protéasomes.

17.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

18.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	V

1. 2. La membrane du RE contient des SERCAs (sarco-plasmic/endoplasmic reticulum calcium pump) qui concentrent le Ca^{++} dans la lumière du RE.

- 1. Origine de l'ARN 5 S de la grande sous-unité.
- 2. Particularité des amino-acyltransférases.
- 3. Comment se forme, chez les Procaryotes, le complexe initiateur?
- 4. L'ARNt fixé sur le site A et porteur de la méthionine est libéré par quel facteur?
- 5. Quelle protéine est la cible privilégiée de la streptomycine?
- 6. Quelle est l'enzyme contenue dans le site P?
- 7. Quel est le trajet des protéines au cours de leur synthèse?
- 8. Quel est le marqueur du RE?
- 9. Lieu de synthèse des lipides membranaires.
- 10. Après leur synthèse, les lipides gagnent soit le feuillet luminal de la bicouche du RE, soit la membrane d'un autre organe. Par quels mécanismes?
- 11. Citez deux molécules lipidiques absentes de la membrane du RE.
- 12. Deux caractères concernant les lipides différencient la membrane plasmique et celle du RE. Lesquels?
- 13. Où demeure le peptide signal au cours de la traduction de l'ARNm?
- 14. Quelle molécule reconnaît le peptide signal?
- 15. Au cours de la fixation du ribosome sur le RE, la traduction de l'ARNm est transitoirement bloquée. Par quelle molécule?
- 16. Citez les protéines du RE qui interviennent dans le repliement des protéines néosynthétisées.
- 17. Mécanisme de dégradation des protéines provenant du RE par transport rétrograde.
- 18. Par quel mécanisme certains virus rendent-ils les systèmes de défense inefficaces?
- 19. Quel est le devenir des peptides provenant de la lyse de protéines cytosoliques?
- 20. Que se produit-il à la fin de la traduction qui marque la fin de la synthèse d'une protéine?
- 21. Quelle est, en pourcentage, la quantité d'ARN contenu dans un ribosome?

1. L'origine de cet ARN est extranucléolaire.
2. Il existe autant d'amino-acyltransférases que d'acides aminés, mais chacune d'elle peut reconnaître plusieurs ARNt.
3. L'ARNm se fixe sur la petite sous-unité en présence de magnésium, d'un facteur IF2, IF3 et IF4, ainsi que d'un facteur initiateur, le formyl-méthionyl-ARN^{Met}.
4. Par eIF2 et par l'hydrolyse de GTP.
5. La protéine S12. La streptomycine interagit avec S12 en bloquant l'appariement codon/anti-codon. La protéine S12 contrôle la rigueur de la traduction.
6. Le site P contient la peptidyl-transférase (activité catalytique portée par l'ARN 18 S).

7. Elles franchissent un véritable tunnel, qui traverse la grande sous-unité et protège la protéine.

8. La glucose-6-phosphatase. Le glucose ne peut quitter la cellule sous la forme phosphorylée. Cette enzyme lyse le glucose phosphorylé en glucose et en phosphate.

9. La plupart des lipides sont synthétisés dans le RE (sauf la sphingomyéline et les glycolipides dont la synthèse s'achève dans l'appareil de Golgi).

10. La flippase transporte les phospholipides de la face cytosolique à la face luminale du RE. Les protéines d'échange des phospholipides les transportent et les insèrent dans la membrane d'autres organites.

11. Les sphingomyélines et les glycolipides.

12. Les acides gras du RE ont des chaînes plus courtes que celles de la membrane plasmique et ils sont insaturés.

13. Le peptide signal demeure dans le pore de translocation.

14. La particule SRP.

15. Par la protéine SRP.

16. La protéine DPI (disulfide protein isomerase), la protéine Bip, les protéines calréticuline et calnexine.

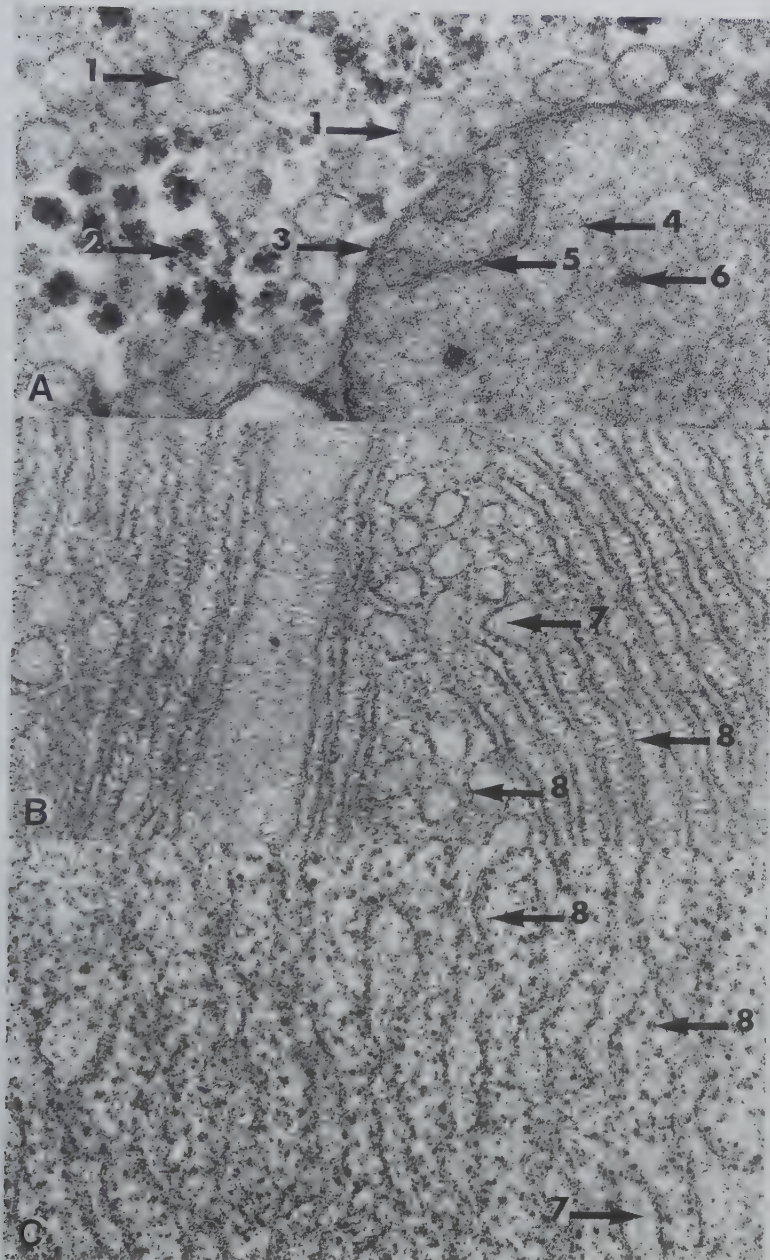
17. Ces protéines sont dégradées par une N-glycanase, polyubiquitinylation et lyse par le protéasome.

18. Les cytomégalo virus insèrent, dans le génome de l'hôte, un gène US2 qui code une protéine qui provoque la translocation inverse des protéines MHC néosynthétisées. Elles sont immédiatement détruites par les protéasomes.

19. Les peptides provenant de la lyse de protéines cytosoliques sont transloqués dans le RE : ils peuvent se fixer sur le MHC I et être présentés à la membrane plasmique. Ils peuvent ne pas être retenus par le RE et repasser dans le cytosol.

20. Les deux sous-unités se libèrent et gagnent leur pool cytoplasmique. Le peptide signal inséré dans la membrane du RE est clivé par une peptidase.

21. 55 %.



■ Cliché A :

Flèche 1 : vacuole.

Flèche 2 : polyribosome.

Flèche 3 : membrane d'une enclave lipidique.

Flèche 4 : nucléoplasme.

Flèche 5 : saccule.

Flèche 6 : inclusion cristalline.

■ Clichés B et C :

Flèche 7 : espace compris entre deux citernes.

Flèche 8 : membrane du REG et ribosomes.

■ Cliché A :

Flèche 1. *F* : REL.

Flèche 2. *F* : glycogène.

Flèche 3. *F* : paroi mitochondriale.

Flèche 4. *F* : matrice mitochondriale.

Flèche 5. *F* : crête mitochondriale.

Flèche 6. *F* : granulation contenant des cations.

■ Cliché B et C :

Flèche 7. *F* : lumière d'une citerne du REG.

Flèche 8. *V*.

■ Une technique d'imprégnation chromo-argentique permet à Golgi de découvrir, en 1898, cet organite qu'il dénomma appareil réticulaire interne. Un de ses élèves, Perroncito, utilisant d'autres techniques, nota que l'appareil réticulaire pouvait être constitué d'éléments en forme de croissant dont la limite convexe est chromophile (la région située dans la concavité est chromophobe) : il donna le nom de dictyosome (du grec *dictyon*, filet et *soma*, corps) à de telles formations.

Pour Camillo Golgi, les maladies mentales s'expliquent par des lésions organiques des cellules nerveuses. C'est pour cette raison qu'il entreprend l'étude des structures du système nerveux. Les techniques d'histologie du XIX^e siècle permettent déjà de voir l'organisation cellulaire par coloration au carmin ou à l'hématoxyline : mais ces colorants ne sont pas adaptés à l'étude des cellules nerveuses. Dans une cuisine transformée, il met au point des techniques d'imprégnation par des sels de métaux lourds. En 1873, il publie ses premiers résultats sur la découverte de la *reazione nera* (réaction noire) — l'imprégnation au nitrate d'argent — qui permet une meilleure compréhension des structures des cellules nerveuses. À Pavie, il crée un laboratoire au sein de l'Institut de pathologie générale. En 1898, il publie un article sur la mise en évidence de l'appareil réticulaire interne, cet organite qui porte désormais son nom.

L'appareil de Golgi est un organite regroupant l'ensemble des dictyosomes, formations constituées par des saccules (ou citernes) empilés. Il est le lieu de passage obligatoire de toutes les protéines synthétisées par le réticulum endoplasmique granulaire. Il intervient dans le transfert des protéines depuis le RE jusqu'aux grains de sécrétion destinés à la membrane plasmique (exocytose), dans la maturation des protéines par modification des chaînes oligosaccharidiques N-glycosylées (phosphorylation des résidus mannose), dans la O-glycosylation de certaines protéines, dans la sulfatation, la synthèse des glycolipides et des protéoglycanes, dans l'expédition des produits sécrétés qui comprend le tri des produits élaborés, dans l'emballage (vésicules de sécrétion), dans le ciblage (marquage de la membrane par des molécules spécialisées) de ces divers produits élaborés afin qu'ils atteignent leur destination finale (lysosomes, noyau, membrane plasmique, etc.), dans le stockage du calcium, dans la synthèse des phospholipides, dans l'activation de protéines qui peut, en fonction de la nature des protéines, se dérouler entièrement dans l'appareil de Golgi ou partiellement (la fin de l'activation se déroulant dans les grains de sécrétion).

Diversité de forme, de taille et de position de l'appareil de Golgi

■ Dans les cellules d'origine ectodermique, l'appareil de Golgi se place entre le noyau et la surface de l'épithélium. Dans les cellules à sécrétion exocrine, il occupe une zone située entre le noyau et le pôle apical ou excréteur. Dans les glandes endocrines, la disposition varie, sauf cependant dans la thyroïde où l'appareil de Golgi se localise entre le noyau et le centre de la vésicule.

En microscopie optique, c'est un réseau irrégulier, variqueux.

Sa forme (fig. 9.1 et 9.2) diffère non seulement d'une cellule à une autre, mais aussi dans la même cellule, car elle varie avec le cycle fonctionnel.

La taille est fonction du type et de l'activité de la cellule à laquelle il appartient. L'appareil de Golgi est volumineux dans les cellules glandulaires ou nerveuses, petit dans les cellules musculaires, très développé dans les cellules en hyperactivité, peu développé dans les cellules au repos ou en hypoactivité.

Sa position est *péricentrosomale* dépend des *microtubules* et de la *kinésine*. Elle est relativement fixe pour chaque type cellulaire.

La forme du Golgi dépend du type cellulaire et du cycle. La taille dépend de l'activité cellulaire, la position péricentrosomale des MTs.

Fig. 9.1

Appareil de Golgi en microscopie optique.

A. Cellule ganglionnaire : disposition périnucléaire de l'appareil de Golgi.

B. Cellule prismatique basse : appareil de Golgi supranucléaire; la face concave est tournée vers le centre cellulaire.

C. Cellule ganglionnaire (imprégnation par la technique ZIO [zinc iodide-osmium tetra-oxyde] de Marc MAILLET.)

1. Appareil de Golgi.
2. Nucléole.
3. Enveloppe nucléaire.
4. Nucléoplasme.

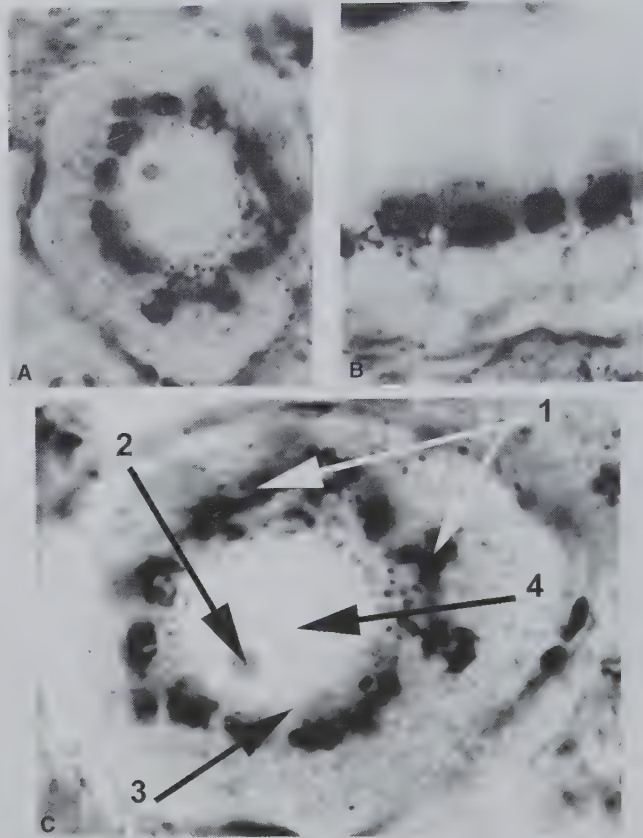
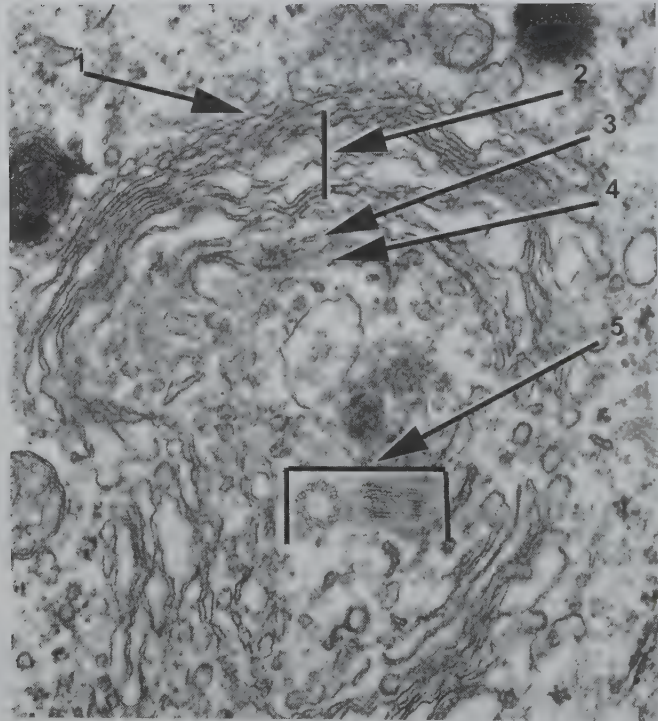


Fig. 9.2

Appareil de Golgi en microscopie électronique.

1. CGN et saccule *cis*.
2. Citernes médianes.
3. Saccule *trans*.
4. TNG (*trans* network Golgi).
5. Centre cellulaire contenant un diplosome (comparer avec le schéma fig. 9.3).



Les dictyosomes

Définition

Chaque dictyosome est caractérisé par des saccules associés à des vésicules et à des tubules. Le *saccul* est l'unité structurale élémentaire du dictyosome. Il a la forme d'un compartiment aplati, souvent circulaire (d'un diamètre de 0,5 à 1 μm), fenêtré, à bords dilatés, limité par des membranes lisses.

Le *dictyosome* (fig. 9.3 et 9.4) est formé par l'association ou l'empilement de plusieurs saccules. Dans une cellule, plusieurs dictyosomes, réunis par de nombreux tubules, constituent l'appareil de Golgi (l'appareil de Golgi peut cependant n'être représenté que par un seul dictyosome).

Polarité du dictyosomes

■ Les diverses techniques utilisées pour étudier l'appareil de Golgi ont mis en évidence le fait que la composition de chacun des dictyosomes n'est pas uniforme. Ainsi, les techniques de coloration montrent que le tétraoxyde d'osmium imprègne de préférence la *face cis*. La mannosidase est distribuée dans les saccules médians (la mannosidase enlève les résidus mannose des glycoprotéines). La nucléoside phosphatase se localise dans les saccules *trans* (cette enzyme clive les dinucléosides). Les techniques d'ultracentrifugation en gradient de densité séparent des vésicules provenant des différentes parties des dictyosomes.

Chaque dictyosome possède deux faces : une face proche du RE qui est qualifiée de *face cis* et une face opposée, la *face trans*, tournée dans les cellules sécrétrices vers les grains de sécrétion. La face *cis* est convexe, la face *trans* concave.

En tenant compte des résultats obtenus par les techniques cytochimiques et les techniques d'ultracentrifugation dans des gradients de densité, il est possible de diviser un dictyosome en au moins trois régions : une région *cis*, une région *médiane*, une région *trans*. Les saccules golgiens sont polarisés : les saccules placés au voisinage du réticulum endoplasmique sont situés du côté *cis*, ceux qui sont à l'opposé, au voisinage, par exemple, des grains de sécrétion, sont du côté *trans*.

Chaque dictyosome est entouré de petites vésicules de transport de molécules qui proviennent du réticulum endoplasmique. Ces vésicules véhiculent aussi des substances entre les saccules voisins, entre le dictyosome et les endosomes, entre le dictyosome et les lysosomes ou la membrane plasmique.

Le nombre de saccules d'un dictyosome oscille en moyenne entre 3 et 10 : il peut parfois atteindre 30 et même davantage dans des cellules très actives. Un espace,

Fig. 9.3
Polarité d'un dictyosome
(d'après G.V. CHILDS).

La face *cis* est convexe, en rapport avec une face du réticulum endoplasmique dépourvue de ribosome. La face *trans* est concave, en rapport avec les grains de sécrétion. 1. Ribosomes. 2. RE. 3. Vésicules de transition. 4. CGN. 5. Saccule *cis*. 6. Saccule médian. 7. Saccule *trans*. 8. TGN. 9. Grains de sécrétion.

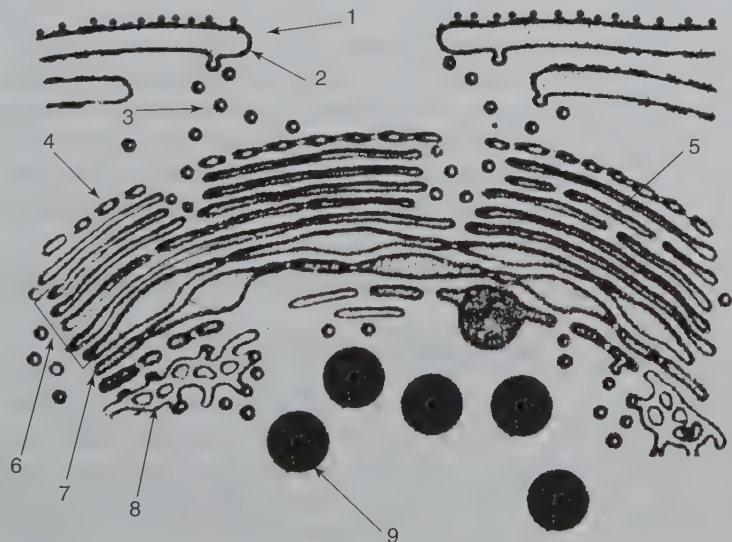
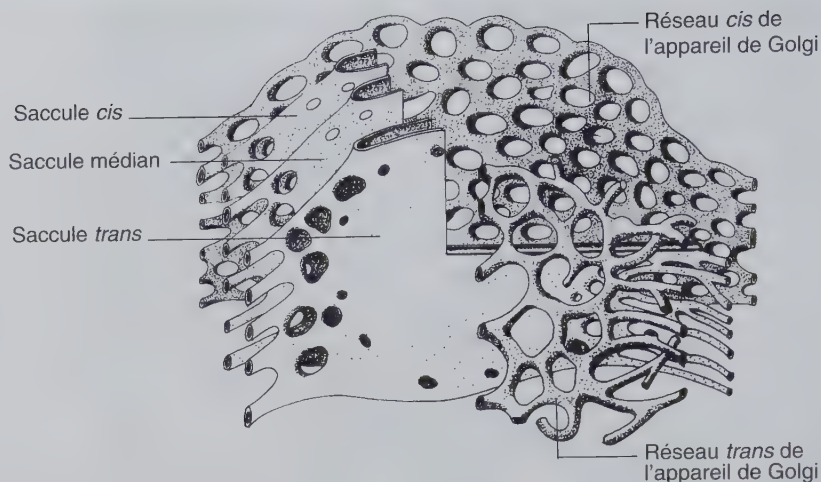


Fig. 9.4

Schéma tridimensionnel d'un dictyosome. Représentation simplifiée des réseaux de Golgi en position *cis* et *trans* et des saccules *cis*, médian et *trans*.



■ Le CGN, bien qu'il appartienne à l'appareil de Golgi, est considéré comme un compartiment intermédiaire. De nombreux auteurs utilisent le sigle ERGIC (endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment; compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique-Golgi) pour désigner le CGN, dont le marqueur est la protéine ERGIC-53. Ce compartiment intermédiaire est constitué par des structures tubulo-vésiculaires anastomosées qui s'interposent entre le RE et le saccule *cis*.

■ Le modèle vésiculaire et le modèle de maturation des saccules. Il existe deux modèles de fonctionnement de l'appareil de Golgi entre lesquels il est difficile de choisir compte tenu des diverses expérimentations qui donnent autant d'éléments en faveur de l'un que de l'autre. Le modèle habituellement choisi est le modèle vésiculaire : dans ce modèle, les saccules sont fixes et communiquent les uns avec les autres par des vésicules qui bourgeonnent d'un saccule pour fusionner avec le plus proche dans le sens face *cis* → face *trans*. Dans le modèle de maturation des saccules, les saccules se déplacent dans le sens face *cis* → face *trans* : afin que chaque saccule conserve sa spécificité fonctionnelle, les vésicules assurent un transport du contenu des saccules dans le sens face *cis* → face *trans*.

totalelement dépourvu de ribosome ou de glycogène, d'une épaisseur de 10 à 15 nm, sépare chaque saccule. Chaque saccule a un diamètre de 1 à 3 μm .

La polarité morphologique décrite en début de ce paragraphe va de pair avec une polarité fonctionnelle. Les protéines qui transitent dans l'appareil de Golgi pénètrent dans les saccules par la face *cis* et s'en échappent par la face *trans*.

Les techniques d'imprégnation révèlent les saccules de la face *trans*.

■ La région *cis*

La région *cis* golgienne est occupée par le CGN (*cis* Golgi network; réseau golgien en position *cis*) et par le ou les saccules *cis*.

Des petites vésicules, d'un diamètre de 20 nm, se forment par bourgeonnement de la membrane du RE en rapport avec le CGN. Ces vésicules sont recouvertes d'un manteau de protéines, les coatomères. Ces vésicules à coatomères sont des vésicules de transition qui servent de navettes entre le RE et le CGN. Elles transportent les produits élaborés par le RE, perdent leurs coatomères et fusionnent avec le CGN, y déversent leur produit de sécrétion, puis reviennent et fusionnent avec le RE. Les coatomères jouent un rôle capital : leur neutralisation, par micro-injection d'anticorps anticoatomères, inhibe le transport entre le RE et l'appareil de Golgi.

Le CGN délivre ensuite les produits qu'il reçoit à la face *cis* par l'intermédiaire de vésicules à coatomères.

Le saccule *cis* est convexe : sa membrane a une épaisseur de 6 nm.

■ La région médiane

La région médiane des dictyosomes est occupée par un nombre variable de saccules. Le nombre des saccules dépend de la nature de l'activité de la cellule et également de l'intensité de son activité sécrétoire. Les saccules médians interviennent dans la transformation des produits qu'ils contiennent et assurent le transport des produits sécrétés jusqu'au saccule de la face *trans*. Le transport d'un saccule à l'autre se fait

Dans le modèle de maturation, de nouvelles citernes sont sans cesse produites. Elles se déplacent de la face *cis* (face de formation) vers la face *trans*, chaque citerne poussant en quelque sorte l'autre. La citerne de la face *trans* se transforme en vacuole de sécrétion. Le transport des protéines (cargos) se fait par déplacement des saccules et non par l'intermédiaire des vésicules. Le marquage des membranes par le ^{14}C ou le glycéril tritié montrent que le renouvellement complet de chaque dictyosome se fait en 20 à 40 minutes. Il se forme environ une nouvelle citerne toutes les 1 à 4 minutes. Les expériences récentes de marquage membranaire avec la GFP (green fluorescent protein; protéine à fluorescence verte) confortent les résultats obtenus par les techniques de marquage, d'autant plus que les cellules ont été observées pendant toute la durée de l'expérimentation. Ainsi, dans cette hypothèse, l'appareil de Golgi est une structure dynamique en équilibre entre la formation de vésicules ou de vacuoles de sécrétion et la production de saccules par le REG.

En dépit du fait que le modèle de maturation semble être le plus proche de la vérité, nous avons choisi de décrire dans ces pages le modèle vésiculaire parce que c'est le modèle habituellement enseigné. Les traditions ont parfois la vie dure.

par l'intermédiaire de vésicules également recouvertes de coatomères (modèle vésiculaire).

■ La région *trans*

La région *trans* est occupée par un saccule concave, dont la membrane est plus épaisse que celle du saccule *cis* (7,5 nm) : cette face *trans*, tournée vers la membrane plasmique, entre en rapport avec un réseau tubulo-vésiculaire, le TGN (*trans* Golgi network; réseau *trans* de l'appareil de Golgi).

Il convient de bien distinguer, dans cette « région *trans* », le saccule *trans* du réseau golgien *trans* (TGN). Le saccule *trans* contient la nucléoside diphosphatase, une enzyme qui agit sur l'uridine diphosphate (UDP) en la déphosphorylant en uridine monophosphate (UMP). Le TGN contient des phosphatases acides.

Du TGN naissent deux types de vésicules plus volumineuses :

– les *vésicules à clathrine* qui sont :

- soit des grains de sécrétion (qui dépendent de la sécrétion contrôlée et transportent des molécules spécifiques), d'un diamètre de 40 à 80 nm; ces vésicules migrent vers la membrane plasmique, où leur contenu est excrété dans le milieu extracellulaire par exocytose;
- soit des vésicules de transport qui se dirigent vers les endosomes ou vers les lysosomes, avec lesquels elles fusionnent.

– les *vésicules à coatomères* qui transportent des produits « en vrac » et dépendent de la sécrétion constitutive.

Le CGN ou ERGIC reçoit du RE des vésicules navettes contenant les protéines. Les saccules *cis* et médians transportent ces protéines jusqu'au TGN, qui émet soit des vésicules à clathrine comprenant les grains de sécrétion (sécrétion contrôlée) et les vésicules transportant des molécules pour les endosomes ou les lysosomes, soit des vésicules à coatomères (sécrétion constitutive).

■ Rôle des microtubules dans l'intégrité de l'appareil de Golgi

Quel que soit le type cellulaire considéré, l'appareil de Golgi occupe une région proche du noyau et du centre cellulaire, entre le RE et la membrane plasmique.

L'appareil de Golgi est en rapport par sa face *trans* avec le centrosome. Une telle disposition peut déjà laisser supposer que les MTs et les protéines associées aux MTs, les MAPs (microtubules-associated protein; protéines associées aux microtubules) interviennent dans l'organisation des dictyosomes, dans la formation des vésicules de transport entre les saccules et dans les déplacements membranaires désignés par les termes de flux membranaires.

Stabilisation par les microtubules

Les microtubules associés à des protéines motrices (principalement la *kinésine*) maintiennent la localisation, la forme et donc les fonctions du RE et de l'appareil de Golgi.

L'altération des MTs par le *nocodazole* ou le *taxol* provoque une fragmentation des saccules en une multitude de petites vésicules, tandis que le RE vient occuper le centre de la cellule. Ces vésicules demeurent cependant fonctionnelles, mais elles ne peuvent assurer la voie de retour, c'est-à-dire le transport de substances entre le

Golgi et le RE. Après élimination du nocodazole, les vésicules et les éléments dispersés du Golgi se regroupent auprès du MTOC, le long des MTs repolymérisés. Ces mouvements des vésicules en direction du MTOC dépendent d'une protéine motrice, la kinésine.

Rôle des protéines G

Il existe plusieurs types de protéines G :

- des *protéines G monomériques* comme la *protéine ARF* (ADP-ribosylation factor; facteur de ribosylation de l'adénine diphosphate) (voir paragraphe « Rôle de la protéine ARF »). Cette enzyme appartient à la famille des GTPases (guanosine triphosphatase). Elle est impliquée dans la fusion des vésicules membranaires et le transport des vésicules. Elle permet l'acheminement séquentiel des vésicules, c'est-à-dire l'acheminement de vésicules d'un saccule au saccule voisin.
- des *petites protéines G* également monomériques comme la *protéine Rab* [ras-bovine brain; ras extrait de cerveau de bovin (ras : rat sarcoma; sarcome du rat)]. Ce sont des protéines appartenant à la superfamille des protéines ras des GTPases, qui règlent le trafic membranaire entre les différents compartiments cellulaires, et ici entre les différents saccules.
- des *protéines G hétérotrimériques* contenant trois sous-unités intramembranaires situées du côté cytosolique ($G\alpha$, $G\beta$, $G\gamma$), qui interviennent dans la transduction des signaux.

Rôle de la kinésine

La kinésine est associée aux membranes golgiennes. Elle assume, avec les MTs, la responsabilité du maintien de la morphologie et de la position de l'appareil de Golgi. La kinésine se fixe, par chacune de ses extrémités, sur des récepteurs situés sur la face externe des saccules golgiens et sur les MTs. Elle intervient dans le recyclage des membranes vers le RE (voie de retour) et dans le transport de matériel sécrétoire du TGN vers la membrane plasmique.

Les MTs associés à la kinésine maintiennent la structure et la localisation du Golgi. Le nocodazole ou le taxol fragmentent et dispersent le Golgi.

Composition moléculaire

La composition moléculaire des membranes golgiennes réalise une transition progressive entre le RE et la membrane plasmique.

Lipides

La composition lipidique des membranes sacculaires des régions *cis*, médiane et *trans* diffère. Sur la face *cis*, le pourcentage de lipides (30 %) évoque celui des membranes du RE. Les saccules de la face *trans* en contiennent 40 %, proportion voisine de celle de la membrane plasmique. La quantité de sphingomyélines (phospholipides) atteint 1,3 % dans la face *cis*, 3,5 % dans la face *trans*, celle des glycolipides 1,5 % dans la face *cis*, 4 % dans la face *trans*. La quantité de chole-

■ La membrane de l'appareil de Golgi, au fur et à mesure que les saccules sont plus proches du TGN, s'enrichit en phospholipides et en cholestérol (voir « Fonctions de l'appareil de Golgi »).

stérol de la membrane des saccules *cis* est multipliée par quatre dans les saccules *trans*.

Le degré de saturation des lipides augmente aussi : insaturés ou presque sur la face *cis*, ils deviennent plus saturés sur la face *trans*. L'épaisseur des membranes s'accroît (6 nm pour les saccules de la face *cis*, 8 nm pour ceux de la face *trans*).

Protéines membranaires

La proportion des protéines membranaires varie également. Sur la face *cis*, les protéines constituent 70 % de la membrane (comparable au pourcentage du RE); sur la face *trans*, ce pourcentage s'abaisse (car le nombre de systèmes multi-enzymatiques baisse) à 60 %, chiffre voisin de celui de la membrane plasmique. La membrane des saccules *trans* est la région de l'appareil de Golgi la plus riche en protéines glycosylées donc en glucides.

Les saccules du TGN ont déjà l'architecture de la membrane plasmique et ses propriétés physiques (mosaïque fluide).

Contenu enzymatique des saccules

Les enzymes se localisent sur la face interne des membranes, à l'exception de la 5'-nucléotidase-adénylate-cyclase (localisation sur la face cytoplasmique) et des phosphatases acides qui occupent la cavité du saccule.

■ Phosphotransférases

Le CGN ou ERGIC renferme des phosphotransférases. Elles interviennent dans la phosphorylation des oligosaccharides des protéines lysosomales (formation de M6P).

■ Mannosidases

Le saccule *cis* contient des mannosidases, en particulier la mannosidase I qui retire 3 résidus mannose au cours de la maturation des protéines glycosylées.

■ NADPases

Les NADPases (nucléotide-adénine-dinucléotide-phosphatases) sont présentes dans les saccules intermédiaires. Les glycosyltransférases, contenues dans la lumière des saccules golgiens, utilisent les nucléotides glucidiques contenus dans la lumière des saccules pour ajouter un résidu glucidique à la fois à une protéine.

■ Phosphatases acides, transférases et sulfatases

Le saccule *trans* contient des phosphatases acides, ainsi que des DNases ou thiamine-pyrophosphatases, qui clivent l'UDP en UMP. Ils contiennent aussi une galactosyltransférase, une sialyltransférase (enzymes spécifiques de l'appareil de Golgi qui achèvent la glycosylation en ajoutant des molécules de galactose et des molécules d'acide neuraminidique), des sulfatases, du cytochrome b_5 et sa réductase (qui agissent au cours de l'élongation des acides gras), et une adénylate cyclase qui existe aussi dans la membrane plasmique.

■ Il est possible de mettre les **phosphatases acides** en évidence en microscopie électronique, en utilisant comme substrat le β -glycérophosphate. Les régions contenant la phosphatase acide libèrent de l'acide phosphorique qui, en présence de nitrate de plomb, donne un précipité dense au rayonnement électronique.

Protéines porteuses des glucides nucléotidiques

Des protéines porteuses assurent le passage transmembranaire. Elles permettent, en particulier, aux nucléotides-sucres de pénétrer dans les saccules golgiens afin de participer à la O-glycosylation ou à l'élaboration d'oligosaccharides complexes.

Il existe également, dans les saccules médians et *trans*, des antiports ATP/AMP qui font pénétrer une molécule d'ATP en même temps qu'une molécule d'ADP passe dans le cytosol.

Mécanisme de l'acidification des saccules

La membrane du CGN et des saccules *trans* contient une pompe à protons et un canal chlore qui fonctionnent en parallèle. Ils acidifient le contenu des saccules golgiens, réalisant ainsi un milieu favorable à la régulation de la sialylation (addition d'acide sialique ou neuraminidique), à la sulfatation et à la formation des vésicules du TGN.

■ La pompe à protons

■ Cette pompe à protons pour certains auteurs n'existerait que dans le TGN.

Cette pompe à protons ATP-dépendante diffère de l'ATP-synthase des mitochondries : elle n'est pas inhibée par l'oligomycine, mais est sensible au N-éthylmaléimide. Elle diffère aussi de la pompe à protons des lysosomes, puisque GTP n'induit pas le transport. Elle ne dépend pas de la présence de potassium et n'est pas inhibée par le vanadate.

■ Le canal chlore

La pompe à protons est électrogénique : son fonctionnement provoque une accumulation d'électrons sur la face cytosolique de la membrane des saccules. Un gradient de charge défavorable réduirait la vitesse de pompage et provoquerait une réduction de l'acidification. L'ouverture de la pompe à Cl^- provoque un shuntage de cette différence de potentiel et favorise le fonctionnement de la pompe à protons.

Dans l'appareil de Golgi, les membranes se transforment. Lorsqu'elles sont proches de la face *cis*, elles ressemblent au RE, lorsqu'elles sont voisines de la face *trans*, à la membrane plasmique. Les enzymes sont différentes d'un saccule à l'autre. Des protéines porteuses interviennent dans les transports à travers la membrane. Des pompes à protons et des canaux chlore agissent en synergie et acidifient le contenu des saccules.

Le transit des protéines issues du RE à travers l'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est le passage obligatoire pour toutes les protéines synthétisées dans le RE. Ce mécanisme a été mis en évidence, pour la première fois, par l'étude de la migration de la leucine ^3H (tritiée) dans la cellule pancréatique.

Mise en évidence

Le marquage des protéines, par des éléments radioactifs, permet de suivre leur parcours. Les premières expériences ont été réalisées sur le pancréas.

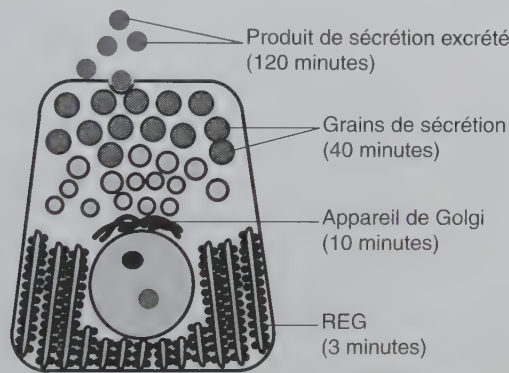
■ Un modèle expérimental : le pancréas

Le pancréas est une glande à la fois exocrine et endocrine (amphicrine). Le pancréas exocrine comprend des acini séreux et déverse son produit de sécrétion dans la lumière duodénale; le pancréas endocrine est constitué par l'ensemble des îlots de Langerhans (sécrétion endocrine d'insuline, de glucagon, etc.). Les cellules responsables de l'élaboration des enzymes pancréatiques (amylase, lipase, trypsine, chymotrypsine) se disposent en acini, formations semblables à des grumes de raisin dont la tige représenterait le canal excréteur. Chaque cellule conique, triangulaire à la coupe, repose sur une lame basale qui entoure chaque acinus. Un riche REG, associé à des mitochondries, occupe le tiers basal de la cellule, tandis que l'appareil de Golgi est supranucléaire. Enfin, les grains de sécrétion, appelés *grains de zymogène* (qui contiennent les diverses enzymes pancréatiques), se répartissent au pôle apical de la cellule.

■ Marquage des protéines par la leucine tritiée

La leucine est un acide aminé qui participe à la synthèse des protéines enzymatiques élaborées par les cellules exocrines du pancréas. L'injection intraveineuse de leucine tritiée démontre que son incorporation dans le RE se produit après trois minutes (fig. 9.5). Après 10 minutes, les saccules proximaux de l'appareil de Golgi sont marqués : les grains de sécrétion le sont 40 minutes après. Au bout de 120 minutes, le marquage intéresse le produit de sécrétion excrété. Au fur et à mesure que la radioactivité baisse dans le RE, elle s'accroît dans l'appareil de Golgi. Les grains de sécrétion augmentent progressivement en taille et récupèrent en dernier la radioactivité.

Fig. 9.5
Temps de migration de la
leucine tritiée.



Principales étapes du transport des produits élaborés par le RE

Le transport des molécules synthétisées par le RE s'effectue par des vésicules formées par bourgeonnement de la membrane du RE. Des bourgeons recouverts d'un manteau de coatomères se forment, puis se vésiculisent : ils contiennent les protéines synthétisées à transporter. Les vésicules ainsi formées perdent leur revêtement de coatomères et fusionnent avec le saccule *cis*. Le transport des protéines se poursuit ainsi, de saccule en saccule jusqu'au TGN. Il s'effectue entre les bords dilatés des saccules golgiens.

Le transfert entre le RE et l'appareil de Golgi, et entre les saccules, est GTP-dépendant. En effet, dans les cellules traitées par des analogues de GTP qui

ne peuvent pas être hydrolysés, les vésicules à coatomères s'accumulent. L'appareil de Golgi trie et dirige le transit des produits élaborés, qui acquièrent un certain degré de maturité avant d'être emballés. Ces produits sont exportés vers la membrane plasmique par des vésicules aptes à l'exocytose, c'est-à-dire à fusionner avec la membrane plasmique prévue pour l'excrétion, ou vers les *endosomes* et les *lysosomes*.

Le TGN donne naissance, par bourgeonnement, à des vésicules recouvertes soit de clathrine (sécrétion contrôlée), soit de coatomères (sécrétion constitutive) qui perdent rapidement leur revêtement.

Le contenu des grains de sécrétion se condense progressivement (vacuoles ou vésicules condensantes), grâce à une acidification induite par des pompes à protons ATP-dépendantes, localisées dans la membrane vésiculaire.

Le marquage par la leucine ^3H démontre que toutes les protéines synthétisées dans le RE passent par le Golgi. Le transport (ATP- et GTP-dépendant), entre le RE et l'appareil de Golgi et entre les saccules de l'appareil de Golgi, est assuré par des vésicules formées par bourgeonnement de la membrane du compartiment donneur. Au moment de leur formation, elles sont recouvertes de coatomères, qu'elles perdent avant leur fusion avec le compartiment accepteur.

Le transport du RE à l'appareil de Golgi par les vésicules à manteau de coatomères

■ Le CGN (réseau *cis* de l'appareil de Golgi) est souvent désigné par l'abréviation **ERGIC**.

Les coatomères sont des molécules de nature protéique, qui recouvrent la face externe des vésicules formées par bourgeonnement de la membrane du réticulum endoplasmique.

Les protéines synthétisées dans le REG sont transportées dans des vésicules qui naissent par bourgeonnement d'une région membranaire : elles sont recouvertes d'un manteau de coatomères (fig. 9.6). Les vésicules ainsi formées perdent leur manteau, puis fusionnent avec la membrane du compartiment intermédiaire (ERGIC).

Le transfert des protéines entre le compartiment ERGIC et le saccule *cis*, puis entre les différents saccules, se fait également par l'intermédiaire des vésicules à coatomères.

La reconnaissance des compartiments cibles dépend des SNAPs (soluble NSF attachment proteins; protéines d'attachement du NSF soluble) et des NSF (NEM sensitive factor; facteur sensible à NEM [NEM : N-éthylmaléimide]).

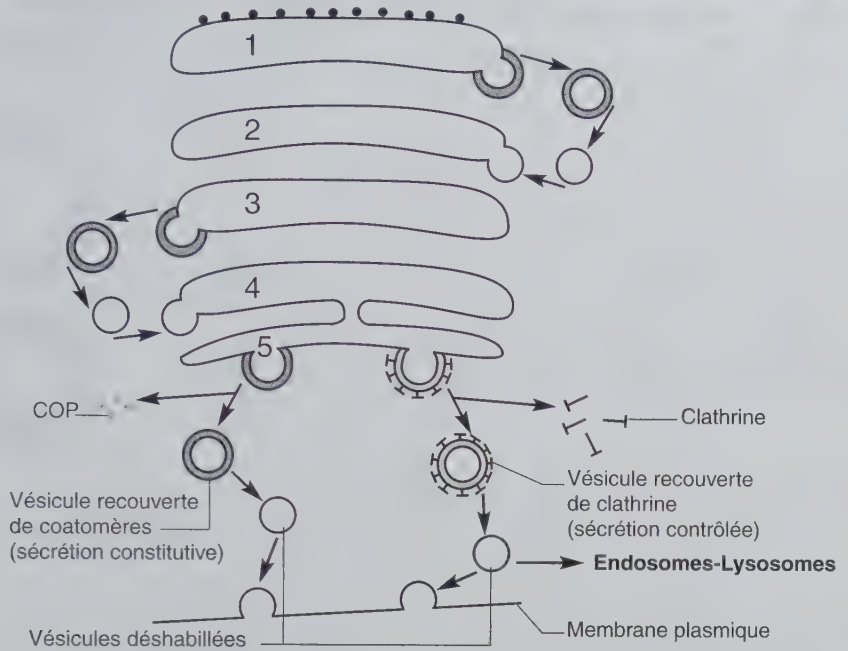
Constitution du manteau de coatomères

La formation du manteau de coatomères nécessite (fig. 9.7) :

- des coatomères, sous-unités constitutives du manteau, de nature globulaire, qui proviennent de l'assemblage de protéines majeures appelées α -, β -, γ -, δ -COPs (coatomer proteins; protéines recouvrantes), en association stœchiométrique avec plusieurs autres polypeptides de 36, 21 et 20 kDa;
- un facteur de ribosylation de l'adénine phosphate (ARF) : ARF est une petite protéine (21 kDa) de liaison à GDP, qui régule le trafic des membranes des cellules eucaryotes; elle appartient à la superfamille des petites protéines G;
- GTP. La vésiculation est inhibée par les analogues non hydrolysables du GTP (par exemple GTP- γS : guanosine 5'-3-O-(thio) triphosphate).

Fig. 9.6

Flux permanent centrifuge.
 1. REG. 2. Saccule *cis* (phosphorylation des mannoses).
 3. Saccule médian (addition de N-acétylglucosamine, élimination de mannose). 4. Saccule *trans* (addition de galactose, de l'acide N-acétyl-neuraminique, sulfatation). 5. CGN (réseau *trans* golgien).



Rôle de la protéine ARF

■ **ARF** n'est pas le seul facteur intervenant dans le transport intra-golgien. Deux autres protéines, appelées GGBF (guanosine triphosphate-dépendent Golgi binding factor; facteur de liaison guanosine triphosphate dépendant), régulent le transport intra-golgien dans des cellules en culture.

La membrane donneuse contient un facteur d'échange GDF (GDP dissolution factor; facteur de dissolution de GDP). GDF contraint l'ARF à remplacer son GDP par GTP. La modification conformationnelle d'ARF, provoquée par l'échange du GDP pour du GTP, accroît l'affinité d'ARF pour les membranes de la vésicule. Le facteur de ribosylation de l'adénine phosphate réunit les sous-unités (α -, β -, γ -, δ -COPs) à la membrane des saccules. ARF-GTP se fixe sur un des acides gras de la membrane.

Les COPs se fixent sur la membrane, à côté des molécules d'ARF-GTP. Les coatomères facilitent le bourgeonnement des saccules golgiens au cours de la formation des vésicules.

Vésiculisation

La fermeture de la vésicule en cours de formation dépend des modifications, localisées, de la composition en phospholipides du feuillet externe de la membrane. Des molécules de DAG (diacylglycérol) et d'acide phosphatidique (PA : phosphatidic acid) sont insérées dans ce feuillet. L'insertion de DAG et de PA dans le feuillet externe de la membrane augmente sa courbure.

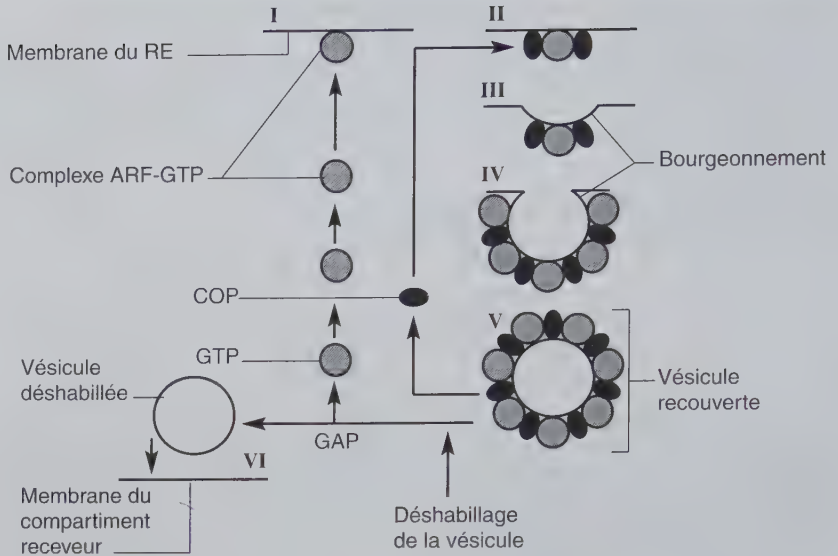
Désassemblage du manteau de coatomères

Avant la fusion entre la vésicule et le compartiment, une protéine GAP (GTPase-activating factor; protéine activant la guanosine triphosphatase), contenue dans la membrane du compartiment receveur, est libérée : elle provoque, dans le revêtement de la vésicule, l'hydrolyse de GTP en GDP. Cette hydrolyse modifie la conformation de l'ARF. Ce changement de forme induit le désassemblage du manteau (fig. 9.6 et 9.7). Le complexe ARF-GDP et les COPs libérés se rassemblent en un pool dans le cytosol.

La vésicule, devenue lisse par perte de son revêtement, peut alors fusionner avec le CGN.

Fig. 9.7

Vésicules recouvertes de coatomères.
I. Le complexe ARF-GTP se fixe sur la membrane du RE (compartiment donneur).
II. Les molécules de COP se fixent au voisinage des molécules ARF-GTP.
III et IV. Bourgeonnement.
V. Vésicules recouvertes par les COPs et les complexes ARF-GTP.
VI. Vésicule nue ou déshabillée : l'ARF hydrolyse le GTP en GDP. Les molécules COPs et GDP sont recyclées.



■ Dans le modèle de maturation des saccules, les vésicules se déplacent dans le sens rétrograde, c'est-à-dire en direction du réticulum endoplasmique. Elles transportent les enzymes vers le nouveau saccule afin de maintenir constant le contenu (par exemple enzymatique) du saccule occupant une place déterminée dans le dyctyosome : ainsi, le premier saccule a toujours la même composition, le deuxième également... grâce au transport vésiculaire. Les protéines synthétisées par le REG sont transportées par le déplacement des saccules. Le saccule *trans* se transforme en vésicules.

Transport intersacculaire

Le transfert d'un saccule à un autre se fait aussi par l'intermédiaire de vésicules recouvertes de coatomères, qui se forment à partir des bords dilatés des saccules : elles sont déshabillées avant leur fusion avec le saccule suivant. Le transfert d'un saccule au suivant, dans le sens *cis* → *trans*, s'effectue en cascade et aucun saccule n'est omis.

Le transfert des protéines entre le RE et ERGIC, puis entre les divers saccules, se fait grâce à des vésicules à coatomères. Des complexes ARF-GTP recouvrent la face externe de la membrane du compartiment qui doit se vésiculiser : ils se fixent sur un acide gras de la membrane. Les COPs se fixent ensuite sur la membrane, à côté de l'ARF-GTP. La formation de la vésicule dépend de DAG qui fournit l'énergie mécanique nécessaire à la courbure. Dès que la vésicule est formée, elle perd son revêtement par hydrolyse de GTP en GDP, grâce à une GAP (spécifique d'ARF) contenue dans la membrane du compartiment récepteur.

Les flux membranaires traversant l'appareil de Golgi

Les flux membranaires correspondent au transfert concomitant des membranes (des vésicules par exemple) et du contenu qu'elles isolent. Ces trois flux membranaires sont les flux Golgi → RE et RE → Golgi, Golgi → endosomes et endosomes → Golgi, Golgi → membrane plasmique et membrane plasmique → Golgi.

En fonction du sens du déplacement des vésicules, les flux membranaires se divisent en :

- flux vectoriel permanent centrifuge, qui se fait depuis le RE, à travers l'appareil de Golgi, en direction soit des lysosomes, des phagosomes et des endosomes, soit de la membrane plasmique ;
- flux centripète en direction du CGN, à partir des lysosomes ou des endosomes ;
- flux centripète en direction du RE, à partir de l'appareil de Golgi.

Flux vectoriel des vésicules vers la membrane plasmique

Le flux RE → appareil de Golgi est bloqué par la *bréfeldine* (molécule extraite de cellules de champignon), qui empêche l'assemblage des molécules responsables de la formation de coatomères.

Ce flux apporte, à partir du TGN, des vésicules à la membrane plasmique, vésicules dont le contenu est excrété et les membranes incorporées dans la membrane plasmique (voir fig. 9.6). Au moment de leur formation par bourgeonnement, les vésicules sont recouvertes :

- de coatomères, dans la sécrétion continue en direction de la membrane plasmique,
- de clathrine dans l'expédition de produits en direction des endosomes et des lysosomes, et dans la sécrétion contrôlée (grains de sécrétion) en direction de la membrane plasmique.

Les membranes des vésicules ressemblent à la membrane plasmique : par exemple, les constituants se distribuent asymétriquement (cette asymétrie se produit dans le RE). Les chaînes polysaccharidiques des glycolipides et des glycoprotéines recouvrent la face luminale. Cette face deviendra, après exocytose, la face externe de la membrane plasmique. De plus, les membranes des vésicules ne contiennent pas les mêmes enzymes que celles des saccules golgiens. Il n'existe ni phosphatase acide, ni cytochrome b_5 , ni sulfo- et glycosyltransférases ; par contre, l'activité 5'-nucléotidasique y est plus élevée.

L'appareil de Golgi intervient, après le RE, dans la mise en place de lipides et de protéines, comparables à ceux qui constituent la membrane plasmique. L'organisation des lipides (voir paragraphe « Synthèse des phospholipides ») et des protéines de la membrane plasmique débute dans le RE, mais dans celui-ci, les phospholipides possèdent des chaînes courtes et insaturées. Or, ils doivent être saturés pour être acceptés dans la membrane plasmique. Dans la membrane du saccule *trans*, le cytochrome b_5 intervient pour transformer les phospholipides insaturés en phospholipides saturés. La membrane du TGN est divisée en territoires qui contiennent des molécules de phospholipides saturés, des molécules de cholestérol et des glycolipides glycosylés, dont la structure est comparable à celle de la membrane plasmique. Les protéines subissent aussi des transformations dans le TGN, afin d'être acceptées par la membrane plasmique. Ces territoires participent à la formation des deux types de vésicules aptes à l'exocytose.

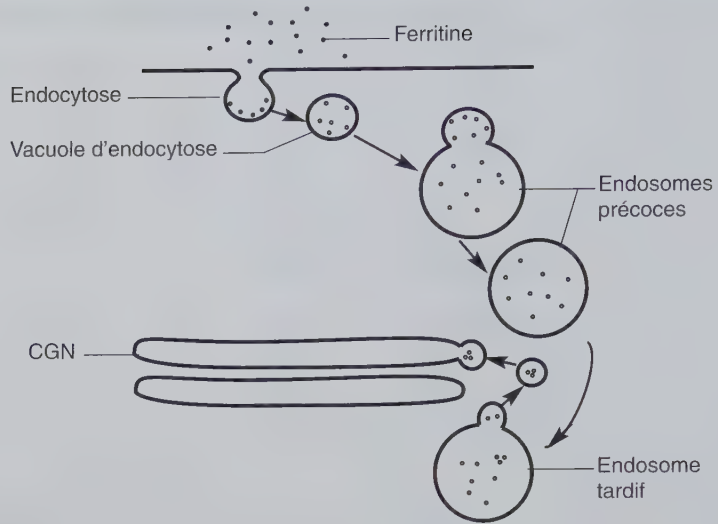
Recyclage de la membrane plasmique

Un flux centripète intervient dans le recyclage de la membrane plasmique (fig. 9.8). La quantité de membranes incorporées par exocytose dans la membrane plasmique pourrait perturber gravement le fonctionnement cellulaire s'il n'existait pas un mécanisme de régulation (dont on connaît mal les commandes) qui assure une constance de la surface membranaire. L'endocytose permet l'internalisation de l'excès membranaire.

Le devenir de cette membrane internalisée a été étudié par marquage à la *ferritine*. La ferritine possède une forte affinité pour les glycoprotéines et les glycolipides, à cause de leurs charges négatives. Une culture de cellules, en présence de ferritine, montre que celle-ci pénètre dans les cellules par les vésicules d'endocytose. La ferritine endocytée est retrouvée dans les endosomes tardifs, puis dans le CGN.

Fig. 9.8

Flux membranaire centripète endosome-Golgi. (Les vésicules sont représentées sans leur revêtement de clathrine.)



Retour des membranes golgiennes au RE

Ce flux assure également le retour des protéines résidentes du RE, qui ont été transportées dans les saccules *cis* de l'appareil de Golgi. Cette voie de retour est bloquée par le nocodazole.

Dans le flux centrifuge permanent, qui se fait en direction de la membrane plasmique, les vésicules sont recouvertes par des coatomères, celles du flux contrôlé par des molécules de clathrine (ainsi que les vésicules destinées aux endosomes et aux lysosomes). Un flux centripète assure l'homéostasie de la membrane plasmique; un autre retourne des membranes du Golgi au RE.

Fonctions de l'appareil de Golgi

La principale modification subie par les protéines au cours de leur traversée de l'appareil de Golgi est la *glycosylation*. Chez les Eucaryotes, certains glucides se lient à O (fonction hydroxyle des hydroxylysines, sérine ou thréonine) et d'autres à N (fonction amide de l'asparagine).

Les *oligosaccharides liés à O* sont additionnés aux protéines de sécrétion ou aux protéines membranaires, dans les saccules de l'appareil de Golgi, par des glycosyltransférases, quelques minutes avant de gagner la membrane plasmique. Les *oligosaccharides liés à N* proviennent du RE : ils subissent, dans l'appareil de Golgi, toute une série de remaniements.

La O-glycosylation

Les précurseurs des protéines O-glycosylées sont des glucides associés à des nucléotides (UDP-Gal : galactose lié à l'UDP; CMP-NANA : acide N-neuraminidique lié à CMP, etc.). Ils sont synthétisés dans le cytosol. Ils peuvent :

- pénétrer dans les saccules golgiens par l'intermédiaire d'une protéine porteuse spécifique,
- ou s'insérer dans la membrane des saccules.

Une O-oligosaccharide-protéine-transférase glycosyle les protéines contenues dans la lumière des saccules golgiens ou le domaine luminal de certaines protéines golgiennes membranaires. Cette enzyme fixe le glucide sur l'oxygène d'un radical aminé de la sérine, ou de la thréonine, ou de l'hydroxylysine. Après fixation du glucide, le nucléotide s'en sépare et perd son phosphate, qui regagne le cytosol.

La poursuite de la N-glycosylation

■ On ne sait pas si chaque enzyme se limite à occuper un seul type de saccule ou s'il n'existe pas un gradient à travers l'empilement.

L'appareil de Golgi est une suite de compartiments de transformation des chaînes oligosaccharidiques provenant de la N-glycosylation dans le RE. Chacun des saccules golgiens contient ses propres enzymes (voir « Contenu enzymatique des saccules »), de telle sorte que chacun de ces compartiments golgiens accomplit toujours les mêmes modifications des molécules :

- phosphorylation des mannoses dans le saccule *cis*;
- élimination des mannoses, addition de N-acétylglucosamines (GlcNAc), début de l'O-glycosylation dans les saccules médians;
- addition de galactose, d'acide N-neuraminidique (NANA), sulfatation dans le saccule *trans*.

■ Devenir des différentes classes d'oligosaccharides

Il existe deux classes d'oligosaccharides : les oligosaccharides riches en mannose et les oligosaccharides complexes. En fonction de la protéine qui porte ces oligosaccharides, l'appareil de Golgi effectue des modifications et/ou des ajouts, qui aboutissent à la formation soit d'oligosaccharides riches en mannose, soit d'oligosaccharides complexes. Ces deux types d'oligosaccharides peuvent parfois être liés au même polypeptide.

Les oligosaccharides riches en mannose

Ces oligosaccharides contiennent de très nombreux résidus mannose et deux molécules de N-acétylglucosamine. Ils ne subissent aucun ajout dans l'appareil de Golgi.

Les oligosaccharides complexes

Ces oligosaccharides peuvent contenir plus de deux molécules de N-acétylglucosamine, des résidus galactose et d'acide sialique et parfois des résidus fucose. Ils subissent des modifications importantes dans l'appareil de Golgi.

■ Les glycoprotéines lysosomales

Voir chapitre 10 « Les lysosomes ».

■ Les glycoprotéines destinées à la membrane plasmique

Les glycoprotéines, qui deviendront des glycoprotéines membranaires intrinsèques et périphériques externes, ne subissent aucune modification dans la partie *cis* de l'appareil de Golgi. Dans les saccules médians, une première série de transformations se produit : les mannosidases I et II éliminent quatre molécules de mannose. Puis, la N-acétyl-glucosamine-transférase ajoute une molécule de N-acétylglucosamine (saccule *trans*). La maturation finale se déroule dans les saccules *trans* : une galactosyltransférase, une fucosyltransférase et une sialyltransférase ajoutent,

respectivement, trois molécules de galactose, trois molécules de fucose, trois molécules d'acide sialique.

■ Les protéoglycanes

Les glycosyltransférases catalysent la formation des protéoglycanes, par addition tout d'abord de la N-acétylgalactosamine, puis d'au moins une dizaine de résidus glucidiques, sur les fonctions OH (O-glycosylation) de la sérine et de la thréonine occupant les branches latérales d'une protéine. Le premier sucre fixé est un tétrasaccharide (par exemple le xylose), auquel se combinent des résidus glucidiques, par action de glycosyltransférases spécifiques (galactose, acide glucuronique). Sur le dernier sucre se fixe une longue chaîne polymérisée de GAG (glucosaminoglycane).

■ Sulfatation des glycoconjugués

Les glycoprotéines, les GAGs, les protéoglycanes subissent souvent une sulfatation. Cette sulfatation se déroule dans le saccule *trans*, à partir d'une molécule donneuse de soufre, le PAPS (phosphoamino-phosphosulfate), d'origine cytosolique. Une protéine porteuse lui permet de pénétrer dans le saccule *trans*, où se déroule la sulfatation, qui dépend de sulfotransférases (enzymes nécessaires à la fixation de radicaux sulfate) localisées dans la membrane golgienne.

Le Golgi modifie les chaînes oligosaccharidiques des protéines (sauf celles qui sont riches en mannose) N-glycosylées. Il assure la O-glycosylation à partir de précurseurs cytosoliques, les nucléotides glycosylés (ils ne viennent donc pas du RE).

Synthèse des sphingolipides

Son lieu est le feuillet luminal de la membrane des saccules *cis* et *trans* selon un mécanisme voisin de celui qui se déroule dans le réticulum endoplasmique. Par autohistoradiographie, on peut observer l'incorporation de choline marquée par le ^{14}C dans les membranes de l'appareil de Golgi. On retrouve le ^{14}C dans les membranes de l'appareil de Golgi, dans les phosphatidylcholines. Dans le RE, les acides gras et le glycérol proviennent du cytosol. Les acides gras sont activés par le CoA, le glycérol est lié à un phosphate. Ils s'insèrent séparément dans le feuillet externe de la membrane des saccules. Les acides gras libèrent CoA qui sera à nouveau disponible pour l'activation d'autres molécules, tandis que le glycérol conserve son phosphate. Deux acides gras se combinent à la molécule de glycérol phosphate : cet assemblage se produit dans le feuillet cytosolique et aboutit à la formation d'un phosphatidate (diacylglycérol-3-phosphatidate). La cytosine diphosphate (CDP), d'origine cytosolique, combinée à des molécules possédant une fonction alcool (provenant du cytosol ou des mitochondries) soit la choline, soit l'éthanolamine, soit la sérine... libère ces molécules en les associant au diacylglycérol-3-phosphate pour former un phospholipide. Dès que ce phospholipide est synthétisé, il passe dans le feuillet interne (luminal) par un mouvement de flip-flop.

L'appareil de Golgi synthétise les sphingolipides selon un mécanisme voisin de celui employé par le RE.

Synthèse et exportation d'enzymes

Certaines enzymes ne peuvent être synthétisées que grâce à la présence, dans les membranes du TGN, de transporteurs spécialisés qui amènent à la molécule le complément nécessaire à son fonctionnement. Ainsi, les *fibroblastes*, qui synthétisent les fibres de collagène, possèdent une *lysyl-oxydase*, une métallo-enzyme à cuivre. La lysyl-oxydase catalyse la déamination oxydative du radical ϵ -aminé du collagène ou de l'élastine : elle est responsable de la formation de l'aldéhyde correspondant, dont la combinaison avec une lysine d'une autre chaîne peptidique entraîne la formation des ponts interchaînes dans les fibres de collagène. Les fibres de collagènes sont en effet constituées par des chaînes parallèles les unes aux autres. Les membranes du TGN de ces cellules contiennent donc des perméases qui permettent le passage transmembranaire du cuivre. De tels transporteurs appartiennent à la famille des perméases de type ATPase.

La membrane du TGN contient des *prohormones convertases* qui sont des *endoprotéases*. En pH acide, elles activent des prohormones en clivant la séquence peptidique qui les inactivait. Elles appartiennent pratiquement toutes à la famille des *prohormones convertases* (PC) apparentée à la subtilisine (une protéase produite par une bactérie du genre *Bacillus amylolique faciens*). En fonction de leur similitude de séquence avec la subtilisine, elles se divisent en PC1 (localisées soit dans le TGN, soit autour du noyau) et en PC2 (localisées dans le TGN et dans le cytoplasme périphérique). Ces enzymes peuvent abandonner leur localisation intramembranaire et passer dans les grains de sécrétions : elles interviennent alors dans la maturation des protéines qui sont excrétées. Ainsi, les prohormones, pour devenir des hormones actives, doivent être catalysées par une prohormone convertase : les *prohormones convertases* éliminent la fraction inactivante de l'hormone. Par exemple, la gastrine (une hormone peptidique produite par l'estomac, qui stimule la sécrétion des enzymes digestives) est synthétisée sous la forme d'un volumineux précurseur. Pour être active, elle subit un clivage endoprotéolytique qui dépend d'une prohormone convertase.

Les endoprotéases peuvent aussi demeurer intramembranaires, s'intégrer à la membrane plasmique au cours de l'exocytose et lyser des molécules extracellulaires. Elles regagnent ensuite le TGN grâce à l'endocytose.

Une lysyl-oxydase, dans les fibroblastes, achève sa synthèse dans le TGN en se combinant avec Cu^{++} qui pénètre dans ce saccule grâce à une perméase. Les citernes contiennent des *prohormones convertases* qui, dans le TGN et surtout dans les grains de sécrétion, convertissent les *prohormones* en hormones.

Stockage du calcium

Comme d'autres organites (la mitochondrie, le réticulum endoplasmique), les saccules golgiens sont capables de stocker le calcium, ce qui est important, car le calcium est un messenger cytosolique ubiquitaire intervenant, chez les Eucaryotes, dans de nombreuses voies de transduction de signaux.

La concentration du calcium dans une cellule non excitée est de 100 mM alors que la concentration extracellulaire est de 1,5 mM. La membrane renferme un échangeur sodium-calcium : le gradient de Na^+ fournit l'énergie nécessaire au stockage du calcium. Une protéine intra-sacculaire fixe les ions calcium dans la lumière. Une Ca^{2+} -ATPase, faisant partie de la classe des transporteurs ATPases ions-motrices de

type P (P pour phosphorylé), est localisée dans la membrane des saccules : elle pompe le calcium hors des saccules. Pour chacune des molécules d'ATP hydrolysées par la Ca^{2+} -ATPase, deux Ca^{2+} sont transportés. Un système identique fonctionne de la même manière dans le réticulum endoplasmique.

Un échangeur calcium/sodium concentre le calcium dans les saccules golgiens. Une Ca^{2+} -ATPase pompe le calcium et le déverse dans le cytosol.

Rôle de l'appareil de Golgi dans l'autophagie

Le *réseau trans golgien* ou TGN est un compartiment qui présente un certain nombre de similitudes avec les endosomes et les lysosomes.

Tout d'abord, le traitement de cellules par la bréfeldine A démontre qu'il existe, dans la cellule, deux grands systèmes circulatoires désignés par le mot bloc. Le premier bloc regroupe le réticulum endoplasmique associé à l'appareil de Golgi, le second bloc englobe le réseau de Golgi *trans* (TGN) lié aux endosomes et à la membrane plasmique.

Ensuite, il possède une pompe à protons (ATPase à protons, H^+ ATPase) qui acidifie son contenu. Il contient une phosphatase acide qui a longtemps été considérée comme marqueur des lysosomes. Mais la présence de la phosphatase acide, une enzyme lysosomale, est en accord avec le fait qu'un des prolongements de ce réseau *trans* golgien est susceptible de former la membrane des *vacuoles autophagiques*. Cette citerne peut, en s'allongeant, entourer une région du cytoplasme contenant des molécules, des organites qui ne sont plus en état de fonctionner normalement. Les molécules sont d'ailleurs signalées par un marquage tout à fait comparable à celui qui résulte de l'*ubiquitinylation*.

Un certain nombre d'auteurs pensent encore que c'est le REL qui est responsable de la formation des vacuoles autophagiques.

Tri des produits élaborés par le RE

L'expédition des produits élaborés par le RE nécessite :

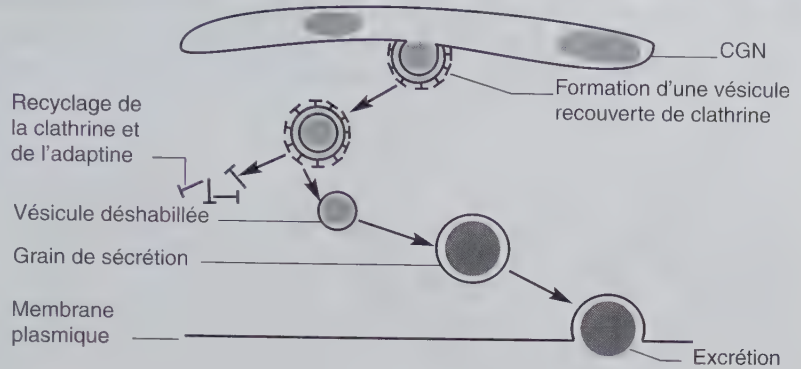
- des opérations de tri entre le RE et ERGIC;
- un emballage dans des vésicules recouvertes de coatomères, qui progressent de saccules en saccules depuis le RE jusqu'au CGN;
- un dernier tri dans le CGN;
- un emballage, par la membrane du TGN, soit dans des vésicules à coatomères de la sécrétion continue, soit dans des vésicules à clathrine de la sécrétion contrôlée (fig. 9.9).

Conditions à l'exportation des protéines du RE

L'exportation des protéines du RE doit respecter un certain nombre de conditions. Les protéines ne doivent pas être mal assemblées ou mal repliées, sinon elles sont détruites soit dans le RE, soit dans le cytosol. Elles ne doivent pas porter de signaux de rétention KDEL (K : lysine, D : acide aspartique, E : acide glutamique, L : leucine), K (X) KXXX (K : lysine, X : n'importe quel acide aminé, K peut être en 3^e, 4^e, 5^e position) et RR (R : arginine).

Fig. 9.9

Sécrétion contrôlée. Les vésicules à clathrine, formées par bourgeonnement du CGN, perdent leur revêtement (clathrine + adaptine) qui est recyclé. Les vésicules déshabillées subissent une maturation caractérisée par l'augmentation de la taille, de la densité et surtout par l'action d'endopeptidases qui éliminent la fraction peptidique inactivante de la protéine.



■ Signal de rétention

La séquence KDEL n'empêche pas l'exportation dans le saccule *cis*, mais l'appareil de Golgi possède, dans ses membranes, des récepteurs ERD (endoplasmic reticulum receptor defective). La fixation du ligand (protéine porteuse de KDEL) sur ERD dépend du pH. Un pH 5 est optimum pour une telle fixation (plus les saccules golgiens sont proches de CGN, plus leur contenu est acide). Ces récepteurs ERD reconnaissent la séquence KDEL et fixent les protéines porteuses de cette séquence. Comme ces récepteurs contiennent, en plus d'un signal d'adressage et de rétention pour l'appareil de Golgi, un signal d'adressage et de rétention pour le RE (séquence KKXX; lysine-lysine, X représentant n'importe quel acide aminé), la protéine reconnue est reconduite dans une vésicule nue, formée par le bourgeonnement de la membrane du saccule *cis*. Un microtubule et des molécules de kinésine interviennent dans le déplacement de cette vésicule. ERD, après avoir délivré son ligand dans la lumière du RE, regagne, grâce à une vésicule, la membrane du saccule *cis*.

■ Signaux d'inhibition de la vésiculisation

Les protéines transmembranaires, dont la terminaison aminée est située dans la lumière du RE (*protéine de type I*), portent une séquence K (X) KXX. Les coatomères ne peuvent former un manteau dans les régions contenant les protéines transmembranaires ainsi marquées : la vésiculisation nécessaire à l'exportation ne peut pas se dérouler.

Les protéines transmembranaires, dont le carboxyle est situé dans la lumière du RE (*protéine de type II*), portent une séquence RR.

Les séquences K (X) KXX et RR pourraient être reconnues par des récepteurs semblables à ceux de KDEL ou interagir avec la machinerie de transport rétrograde. En effet, des travaux très récents montrent que ces motifs KX et RR existent dans des protéines non résidentes du RE, comme ERGIC 53 (motif K (X) KXX) et p63 (motif RR).

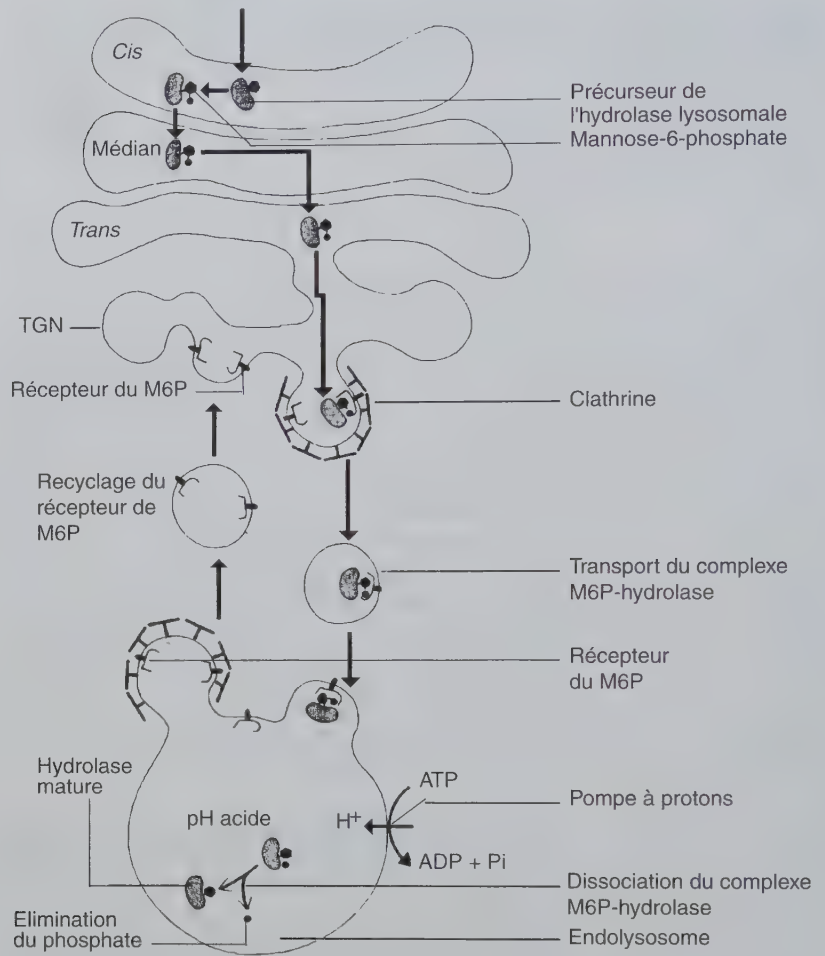
L'étiquetage des protéines lysosomales

Le marquage de certaines protéines se fait dans le compartiment *cis* : c'est le cas pour les protéines lysosomales. L'activité hydrolasique est localisée spécifiquement dans le TGN et dans des petites vésicules lisses de cette face. Les protéines lysosomales immatures pénètrent dans les saccules *cis* de l'appareil de Golgi.

Dans le saccule *cis* (fig. 9.10), une phosphotransférase phosphoryle le mannose en mannose-6-phosphate (M6P). Le M6P marque les précurseurs des hydrolases, en se fixant sur les oligosaccharides N-glycosylés.

Fig. 9.10

Transport des enzymes lysosomales (d'après ALBERTS et coll.). Les précurseurs des enzymes lysosomales élaborées dans le REG sont marqués par des groupements mannose-6-phosphate dans le saccule de la face *cis* et isolés des autres protéines dans le saccule *trans*. Les bourgeonnements de la membrane du saccule *trans* sont recouverts de molécules de clathrine et, de plus, possèdent de nombreux récepteurs de mannose-6-phosphate. Les vésicules, une fois formées, perdent leurs molécules de clathrine avant de fusionner avec un endolysosome (compartiment intermédiaire qui peut former soit un lysosome, soit donner naissance à un autophagolysosome ou à un phagolysosome).



Dans les saccules médians, les précurseurs des hydrolases subissent une maturation au cours de leur progression vers le saccule *trans*. Les protéines lysosomales perdent, par action d'une mannosidase, un ou plusieurs résidus mannose. Elles sont regroupées par des récepteurs, les M6P-Rs (des lectines), du réseau *trans* de l'appareil de Golgi (TGN), qui reconnaissent les hydrolases et les capturent. Ces récepteurs sont clathrine-dépendants : il se forme ainsi des vésicules recouvertes de clathrine et contenant les hydrolases fixées à leur récepteur.

Ces vésicules, une fois déshabillées, sont aiguillées, grâce aux v-SNAPs, vers des structures porteuses de t-SNAPs (voir « Adressage des vésicules aux membranes »). Le récepteur est ramené à la face *trans* : il abandonne une vésicule qui ne contient plus que des hydrolases.

Les vésicules de transport des hydrolases fusionnent avec les phagosomes ou les endosomes tardifs. Les enzymes lysosomales se dissocient des récepteurs du M6P. Les récepteurs du M6P se regroupent en zones membranaires qui bourgeonnent. Des

molécules de clathrine recouvrent ces zones membranaires qui se vésiculisent. Les vésicules à clathrine ainsi formées libèrent les molécules de clathrine dans le cytoplasme et retournent vers le TGN. Leur membrane s'intègre alors à celle du TGN de l'appareil de Golgi, qui récupère les récepteurs de M6P. La lyse du contenu des phagosomes ou des endosomes peut commencer.

Le tri réalisé par le TGN

Le tri le plus simple réalisé par le TGN consiste à différencier les produits de la sécrétion constitutive (transportés par des vésicules à coatomères) et ceux de la sécrétion contrôlée délivrés par des vésicules recouvertes de clathrine. De plus, dans les cellules polarisées, le TGN trie les protéines destinées soit à la région apicale, soit à la région baso-latérale.

Dans la sécrétion contrôlée, les protéines sont accumulées dans des grains de sécrétion immatures, recouverts par des molécules de clathrine. La maturation de ces grains commence par la perte du revêtement de clathrine et d'adaptine (AP-1 et AP-2 : adaptor protein 1 et 2). Ces molécules peuvent :

- être séparées de la membrane par des Hsp de déshabillage,
- ou se regrouper dans des zones membranaires qui forment, par bourgeonnement, des vésicules recouvertes; ces vésicules gagnent les endosomes.

■ Signaux de tri

Les signaux de tri sont des séquences d'acides aminés localisées sur la face cytosolique de la membrane du TGN : ces signaux appartiennent à des récepteurs membranaires. Les sites appropriés d'exportation sont des régions de la membrane du TGN, qui forment des vésicules destinées à une région déterminée de la cellule.

Dans le TGN, les protéines subissent un ultime tri. Dans les cellules polarisées par exemple, les molécules destinées à la région apicale, à la région baso-latérale ou aux endosomes pénètrent dans des bourgeons distincts. Cette incorporation dans des vésicules différentes est un processus actif. La membrane du TGN contient des récepteurs (leur site de liaison est tourné vers la lumière du compartiment golgien) des substances à transporter. L'incorporation dans les vésicules dépend des signaux cytosoliques des récepteurs membranaires.

Ces signaux des récepteurs interagissent avec les composants du revêtement des vésicules en cours de formation. Le signal des récepteurs du M6P est une séquence YSKV (tyrosine, sérine, lysine, valine), située dans le domaine cytosolique. L'adaptine interagit avec la séquence YSKV et capture les récepteurs transmembranaires déjà liés, ou qui se lieront, spécifiquement aux protéines à transporter. Les molécules M6P sont donc triées vers les territoires recouverts par les complexes clathrine/adaptine.

Les glycoprotéines membranaires associées aux lysosomes (Lamp : lysosome-associated membrane glycoprotein) sont triées par le TGN afin d'être dirigées vers les endosomes tardifs. Elles possèdent un signal de tri GYQTI (glycine, tyrosine, glutamine, thréonine, isoleucine) qui interagit directement avec les molécules d'adaptine qui recouvrent la face cytosolique des vésicules à clathrine en cours de formation. Lamp-1 a été identifié dans les vésicules à clathrine qui s'assemblent sur le TGN.

Par contre, le récepteur de la transferrine possède un signal d'internalisation YTRF (tyrosine, thréonine, arginine, phénylalanine) : ce signal possède une affinité pour

les territoires membranaires recouverts de coatomères, responsables de la formation de vésicules destinées à la région baso-latérale. La transferrine est donc transportée vers la région baso-latérale, où elle sera excrétée.

■ Nature des vésicules formées dans le TGN

Les vésicules de sécrétion ou de transport perdent leur revêtement. Les vésicules sont :

- des grains de sécrétion libérés par exocytose en réponse à un signal. Ces protéines destinées à la sécrétion se présentent sous la forme d'agrégats sélectifs; la vésicule perd ses molécules de clathrine et d'adaptine. Une protéine chaperonne, appartenant à la famille des Hsp70 (ayant une activité ATPasique), en présence d'ATP, intervient dans ce mécanisme. Les molécules de clathrine et d'adaptine libérées constituent un pool : elles peuvent être réutilisées.
- des vésicules de transport destinées à déverser leur produit dans les endosomes.

■ Maturation des grains de sécrétion

La vésicule de sécrétion déshabillée est un grain de sécrétion immature. Elle subit une maturation caractérisée par une augmentation de sa taille et de sa densité et par une protéolyse partielle des protéines contenues (voir aussi « Synthèse et exportation des enzymes »).

La plupart des protéines sécrétoires parviennent à l'appareil de Golgi sous une forme inactive, une *proprotéine*. Une protéolyse, qui se déroule dans le compartiment *trans* et/ou dans les grains de sécrétion, élimine la fraction inactivante de la protéine et la transforme en protéine active.

L'insuline est sécrétée par les cellules β du pancréas endocrine sous la forme d'une préproinsuline. Dès que cette molécule se trouve dans le RE, une endopeptidase élimine la séquence signal et transforme la préproinsuline en proinsuline. La molécule de proinsuline est transportée dans l'appareil de Golgi, empaquetée dans des grains de sécrétion : une protéolyse clive la proinsuline en insuline et peptide C.

Le clivage des préprotéines est un mécanisme commun de l'activation des enzymes. Les protéases digestives en sont un exemple classique. Les précurseurs inactifs du zymogène sont stockés dans des grains de sécrétion et activés par protéolyse après la sécrétion. Ainsi, le trypsinogène (précurseur sécrété par les cellules du pancréas exocrine) est clivé en un peptide et en trypsine (enzyme active), le chymotrypsinogène en deux peptides et en chymotrypsine (enzyme active).

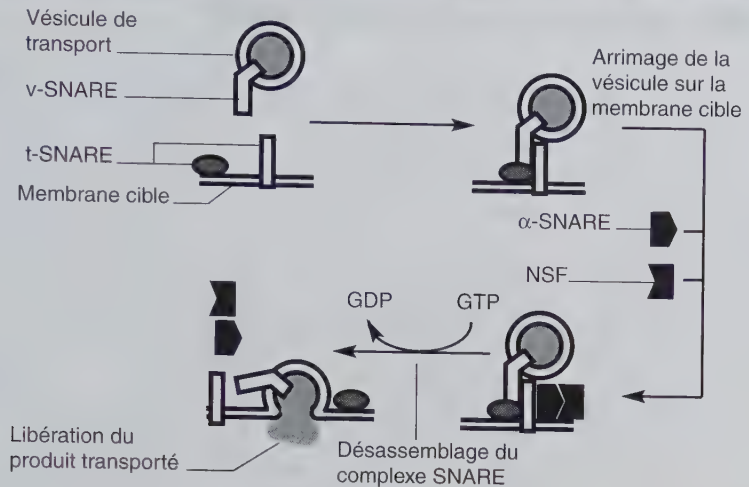
■ Adressage des vésicules aux membranes

L'adressage est un marquage de la membrane des vésicules (qu'elles proviennent de vésicules à coatomères ou à clathrine), qui leur permet de reconnaître ou d'être reconnues par le compartiment membranaire avec lequel elles doivent fusionner pour délivrer leur produit.

Les protéines SNAPs et NSF

Les protéines SNAPs et NSFs sont des protéines cytosoliques qui jouent un rôle essentiel dans la fusion de la vésicule et de la membrane du compartiment accepteur, qui peut être la membrane plasmique (fig. 9.11).

Fig. 9.11
Adressage des vésicules.



NSF est un complexe protéique qui empêche la fusion de la membrane vésiculaire avec la membrane du compartiment récepteur. SNAP, en se combinant à NSF, neutralise son action.

Les protéines SNAREs

Les protéines SNAREs (SNAP receptors; récepteurs de SNAP) regroupent les v-SNAREs (vesicular SNAP receptors; récepteurs vésiculaires de SNAP) situés dans la membrane de la vésicule et les t-SNAREs (target SNAP receptors; récepteurs cibles de SNAP) situés dans la membrane du compartiment récepteur. Elles permettent la reconnaissance des membranes.

La phase d'arrimage

Les sites v-SNAREs, en présence de GTP, reconnaissent les sites t-SNAREs de la membrane du site récepteur et s'associent à eux. Les protéines rab (qui appartiennent à la superfamille ras de GTPases) contrôlent la fixation de v-SNARE sur t-SNARE. En même temps, SNAP forme un complexe avec NSF : ce complexe SNAP/NSF s'associe à la fois à v-SNARE (membrane de la vésicule) et à t-SNARE (membrane du compartiment receveur).

La fusion

Immédiatement après la phase d'arrimage, la membrane de la vésicule fusionne avec celle du compartiment accepteur, dans lequel la vésicule libère son produit. L'hydrolyse du GTP en GDP en présence de Rab est nécessaire à la fusion des membranes, qui est immédiatement suivie par le désassemblage du complexe v- et t-SNARE/NSF/SNAP.

Le Golgi trie les produits venant du RE grâce aux signaux KDEL, K (X) KXX et RR. Il marque, dans le saccule *cis*, les hydrolases immatures avec M6P. Au moment de l'exportation, v-SNAREs assurent l'adressage des vésicules à des compartiments porteurs de t-SNAREs. SNAPs assurent la fusion avec le compartiment récepteur. Les proprotéines sont activées dans l'appareil de Golgi (par exemple l'insuline).

■ Origine de l'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi montre, dès le début de la division cellulaire, d'importantes modifications : il se fragmente. Cette fragmentation est réversible; elle est probablement due à une inhibition mitotique du trafic membranaire. Tous les auteurs sont d'accord sur cette fragmentation précoce. Par contre, leur avis diffère sur le devenir des membranes golgiennes. Certains ont montré que les composants sont redistribués au réticulum endoplasmique (ce qui est en accord avec la théorie de la maturation), tandis que d'autres ont observé que les membranes golgiennes forment des groupes de petite taille, qui s'associent aux microtubules du fuseau et qui sont transportés dans chacune des cellules filles.

Dans le cas d'une *redistribution au REG*, le nouvel appareil de Golgi de chaque cellule fille se différencie à partir du REG.

Dans le cas des *membranes golgiennes associées aux MTs*, les vésicules provenant de la fragmentation se déplacent en direction du centrosome le long des MTs qui se reforment au tout début d'interphase et fusionnent pour reformer un appareil de Golgi.

Il est probable que les cellules eucaryotes utilisent des stratégies extrêmement différentes pour transmettre l'appareil de Golgi aux cellules filles au moment de la mitose et que les deux mécanismes postulés ne sont pas exclusifs.

D'ailleurs, chez *Saccharomyces cerevisiae*, la levure de la bière, les deux mécanismes existent : une partie de l'appareil de Golgi provient d'une différenciation du RE et l'autre de citernes de la face *cis*. Chez la Levure, la division cellulaire se fait par bourgeonnement. Au cours de cette division, les vacuoles et les mitochondries sont transportés dans le bourgeon en cours de formation grâce à des mécanismes dépendant des MFs d'actine. Il n'est donc pas étonnant de constater que les éléments tardifs de l'appareil de Golgi (c'est-à-dire les éléments proches de la face *trans*) sont rapidement entraînés dans le bourgeon par des MFs d'actine : cela est confirmé par une mutation qui prive les levures de MFs d'actine. Cette mutation empêche le passage des éléments tardifs de l'appareil de Golgi dans le bourgeon. Les éléments précoces de l'appareil de Golgi (le CGN et les saccules les plus proches), par contre, se forment par différenciation des membranes du REG présentes dans le bourgeon.

L'appareil de Golgi est reconstitué dans les cellules filles soit à partir des saccules fragmentés accrochés aux microtubules du fuseau, soit par le REG dans lequel l'appareil de Golgi s'est redistribué avant la mitose.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

AP	Adaptor Protein; protéine adaptatrice
ARF	Adenosine diphosphate Ribosylation Factor; facteur de ribosylation de l'adénosine diphosphate.
ATP	Adénosine TriPhosphate
BFA	BréFeldine A
CGN	<i>Cis</i> Golgi Network; réseau <i>cis</i> de l'appareil de Golgi
CMP	Cytosine MonoPhosphate

COP	COated Protein; protéine recouvrante
DAG	DiAcylGlycérol
ERD	Endoplasmic Reticulum receptor Defective
ERGIC	Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment; compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique-appareil de Golgi
GAG	GlucosAminoGlycane
GAP	GTPase-Activating Factor; protéine activant la guanosine triphosphatase
GDF	GDP Dissolution Factor; facteur de dissolution de GDP
GDP	Guanosine DiPhosphate.
GGBF	Guanosine triphosphate-dependent Golgi Binding Factor; facteur de liaison guanosine triphosphate-dépendant
GlcNAc	N-acétylglucosamine
GTP	Guanosine TriPhosphate
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
Lamp	Lysosome-associated membrane glycoprotein; glycoprotéine membranaire associée au lysosome
M6P	Mannose-6-Phosphate
M6P-R	Mannose-6-Phosphate Receptor; récepteur du mannose-6-phosphate
MT	MicroTubule
MTOC	MicroTubules Organizing Center; centre organisateur des microtubules
NADPase	Nucléotide Adénine Dinucléotide Phosphatase
NANA	N-AcétylNeurAminidic acid; acide N-acétylneuraminidique
NEM	N-EthylMaléimide
NSF	NEM Sensitive Factor; factor sensible à NEM
PA	Phosphatidic Acid; acide phosphatidique
PAPS	Phospho-Amino-Phospho-Sulfate
RE	Réticulum Endoplasmique
REG	Réticulum Endoplasmique Granulaire
SNAP	Soluble NSF Attachment Protein; protéine d'attachement du NSF soluble
SNARE	SNAP REceptor; récepteur de SNAP
TGN	Trans Golgi Network; réseau <i>trans</i> de l'appareil de Golgi
t-SNAP	Target Soluble NSF Attachment Protein; protéine cible d'attachement du NSF soluble
t-SNARE	target SNAP REceptor; récepteur cible de SNAP
UDP	Uridine 5'-DiPhosphate
UDP-Gal	Galactose lié à l'UDP
UMP	Uridine 5'-MonoPhosphate
v-SNAP	vesicular Soluble NSF Attachment Protein; protéine vésiculaire d'attachement du NSF soluble
v-SNARE	vesicular SNAP REceptor; récepteur vésiculaire de SNAP

■ 1. L'appareil de Golgi possède :

- ☐ 1. une structure asymétrique.
- ☐ 2. une face *trans* tournée vers le RE.
- ☐ 3. un réseau golgien en position *trans*.
- ☐ 4. trois à dix saccules.
- ☐ 5. des saccules d'un diamètre moyen de 1 à 3 μm .

■ 2. Les expériences utilisant la proline marquée montrent que, dans une cellule sécrétoire, il existe :

- ☐ 1. un compartiment d'assemblage des protéines.
- ☐ 2. un compartiment de transit des protéines.
- ☐ 3. un compartiment d'accumulation des protéines.
- ☐ 4. un transit direct depuis la membrane plasmique au grain de sécrétion.
- ☐ 5. un transit rétrograde (des protéines) localisé dans le pôle apical.

■ 3. Le CGN :

- ☐ 1. est un compartiment intermédiaire dont le marqueur est la protéine ERGIC-53.
- ☐ 2. correspond au saccule occupant la face *cis*.
- ☐ 3. est formé de structures tubulo-vésiculaires qui s'interposent entre le RE et l'appareil de Golgi.
- ☐ 4. fusionne avec les vésicules de transition après qu'elles ont perdu leur revêtement de clathrine.
- ☐ 5. ne reçoit plus de molécules venant du RE après traitement par micro-injection d'anticorps anticonatomères.

■ 4. Dans le modèle de maturation de l'appareil de Golgi :

- ☐ 1. les vésicules à coatomères qui transportent des molécules d'un saccule à un autre se déplacent dans le sens antérograde.
- ☐ 2. la face *cis* est une face de formation.

- ☐ 3. les citernes subissent, en se déplaçant, une maturation progressive.
- ☐ 4. ce modèle est en partie en accord avec la transmission de l'appareil de Golgi dans les cellules fille après la mitose.
- ☐ 5. le renouvellement complet des dictyosomes se fait en 20 à 40 minutes.

■ 5. Dans le modèle vésiculaire, l'appareil de Golgi,

- ☐ 1. contient un nombre constant de saccules.
- ☐ 2. intervient dans la maturation des produits.
- ☐ 3. transporte les molécules du RE par la seule intervention des saccules.
- ☐ 4. possède des saccules qui sont statiques.
- ☐ 5. peut se reformer après fragmentation des saccules.

■ 6. Au cours d'un traitement par le taxol :

- ☐ 1. le RE vient occuper le centre de la cellule.
- ☐ 2. les vésicules demeurent complètement fonctionnelles.
- ☐ 3. les saccules se fragmentent en une multitude de petites vésicules.
- ☐ 4. les MTs ne peuvent plus se dépolymériser.
- ☐ 5. les MTs se dépolymérisent.

■ 7. Dans la membrane des différents saccules golgiens :

- ☐ 1. le degré de saturation des lipides reste constant.
- ☐ 2. la quantité de sphingomyéline est plus élevée dans le saccule *cis*.
- ☐ 3. les lipides sont presque tous insaturés sur la face *trans*.
- ☐ 4. la quantité de glycolipides est plus grande sur la face *trans*.
- ☐ 5. la quantité de cholestérol est plus élevée dans la face *trans*.

■ 8. Le saccule *trans* contient :

- ☐ 1. des phosphatases acides.
- ☐ 2. des DNases.
- ☐ 3. une galactosyltransférase.
- ☐ 4. des sulfatases.
- ☐ 5. un cytochrome b_5 et sa réductase.

■ 9. La pompe à protons de la membrane des saccules golgiens :

- ☐ 1. est insensible à l'action de l'oligomycine.
- ☐ 2. est insensible à l'action de la N-éthylmaléimide.
- ☐ 3. est GTP-dépendante.
- ☐ 4. a une fonction qui dépend de la présence de potassium.
- ☐ 5. est activée par le vanadate.

■ 10. Les vésicules de transition entre le RE et l'appareil de Golgi :

- ☐ 1. sont des vésicules à clathrine.
- ☐ 2. sont des vésicules nues.
- ☐ 3. sont des vésicules à coatomères.
- ☐ 4. fusionnent avec le saccule *cis*.
- ☐ 5. fusionnent avec le CGN ou ERGIC.

■ 11. Le facteur de ribosylation de l'adénine phosphate :

- ☐ 1. intervient dans la formation du manteau de clathrine des vésicules golgiennes.
- ☐ 2. intervient dans la formation du manteau de coatomères des vésicules golgiennes.
- ☐ 3. est un facteur intervenant dans le transport intragolgiens.
- ☐ 4. doit être GDP pour permettre au COPs de s'associer à la membrane des vésicules.
- ☐ 5. est le seul à intervenir dans le transport golgien.

■ 12. Le désassemblage du manteau de coatomères :

- ☐ 1. dépend d'une protéine GAP (protéine activant la guanosine triphosphatase).

- ☐ 2. provoque la libération du complexe ARF-GTP.
- ☐ 3. libère les COPs qui sont immédiatement détruites.
- ☐ 4. permet la fusion avec la membrane d'un saccule.
- ☐ 5. dépend de l'hydrolyse de GTP en GDP.

■ 13. Le transport intersacculaire :

- ☐ 1. se fait toujours dans le modèle vésiculaire dans le sens *cis-trans*.
- ☐ 2. se déroule grâce à des vésicules non recouvertes.
- ☐ 3. ne peut se produire que si les vésicules sont recouvertes de coatomères.
- ☐ 4. peut sauter un saccule.
- ☐ 5. peut se produire à partir du bourgeonnement membranaire de la partie centrale d'un saccule.

■ 14. À propos de la ferritine :

- ☐ 1. elle présente une forte affinité pour les glycoprotéines.
- ☐ 2. elle possède une forte affinité pour glycolipides.
- ☐ 3. elle pénètre dans la cellule par les vésicules d'endocytose.
- ☐ 4. elle pénètre dans la cellule par intermédiaire d'un transporteur.
- ☐ 5. après pénétration dans la cellule, elle est retrouvée dans le CGN.

■ 15. La O-glycosylation :

- ☐ 1. se fait à partir de glucides associés à des nucléotides comme par exemple l'UDP.
- ☐ 2. dépend d'une O-oligosaccharide-protéine-transférase.
- ☐ 3. dépend de la fixation d'un glucide sur l'oxygène d'un radical aminé de la sérine.
- ☐ 4. dépend de la fixation d'un glucide sur l'oxygène d'un radical aminé de la thréonine.
- ☐ 5. dépend de l'initiation d'un glucide sur l'oxygène d'un radical aminé de l'hydroxylysine.

■ 16. La sulfatation se déroule :

- ☐ 1. dans le saccule *cis*.
- ☐ 2. dans les saccules médians.
- ☐ 3. dans le saccule *trans*.

- ☐ 4. dans le TGN.
- ☐ 5. à partir du phosphoamino-phosphosulfate qui provient du REG.

■ 17. La lysyl-oxydase :

- ☐ 1. est une enzyme présente dans le CGN.
- ☐ 2. est une enzyme présente dans les saccules médians.
- ☐ 3. est une métallo-enzyme intervenant dans la synthèse des fibres de collagène.
- ☐ 4. est une enzyme dont la synthèse s'achève dans l'appareil de Golgi grâce à la présence de cuivre dont la translocation est assurée par des transporteurs spécialisés de la membrane des saccules golgiens.
- ☐ 5. catalyse la désamination oxydative d'un radical aminé de glycogène.

■ 18. Les prohormones convertases :

- ☐ 1. sont des endopeptidases.
- ☐ 2. sont actives en pH neutre.
- ☐ 3. appartiennent à la famille des prohormones convertases apparentées à la stabilisine.
- ☐ 4. sont toutes localisées dans le TGN.

- ☐ 5. abandonnent leur localisation dans la membrane des saccules pour passer dans les grains de sécrétion.

■ 19. L'exportation des protéines du réticulum endoplasmique se produit :

- ☐ 1. si les protéines sont correctement assemblées.
- ☐ 2. d'une manière temporaire en présence du signal KDEL.
- ☐ 3. lorsque les protéines transmembranaires du REL portent sur leur terminaison aminée située dans la lumière du RE une séquence K (X) KXX.
- ☐ 4. en l'absence de kinésine et de microtubules.
- ☐ 5. grâce à un récepteur désigné par le sigle ERD.

■ 20. Le réseau *trans* golgien ou TGN :

- ☐ 1. est un compartiment qui présente un certain nombre de similitudes avec les endosomes.
- ☐ 2. est le seul compartiment à posséder une pompe à protons.
- ☐ 3. contient des phosphatases acides.
- ☐ 4. est capable de former la membrane des vacuoles autophagiques.
- ☐ 5. contient un canal chlore nécessaire au fonctionnement de la pompe à protons.

1.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	V

2. C'est la face cis.

2.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4 et 5. La proline marquée a permis de mettre en évidence les différentes parties de la cellule intervenant dans la synthèse des protéines. Il n'existe pas de transit direct ou rétrograde de la proline marquée.

3.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. C'est un compartiment intermédiaire différent du saccule cis dénommé ERGIC.

4. Ils fusionnent avec les vésicules à coatomères après qu'elles ont perdu leur revêtement.

4.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. Elles se déplacent dans le sens rétrograde.

5.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	V

1. La région médiane contient un nombre variable de saccules.

3. La région médiane assure le transport des molécules provenant du RE grâce à l'intervention de vésicule à coatomères.

6.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. Les vésicules n'ont plus la possibilité d'assurer la voie de retour en direction du RE.

5. Les MTs ne peuvent plus se dépolymériser.

7.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. La saturation des lipides augmente de la face cis à la face trans.

2. La quantité de sphongomyéline est plus élevée dans la face trans.

3. Les lipides sont insaturés ou presque sur la face cis.

8.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

9.

1	2	3	4	5
V	F	F	F	F

2. Elle est sensible à l'action de la N-éthylmaléimide.

3. Elle est ATP-dépendante.

4. Elle est indépendante de la présence de potassium.

5. Elle est inactivée par le vanadate.

10.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	V

1 et 2. Les vésicules de transition sont des vésicules à coatomères.

4. Elles fusionnent avec le CGN ou ERGIC.

11.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. Il intervient dans la formation du manteau de coatomères des vésicules golgiennes.

4. doit être GTP pour permettre au COPs de s'associer à la membrane des vésicules.

5. GGBF est un autre facteur qui intervient dans le transport golgien.

12.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. Le complexe libéré est le complexe ARF-GDP.

3. Les COPs sont rassemblées dans un pool.

13.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	F

2. Le transport intersacculaire se déroule grâce à des vésicules recouvertes de coatomères.

4. Le transport sacculaire se fait de saccules en saccule, sans omettre un seul saccule.

5. Il se produit toujours à partir d'un bourgeonnement membranaire provenant du bord des saccules.

14.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. La ferritine pénètre dans la cellule par intermédiaire des vésicules d'endocytose.

15.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

16.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	F

1, 2 et 4. La sulfatation se déroule dans le saccule trans.

5. Le phosphoaminophosphosulfate provient du cytosol.

17.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	V

1 et 2. La lysyl-oxydase est localisée dans le TGN.

18.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. Les prohormones convertases sont activés en pH acide.

4. Elles sont également localisées autour du noyau et dans le cytoplasme périphérique.

19.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. Les vésicules de transition nécessitent la présence de kinésine et de microtubules pour se déplacer.

5. Les protéines qui, grâce à leur séquence KDEL, se fixent sur le récepteur ERD, regagnent le réticulum endoplasmique.

20.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

- 1. Citez un organite en rapport avec la face *trans* de l'appareil de Golgi.
- 2. Quels sont les structures qui maintiennent l'appareil de Golgi dans une région proche du noyau?
- 3. Citez la particularité des lipides membranaires des saccules de la face *trans*.
- 4. Énumérez sans les décrire les deux types de modèle proposés pour le fonctionnement de l'appareil de Golgi.
- 5. Citez un groupe d'enzymes localisées dans le CGN.
- 6. Quelle est la localisation des mannosidases?
- 7. Quelle expérience a permis de mettre en évidence le fait que les protéines synthétisées par le réticulum endoplasmique granulaire passent obligatoirement par l'appareil de Golgi?
- 8. Énumérez les caractères des vésicules de sécrétion contrôlée.
- 9. Énumérez des facteurs nécessaires à la constitution du manteau de coatomères.
- 10. Quel est le mécanisme du désassemblage du manteau de coatomères?
- 11. Quel est le mécanisme d'action de la bréfeldine?
- 12. Citez une molécule qui permet l'acheminement séquentiel des vésicules.
- 13. Citez trois organites responsables du stockage du calcium.
- 14. Par quel mécanisme le calcium est-il stocké dans les saccules golgiens puis déversé dans le cytosol?
- 15. D'où proviennent les membranes qui entrent dans la constitution des vacuoles autophagiques?
- 16. Comment après une division cellulaire, les cellules filles héritent-elles d'un appareil de Golgi?
- 17. Donnez un exemple d'étiquetage des protéines.
- 18. Donnez un exemple de maturation des grains de sécrétion.
- 19. Quel est le rôle de NSF?
- 20. Donnez un exemple de glycoprotéines triées par le TGN.

1. Le centre cellulaire.
2. L'appareil de Golgi est maintenu dans une région proche du noyau grâce aux microtubules associés à des protéines motrices. Ces microtubules proviennent du centre cellulaire tout proche.
3. Les lipides membranaires des saccules de la face *trans* sont plus saturés que ceux de la face *cis*. Ils

contiennent un pourcentage plus élevé de phospholipides, de glycolipides. Ils sont plus saturés que ceux de la face *cis*.

4. Le modèle de maturation et le modèle vésiculaire.
5. Les phosphotransférases.

6. Les mannosidases sont localisées dans le saccule cis.

7. L'étude des cellules glandulaires exocrines du pancréas après injection de leucine tritiée.

8. Les vésicules de la sécrétion contrôlée sont recouvertes par un manteau de clathrine.

9. Les COP (coated protein), un facteur de ribosylation de l'adénine phosphate (ARF), et GTP.

10. Une protéine GAP (protéine activant la guanosine triphosphatase) contenue dans la membrane du compartiment receveur est libérée : elle provoque dans le revêtement de la vésicule l'hydrolyse du GTP en GDP. Cette hydrolyse modifie la conformation de l'ARF. Ces changements de forme induisent le désassemblage du manteau.

11. La bréfeldine empêche l'assemblage des molécules responsables de la formation des coatomères. Elles inhibent ainsi le flux entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Cette molécule provoque la formation de deux blocs : un bloc constitué par le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, et un second bloc comprenant le réseau Golgi trans ou TGN lié aux endosomes.

12. La protéine ARF qui appartient à la famille des GTPases.

13. L'appareil de Golgi, la mitochondrie, le réticulum endoplasmique.

14. Un échangeur calcium/sodium concentre le calcium dans les saccules golgiens. Une Ca^{2+} -ATPase pompe le calcium et le déverse dans le cytosol.

15. Du TGN.

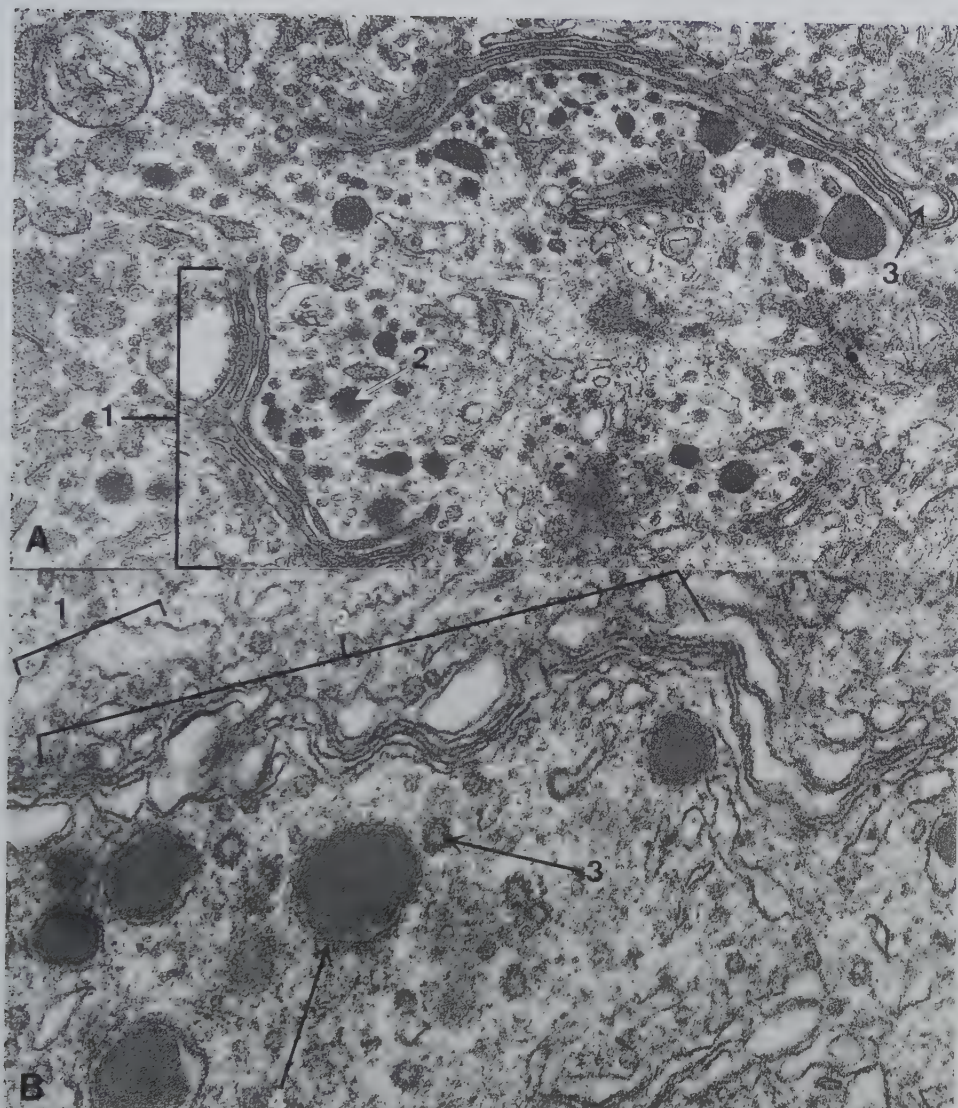
16. L'appareil de Golgi est reconstitué dans les cellules filles soit à partir des saccules fragmentés accrochés aux microtubules du fuseau, soit reconstitué par le réticulum endoplasmique granulaire dans lequel l'appareil de Golgi s'est redistribué avant la mitose.

17. Les protéines lysosomales sont marquées dans le saccule cis : une phosphotransférase phosphoryle le mannose en mannose-6-phosphate. Le mannose-6-phosphate marque les précurseurs des hydrolases en se fixant sur les oligosaccharides N-glycosylés. Les protéines lysosomales ainsi marquées sont regroupées par des récepteurs, les M6P-R du réseau trans de l'appareil de Golgi.

18. L'insuline pénètre dans les grains de sécrétion sous la forme de pro-insuline : une enzyme protéolytique clive la pro-insuline en insuline et en peptide C.

19. C'est un complexe protéique (facteur sensible à NEM : N-éthylmaleimide) qui empêche la fusion de la membrane vésiculaire avec la membrane du compartiment récepteur. SNAP (protéines de l'attachement du NSF soluble) en se combinant à NSF neutralise son action.

20. Les glycoprotéines membranaires associées aux lysosomes (Lamp) sont triées par le TGN avant d'être dirigées vers les endosomes tardifs. Elles possèdent un signal de tri GYQTI (glycine, tyrosine, glutamine, thréonine, isoleucine) qui interagit directement avec l'adaptine-1 (AP-1).



■ Cliché A :

Flèche 1 : dictyosome.

Flèche 2 : vésicule à hydrolases.

Flèche 3 : REL.

■ Cliché B :

Flèche 1 : REL.

Flèche 2 : dictyosome.

Flèche 3 : vésicule à hydrolases.

Flèche 4 : vésicule à hydrolases.

Cliché A :

Flèche 1. V.

Flèche 2. *F : grain de sécrétion.*

Flèche 3. *F : bord dilaté d'un saccule golgien.*

Cliché B :

Flèche 1. V.

Flèche 2. V.

Flèche 3. *F : vésicule à hydrolases à revêtement de clathrine.*

Flèche 4. *F : grain de sécrétion.*

Définition

Biogenèse

Organisation moléculaire

Rôle physiologique

Pathologie

Les nutriments, les bactéries, etc. absorbés par la cellule, les déchets, les régions cytoplasmiques lésées, des molécules d'origine cytosolique, sont digérés, lysés grâce à un ensemble de formations. Il s'agit des lysosomes, découverts par De Duve. De Duve, de 1951 à 1955, étudie, par ultracentrifugation différentielle de broyats d'hépatocytes, la répartition de l'activité phosphatase acide. Il isole une fraction L (légère) qui contient une très grande quantité de phosphatases acides : cette fraction est différente de la fraction microsomale et de la fraction mitochondriale. Le concept de lysosomes fut donc d'abord un concept biochimique, jusqu'à ce que Novikoff et Essner, en 1962, donnent le nom de lysosomes à des corpuscules limités par une membrane et ayant une activité phosphatase acide.

Les lysosomes sont des vésicules cytoplasmiques monomembranaires (limitées par une membrane), dont le contenu a un pH acide compris entre 4,5 et 5,5. Ils contiennent des hydrolases acides. Leurs marqueurs principaux sont Lamp-1 et 2 (lysosome-associated membrane protein; protéine membranaire associée au lysosome), localisés dans la membrane plasmique (fig. 10.1). Leur membrane ne contient pas de M6PRs (récepteurs du mannose-6-phosphate).

Morphologie des lysosomes

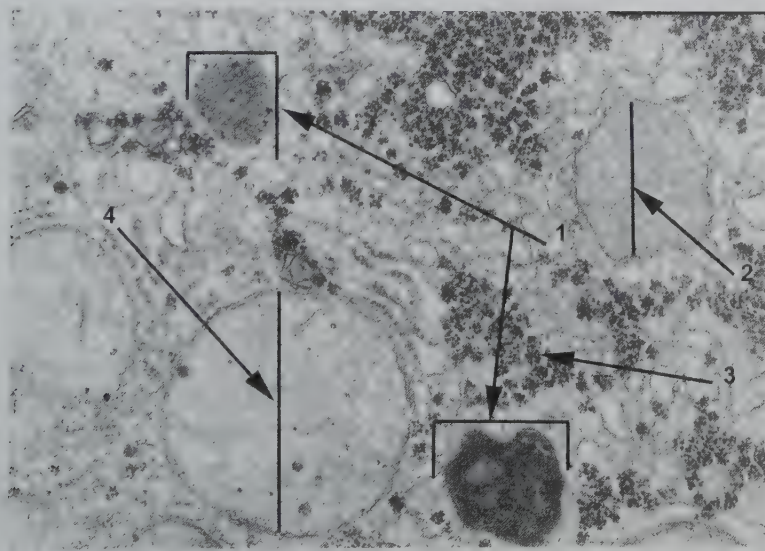
■ Les phosphatases acides, dans la mesure où les vésicules à hydrolases sont considérées comme étant des lysosomes primaires, sont encore citées parmi les marqueurs lysosomaux. Les phosphatases acides sont mises en évidence par la réaction de Gomori au citrate de plomb.

Les lysosomes peuvent être décrits, d'une manière très générale, comme des organites sphériques ou ovalaires d'un diamètre compris entre 0,1 et 2 μm , limités par une membrane trilamellaire, épaisse de 6 à 10 nm. La matrice est granuleuse, dense, inégalement homogène. Un halo clair sépare très souvent la matrice de la membrane. Cet espace étroit est occupé par des molécules de nature glucidique, comme en témoignent les colorations histochimiques au PAS (periodic acid Schiff

Fig. 10.1

Lysosomes.

1. Lysosomes.
2. Peroxysome.
3. Glycogène α .
4. Mitochondrie.



reactif; acide périodique réactif de Schiff) qui, en microscopie optique, colorent cette région en pourpre.

Bien souvent, les critères morphologiques ne suffisent pas pour identifier un lysosome : il est alors nécessaire d'avoir recours à des techniques histochimiques afin de caractériser les marqueurs membranaires (Lamp-1 et 2) ou des marqueurs du contenu lysosomal (cathepsine L).

Les hydrolases lysosomales

Les lysosomes contiennent tous des hydrolases fonctionnant à un pH acide.

Les enzymes lysosomales sont des hydrolases qui catalysent les réactions du type $AB + H_2O \rightarrow AH + BOH$.

Les hydrolases, enzymes catabolisantes dont l'optimum d'activité est situé aux environs de pH 5, sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liaisons ester, éther, peptidique, osidique, anhydride-acide, C-C, C-halogène ou P-N. Les lysosomes contiennent donc les enzymes capables de lyser les substrats des quatre principales familles de macromolécules, c'est-à-dire les protéines, les acides nucléiques, les glucides, les lipides.

Il n'est pas possible de faire un bilan complet des enzymes contenues dans les lysosomes, en raison de leur nombre (certains-en contiennent plus de 40 comme les lysosomes des cellules hépatiques) et de leur nature qui varie d'un type cellulaire à un autre. Cependant, à titre indicatif, voici une liste des enzymes les plus fréquentes (le substrat lysé est indiqué entre parenthèses) :

- les *nucléases*, qui regroupent les ribonucléases (ARN), les désoxyribonucléases (ADN);
- les *phosphatases* : les phosphatases acides (phosphomonoesters), les phosphodiesterases (phosphodiesters);
- les *protéases* : la cathepsine (protéines), la collagénase (collagène); les lysosomes contiennent les deux types de protéases dont l'action complémentaire permet une dégradation efficace des protéines :
 - les *endopeptidases* (cathepsines), qui fragmentent les protéines en catalysant l'hydrolyse des liaisons peptidiques situées à l'intérieur des chaînes (par exemple, trypsine, pepsine, etc.),
 - les *exopeptidases* (les carboxypeptidases et les aminopeptidases), qui éliminent respectivement les acides aminés carboxy- et amino-terminaux;
- les *polysaccharidases* et les *oligosaccharidases* : l' α -glucosidase (glycogène), la β -acétylglucosaminidase (β -galactosides), les α -mannosidases (α -mannosides), les fucosidases (oligosaccharides fucosylés), la sialidase (oligosaccharides sialylés);
- les enzymes *hydrolysant les lipides* : les lipases acides (triacylglycérols), les phospholipases (phospholipides);
- les enzymes *hydrolysant les sphingolipides* : l'arylsulfatase (galactosylsulfatidide), la céramidase (céramide);
- les enzymes *hydrolysant les GAGs* (glycosaminoglycanes) : l' α -N-acétylglucosaminidase (héparane sulfate), la β -galactosidase (kératane sulfate), l'héparane N-sulfatase (héparane sulfate), l'iduronate sulfatase (dermatane sulfate).

Les lysosomes renferment des hydrolases capables de lyser, par hydrolyse, toutes les molécules que la cellule contient habituellement.

Biogenèse des lysosomes

Synthèse des enzymes lysosomales dans le REG

Les enzymes lysosomales sont synthétisées dans le RE avec un peptide signal. Après clivage du peptide signal, elles subissent une *N-glycosylation* : la chaîne oligosaccharidique est assemblée sur le dolichol (un lipide intramembranaire), puis transférée en bloc sur l'enzyme lysosomale par une oligosaccharide-transférase. Dans les citernes *cis* de l'appareil de Golgi, la chaîne oligosaccharidique subit l'action de deux enzymes :

- une N-acétylglucosamine transférase ajoute un groupe N-acétylglucosamine-1-phosphate sur un résidu mannose ;
- puis, une N-acétylglucosaminase enlève la N-acétylglucosamine et laisse le phosphate sur le mannose.

Les enzymes lysosomales contiennent alors un radical M6P (mannose-6-phosphate) qui permet leur adressage.

La PI3-kinase (phosphoinositide 3-kinase) est nécessaire à l'adressage aux lysosomes des protéines nouvellement synthétisées. L'administration de wortmannine, un métabolite fongique, inhibe le codage de la PI3-kinase (pour certains auteurs cet inhibiteur se lierait de manière covalente à l'enzyme), ce qui provoque une déplétion en M6P-R (récepteur du M6P) des saccules *cis* et arrête la délivrance d'enzymes nouvellement synthétisées aux lysosomes.

Formation des vésicules à hydrolases

Des petites vésicules (fig. 10.2) d'origine golgienne, les *vésicules à hydrolases*, assurent le transfert des enzymes lysosomales. Elles proviennent du bourgeonnement de la membrane du TGN (ces vésicules étaient et sont encore parfois décrites sous le nom de *lysosomes primaires*). Les vésicules à hydrolases sont recouvertes, au moment de leur formation, d'un manteau de clathrine/adaptine qui disparaît rapidement. La membrane de ces vésicules ne contient pas les protéines Lamp-1 et 2. Les vésicules à hydrolases contiennent les enzymes néosynthétisées dans le REG, marquées par le M6P qui les fixe aux M6P-Rs situés dans leur membrane.

Il existe deux récepteurs de M6P :

- un récepteur désigné par le sigle CI-MPR, de 215 kDa, calcium-indépendant (calcium-independent mannose phosphate receptor) ;
- un récepteur M6P, de 46 kDa, calcium-dépendant (M6P-R).

À un pH neutre, le CI-MPR reconnaît les protéines porteuses du signal d'adressage M6P et se combine avec elles. À pH 6, CI-MPR relargue son ligand.

Distribution des enzymes lysosomales

La coloration par les techniques d'immunofluorescence permet de localiser les récepteurs des hydrolases (M6P-R ou CI-MRP) dans les saccules de l'appareil de Golgi, dans les vésicules à clathrine situées au voisinage de l'appareil de Golgi, dans les endosomes tardifs, dans les phagosomes, dans les autophagosomes et dans la membrane plasmique. Cette technique permet donc de suivre la distribution des vésicules à hydrolases puisque leur membrane, qui est porteuse des récepteurs à hydrolases, s'incorpore avec celle des structures dans lesquelles elles déversent leurs enzymes (fig. 10.2).

Fig 10.2

Les lysosomes.

Endocytose.

1. Puits recouverts. 2. Vésicule d'endocytose. 3. Endosome précoce. 4. Recyclage des récepteurs. 5. Récepteurs recyclés. 6. Vésicule endosomale de transport. 7. Endosome tardif. 8. Fusion d'une vésicule à hydrolases avec un endosome tardif. 9. Recyclage en direction du Golgi. 10. Lysosome. 11. Vésicule à hydrolases qui a perdu son revêtement de clathrine. 12. Exocytose.

Phagocytose.

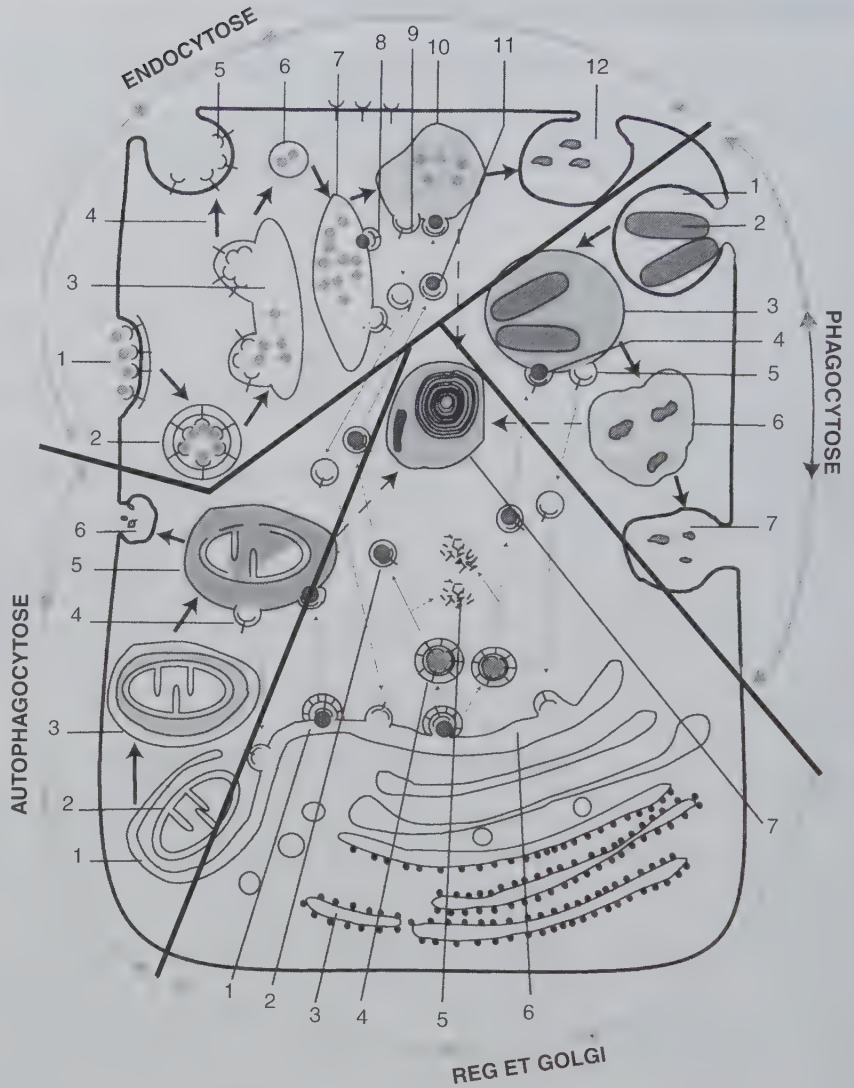
1. Phagocytose. 2. Bactéries. 3. Phagosome. 4. Vésicule à hydrolases fusionnant avec le phagosome. 5. Recyclage en direction du Golgi. 6. Autophagolysosome. 7. Exocytose.

Autophagocytose.

1. Expansion du TGN entourant une mitochondrie. 2. Mitochondrie. 3. Autophagosome. 4. Recyclage en direction du Golgi. 5. Autophagolysosome. 6. Exocytose.

REG et Golgi.

1. Formation d'une vésicule à hydrolases par bourgeonnement de la membrane du TGN (le bourgeon est recouvert par un manteau de clathrine et d'adaptine). 2. Vésicule à hydrolases « déshabillée ». 3. Réticulum endoplasmique granulaire. 4. Vésicule à hydrolases avec son manteau de clathrine et d'adaptine. 5. Molécule de clathrine. 6. TGN. 7. Corps résiduel avec une figure myélinique.



Trois voies ont pu être ainsi décrites :

- la voie endosomale,
- la voie lysosomale,
- la voie sécrétoire.

Dans la *voie endosomale*, les vésicules à hydrolases fusionnent avec les corps multivésiculaires (c'est-à-dire avec les vésicules qui font la navette entre les endosomes précoces et les endosomes tardifs), avec les endosomes tardifs dans lesquels elles déversent leurs enzymes. Les récepteurs des M6P sont libérés de leur ligand, retournent, par l'intermédiaire de vésicules, à leur TGN d'origine afin d'être recyclés et de réaliser un nouveau tour de transport. On peut donc considérer que les vésicules à hydrolases sont des vésicules navettes entre l'appareil de Golgi et leur compartiment cible. Les endosomes tardifs, qui viennent de perdre leurs récepteurs

des M6P, deviennent alors des lysosomes. Les vésicules à hydrolases fusionnent également avec les phagosomes (vacuoles de phagocytose) et se transforment ainsi en phagolysosome.

Dans la *voie lysosomale*, les vésicules à hydrolases confluent vers des lysosomes déjà constitués. Les récepteurs des M6P sont recyclés en direction du TGN grâce à des vésicules de recyclage.

Dans la *voie sécrétoire* de toutes les cellules, 10 % des enzymes lysosomales sont excrétés dans le milieu intercellulaire par exocytose. Les M6P-Rs sont donc incorporés dans la membrane plasmique. Leur recyclage est réalisé par des vacuoles d'endocytose qui se différencient à partir des puits recouverts. Ces vacuoles transportent, dans leur membrane, les récepteurs observés ultérieurement dans la membrane des endosomes précoces, puis dans celle des corps multivésiculaires (qui font la navette entre les endosomes précoces et tardifs) et enfin dans celle des endosomes tardifs. Les endosomes tardifs donnent naissance, par bourgeonnement de leur membrane, à des vésicules (qui transportent les récepteurs jusqu'au TGN) et à des lysosomes (qui ne contiennent jamais de récepteurs M6P).

La protéine Rab9, petite protéine G de la superfamille ras, facilite le recyclage des M6P-Rs au TGN : l'injection d'anticorps anti-Rab9 bloque en effet leur retour.

Propriétés de la membrane lysosomale

La membrane des lysosomes, en l'absence de pompes spécialisées, est imperméable aux protons. Il ne s'agit pas là d'une propriété spécifique, puisque toutes les membranes le sont. Les petites molécules, d'un PM inférieur à 200 daltons, traversent librement la membrane ainsi que les molécules liposolubles.

Elle possède aussi une propriété de perméabilité sélective, qui dépend de sa composition protéique.

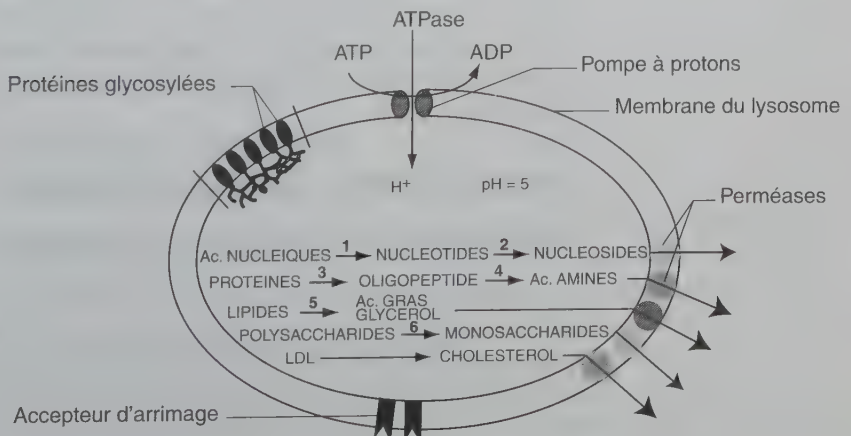
Composition de la membrane lysosomale

Il existe des variations importantes dans la composition de la membrane des différents lysosomes : cependant, certaines protéines, comme Lgp120 (lysosomal glycoprotein 120 kDa; glycoprotéine lysosomale 120 kDa), la pompe à protons, Lamp-1 et 2, sont des éléments constants (fig. 10.3).

Fig. 10.3

Structure schématique de la membrane du lysosome : fonctions hydrolytiques. Les principales fonctions hydrolytiques sont résumées dans ce schéma :

1. nucléases;
2. phosphatases;
3. protéases;
4. peptidases;
5. lipases;
6. glycosidases.



Une composition lipidique variable

La fraction lipidique de la membrane lysosomale est principalement constituée par des phospholipides. Elle est plus riche en cholestérol et en sphingomyélines que celle de la membrane du REG ou des saccules golgiens. Mais elle varie en fonction de la nature de la cellule : ainsi, la membrane des lysosomes des hépatocytes contient un lipide rare, l'acide lysobisphosphatidique.

Le manteau interne de glycoprotéines

La membrane des lysosomes contient une trentaine de protéines différentes (PM compris entre 20 et 200 kDa); la majorité sont des glycoprotéines dont les sucres sont exposés aux hydrolases : elles constituent un véritable manteau de protection de la membrane contre les enzymes, le pH acide et plus particulièrement les protéases. L'importance de la glycosylation est facilement mise en évidence par l'utilisation d'un antibiotique, la *tunamycine*, qui bloque la glycosylation; la demi-vie des lysosomes diminue alors d'une manière très importante.

Les glycoprotéines enzymatiques transmembranaires

Par exemple, la phosphatase acide est une glycoprotéine dont une partie est transmembranaire; la partie active de la molécule est située dans la lumière du lysosome.

Lamp-1 et Lamp-2

La membrane des lysosomes contient Lamp-1 et Lamp-2, qui sont des marqueurs des lysosomes. Ces marqueurs n'existent pas dans les vésicules à hydrolases issues du TGN.

Les pompes à protons

Le pH acide est maintenu par des pompes à protons (H^+ -ATPase) localisées dans la membrane lysosomale. Il s'agit de molécules de 250 kDa, dont le fonctionnement est ATP et Mg^{++} -dépendant. Les pompes transportent les ions H^+ du cytosol vers la lumière lysosomale. Ce transport est couplé à l'ATP, qui fournit l'énergie nécessaire au fonctionnement de la pompe. Ces pompes à protons ne sont pas comparables à la pompe Na^+/K^+ de la membrane plasmique : en effet, elles sont insensibles aux inhibiteurs de la Na^+/K^+ -ATPase (oligomycine, ouabaïne, vanadate).

Transport à travers la membrane lysosomale

■ Exportation des produits de dégradation

La membrane des lysosomes contient des protéines porteuses (porines) qui interviennent à la fin de la digestion des substances intralysosomales. Les produits finaux (par exemple les acides aminés), qui proviennent de la dégradation intralysosomale des protéines, traversent la membrane par l'intermédiaire des porines et gagnent le cytosol, où ils sont réutilisés par la cellule.

■ Certaines **protéines cytosoliques** sont des substrats pour une voie sélective de la protéolyse lysosomale : ce chemin est spécialement actif dans les cellules en culture dépourvues de facteur de croissance, dans le foie et autres tissus de rats à la diète (ou affamés). Les caractéristiques mécaniques de ce chemin de la protéolyse ressemblent, par beaucoup d'aspects, au transport des protéines précurseurs à travers d'autres membranes cellulaires d'organites, comme les mitochondries ou le réticulum endoplasmique. Ces similitudes comprennent :

- une liaison spécifique à des composants protéiques de la membrane (récepteur spécifique qui reconnaît une séquence signal). Lamp-2 et Lgp96 sont des récepteurs spécifiques de la membrane des lysosomes, destinés à capturer les protéines qui doivent être dégradées dans les lysosomes;
- des intermédiaires cinétiques dans le transport des protéines à dégrader;
- un sel de magnésium de l'ATP (Mg-ATP);
- une chaperonine de 73 kDa (heat shock cognate protein; protéine analogue des Hsp);
- de plus, un autre membre de la famille des Hsp, de 70 kDa, à l'intérieur de l'organite, est requis pour une importation efficace de la protéine substrat.

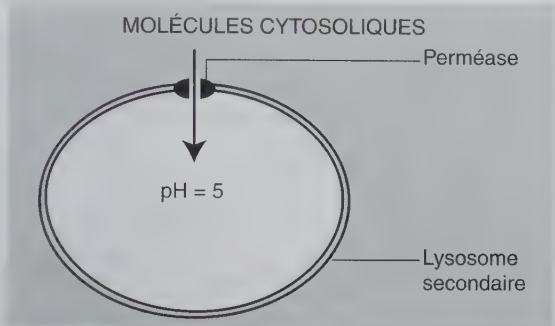
■ Entrée sélective de peptides

Les protéines ubiquitinylées, partiellement dégradées par les protéasomes et porteuses d'une séquence d'adressage KFERQ (K : lysine, F : phénylalanine, E : acide glutamique, R : arginine, Q : glutamine) reconnue par les protéines appartenant à la famille ABC (ATP-binding cassette; boîte de liaison à l'ATP), peuvent pénétrer dans les lysosomes par l'intermédiaire des protéines porteuses (fig. 10.4). Ces protéines ABC, appelées aussi ATPases de trafic, fonctionnent comme des transporteurs ATP-dépendants pour pomper des molécules spécifiques du cytosol et leur faire traverser la membrane des lysosomes.

Une carence nutritionnelle prolongée, par exemple un jeûne, provoque le ciblage. Les peptides sont hydrolysés, puis les acides aminés traversent la membrane lysosomale pour gagner le cytosol.

Fig. 10.4

Ciblage sélectif direct. Des molécules cytosoliques peuvent pénétrer dans les lysosomes par les perméases.



Les vésicules de transport des hydrolases contiennent des phosphatases acides et des M6P-Rs, les prélysosomes des phosphatases acides, M6P-Rs et Lamp-1 et 2, les endosomes tardifs des phosphatases acides, Lamp-1 et 2. La membrane lysosomale contient des protéines ABC (Lamp-2 et Lgp96), qui reconnaissent la séquence KFERQ des protéines à importer, des glycoprotéines qui protègent la membrane contre l'activité enzymatique du contenu, des pompes à protons.

■ L'hétérophagie

L'hétérophagie est la dégradation de produits importés dans la cellule, soit par phagocytose, soit par endocytose.

Le devenir des phagosomes

Les phagosomes (voir fig. 10.2) sont des vacuoles qui résultent d'un processus (phagocytose) par lequel les macrophages ou les leucocytes englobent des corps étrangers, des fragments de cellules nécrosées, des micro-organismes (fig. 10.5 et 10.6). Ils ne contiennent pas d'enzymes lysosomales.

■ Modifications de la membrane

Diverses protéines se localisent au voisinage de la membrane des phagosomes. Ces protéines interviennent dans la formation et la maturation des phagosomes. Il s'agit de :

Fig. 10.5

Phagocytose et lysosomes. Les vacuoles de phagocytose se transforment en phagolysosomes au moment où les vésicules à hydrolases déversent leur contenu dans le phagosome.

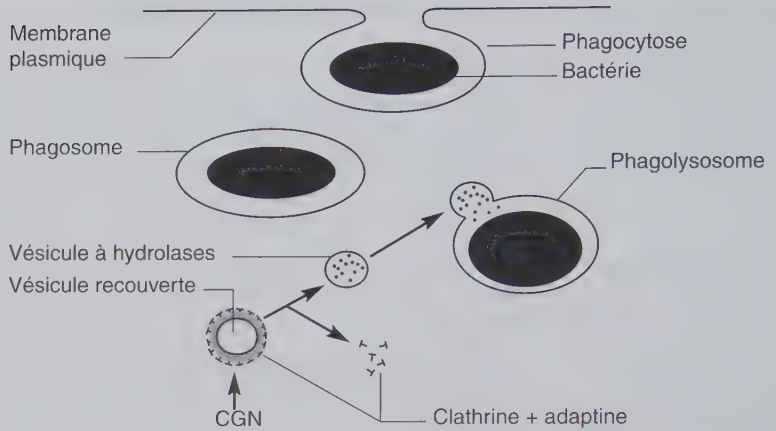


Fig. 10.6

Vacuole d'hétérophagie ($\times 80\,000$). 1. Membrane de la vacuole hétérophagique. 2. Corps étranger. (Cliché du Service de Microscopie électronique, Département de Biologie humaine, Directeur : Pr Marc MAILLET, Tours.)



- *MARCKS* (myristoylated, alanine-rich C kinase substrate; substrat myristoylé de la kinase C riche en alanine), qui est un substrat liposaccharidique induit par la protéine kinase C (PKC);
- *PKC*, qui joue un rôle essentiel, puisque les inhibiteurs de PKC réduisent la phagocytose, bloquent l'accumulation de l'actine F, de la taline, des protéines contenant de la phosphotyrosine et de *MARCKS* dans les zones où s'effectuera la phagocytose; *MARCKS* et *PKC* régulent les interactions actine/membrane plasmique;
- la *myosine I*, qui a un rôle de moteur au cours de la capture de la particule.

Au cours d'une première phase, l'invagination, à l'origine du futur phagosome, dépend des MFs et de la myosine I. La phase suivante est contrôlée par les MTs. Dès que l'internalisation est achevée, les MFs subissent une dépolymérisation. Le phagosome initial s'associe alors à des MTs, quitte rapidement son lieu d'origine, la périphérie cellulaire, et se dirige vers le centre de la cellule. Des protéines, connues pour participer au trafic membranaire de l'endocytose, s'associent temporairement

aux phagosomes en cours de maturation. Elles comprennent des membres de la famille Rab, des protéines de liaison de GTP de faible poids moléculaire. Les protéines G trimériques interviennent également. MARCKS et PKC restent associés à la membrane du phagosome jusqu'à l'acquisition du marqueur lysosomal Lamp-1, qui marquera la transformation du phagosome en phagolysosome.

La maturation des phagosomes (par exemple chez les macrophages) évolue par paliers successifs, au cours desquels la composition protéique de la membrane est modifiée. En effet, les phagosomes nouvellement formés sont impliqués dans des contacts rapides avec des éléments plus anciens de la voie de l'endocytose : la formation des phagolysosomes est un processus hautement dynamique, qui implique une acquisition graduelle et contrôlée de marqueurs à partir des endosomes tardifs (prélysosomes).

■ La notion de **prélysosome** est une notion très récente. Les vésicules de transport des enzymes lysosomales étaient encore décrites, récemment, comme étant des lysosomes primaires (ce qui n'est pas logique, puisque ces formations ne sont le siège d'aucune activité catabolique et que les diverses protéines lysosomales triées dans le TGN ne sont pas toutes transportées par le même type de vésicule). Les termes de « lysosomes secondaires » désignent le produit de la fusion des lysosomes primaires soit avec les hétérophagosomes, soit avec les autophagosomes.

■ Fusion des phagosomes avec les lysosomes

Les phagosomes subissent deux évolutions possibles :

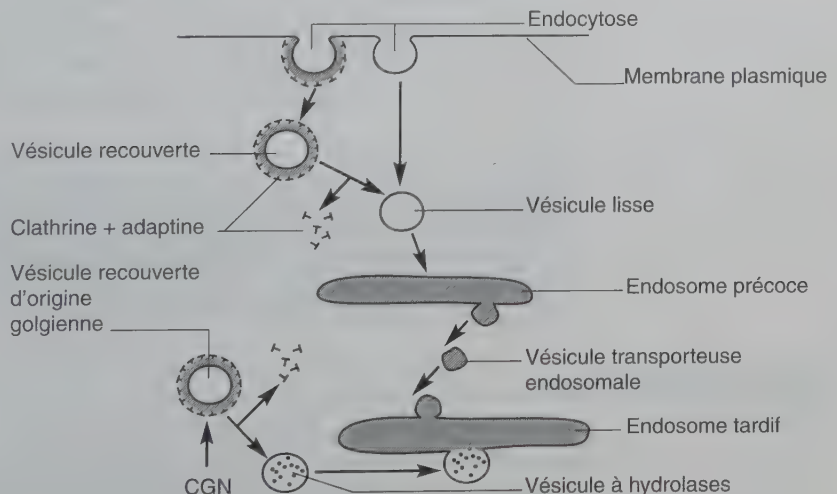
- ils fusionnent avec les **prélysosomes** : cette fusion serait contrôlée par les GTPases hétérotrimériques (des petites protéines G de la famille Rab interviennent aussi); les phagosomes deviennent alors des vacuoles hétérophagiques ou phagolysosomes. La fusion phagosome-endosome est bloquée par les agents qui perturbent les fonctions des protéines G.
- plus rarement, ils traversent la cellule (diacytose ou transcytose), sans fusionner avec les prélysosomes ou les lysosomes, et déchargent (régurgitation) leur contenu dans le milieu extracellulaire.

Le devenir des vacuoles d'endocytose

Les vacuoles d'endocytose (voir fig. 10.2) induite perdent leur revêtement de clathrine (fig. 10.7). Les récepteurs et les ligands se désaccouplent. Les vacuoles d'endocytose, déshabillées, fusionnent alors avec les *endosomes précoces* (voir chapitre 7 « Les endosomes ») qui assurent le recyclage des récepteurs vers la membrane plasmique.

Fig. 10.7

Endocytose, endosomes et lysosomes. Les vésicules d'endocytose fusionnent avec les endosomes précoces (pH 7,4). Des vésicules transporteuses endosomales (ECV : endosomal carrier vesicle) font la navette entre les endosomes précoces et les endosomes tardifs (pH 6,5), où elles déversent leur contenu. Les vésicules à hydrolases, après avoir perdu leur revêtement de clathrine, fusionnent avec les endosomes tardifs.



■ Rôle des corps multivésiculaires

■ Certains auteurs pensent que les **endosomes précoces** se transforment progressivement en endosomes tardifs.

Des vésicules naissent par bourgeonnement de la membrane des **endosomes précoces** et se transforment très rapidement en corps multivésiculaires. Ces corps multivésiculaires sont limités par une membrane et contiennent de nombreuses petites vésicules sphériques. Ils se déplacent en direction des endosomes tardifs, dans lesquels, après fusion, ils déversent leur contenu. Des vésicules à hydrolases déversent leurs enzymes dans les endosomes tardifs qui se transforment progressivement en lysosomes (voir chapitre 7 « Les endosomes »).

Propriétés et fonctions des vacuoles hétérophagiques

■ Concentration des substances d'origine extracellulaire

Ces vacuoles concentrent des substances puisées dans le milieu extracellulaire. Elles ont, par exemple, la faculté d'accumuler des colorants ou des substances médicamenteuses.

■ Rôle dans la nutrition et la défense cellulaire

Nutrition par digestion intracellulaire

Les aliments, solides ou liquides, capturés par la cellule sont dégradés : les molécules provenant de cette dégradation (par exemple les acides aminés) traversent, grâce à des protéines porteuses, la membrane du lysosome, pour être utilisées par la cellule comme matériaux de synthèse.

Les hétérolysosomes

Les hétérolysosomes protègent la cellule contre les agressions pathogènes. Les substances toxiques ou médicamenteuses sont dégradées par les lysosomes (détoxication).

Les bactéries sont phagocytées, puis détruites par les enzymes lytiques des lysosomes (en particulier dans les macrophages et les polynucléaires neutrophiles). Cependant, les lysosomes ne fusionnent pas avec les phagosomes contenant *Mycobacter tuberculosis*, qui échappe ainsi à la destruction. De même, les phagolysosomes, qui contiennent des bacilles de la tuberculose aviaire (*Mycobacterium avium*), conservent un contenu dont le pH ne peut descendre au-dessous de 6,3, c'est-à-dire un pH insuffisant pour que les enzymes lysosomales soient actives. Après fusion avec les lysosomes, ces vacuoles n'acquièrent pas de pompes à protons, alors qu'elles ont acquis des protéines Lamp-1. Enfin, *Listeria monocytogenes* détruit la paroi des lysosomes.

Des protéines MARCKS et PKC s'associent à la membrane des phagosomes en cours de maturation, jusqu'à l'acquisition du marqueur lysosomal Lamp-1. Les phagosomes peuvent alors fusionner avec les lysosomes. Les hétérolysosomes interviennent dans la nutrition de la cellule et dans sa protection contre des agressions pathogènes.

L'autophagie

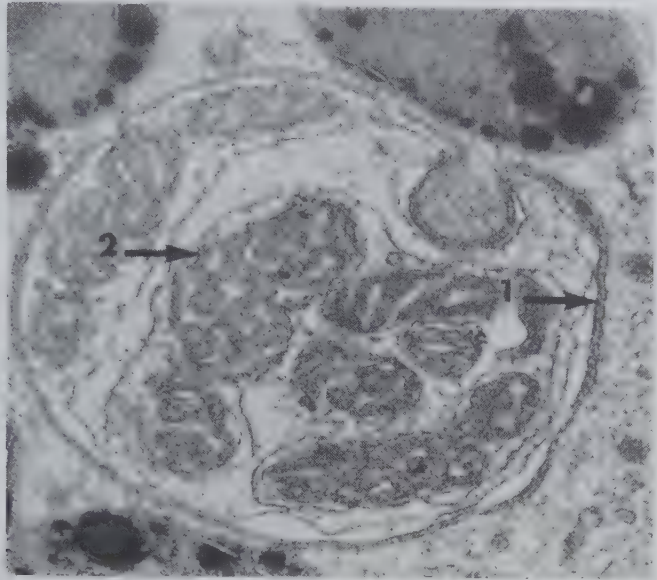
L'autophagie est un mécanisme peu sélectif de dégradation des constituants cytoplasmiques, qui se déroule dans des *autophagolysosomes* (fig. 10.8).

Fig. 10.8

Vacuole d'autophagie
($\times 40\,000$).

1. Membrane de la vacuole.
2. Mitochondrie en cours de lyse.

(Cliché du Service de Microscopie électronique, Département de Biologie humaine, Directeur : Pr Marc MAILLET, Tours.)



Rôle dans le renouvellement des constituants cellulaires

La cellule renouvelle constamment ses structures, en dégradant les molécules qui la constituent et en les remplaçant. Cette dégradation des constituants cellulaires se produit grâce à trois processus parfois simultanés :

- catabolisme par action de traces d'hydrolases qui ne sont pas d'origine lysosomale,
- catabolisme par des enzymes qui s'échappent des lysosomes et dégradent les constituants cellulaires à renouveler,
- autophagie.

Propriétés et fonctions de l'autophagosome

Le RE constitue la membrane de l'autophagosome.

■ Formation à partir du TGN

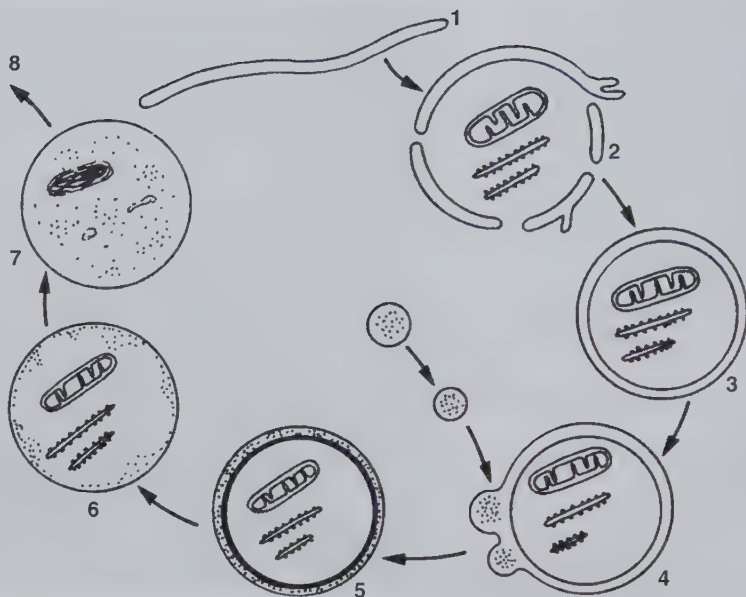
Une partie du TGN entoure progressivement la région cytoplasmique à détruire (fig. 10.9). L'autophagosome est donc limité par deux membranes. Il renferme divers organites cellulaires (mitochondries, RE, etc.) (voir paragraphe « Rôle de l'appareil de Golgi dans l'autophagie »).

■ Fusion avec les lysosomes

Les lysosomes, les vésicules à hydrolases déversent leurs enzymes dans l'espace compris entre les deux membranes. La membrane interne s'épaissit, puis disparaît par lyse enzymatique : cette disparition marque la transformation de l'autophagosome en autophagolysosome ; seule persiste la membrane externe. Les organites, alors en contact avec les enzymes, sont détruits.

Fig. 10.9

Autophagie. Formation de l'autophagosome par isolement d'un territoire cytoplasmique par le TGN. 1. Expansion du TGN. 2. Une expansion du TGN entoure le territoire lésé. 3. Les membranes du TGN fusionnent. 4. Les lysosomes déversent leurs hydrolases dans l'espace compris entre les deux membranes. 5. La membrane interne s'épaissit pour disparaître (6). 7. Autolysosome. 8. Exocytose.



■ Fonctions de l'autophagie

L'autophagie est un mécanisme détruisant les organites et les fragments cytoplasmiques hors d'usage, sans perte de leurs constituants chimiques puisqu'ils sont réutilisés par la cellule.

Renouvellement des organites

L'autophagie intervient dans le renouvellement des composants cellulaires. Ainsi, l'étude du *renouvellement des mitochondries* hépatiques indique que, pour un gramme de parenchyme hépatique, un milliard de mitochondries sont détruites par heure. Les mitochondries sont renouvelées 15 fois pendant la demi-vie (150 jours) d'une cellule hépatique. Ce fait implique que, dans chaque cellule, une mitochondrie est détruite toutes les 15 minutes.

Par contre, le *renouvellement du RE* ne dépend pas de l'activité autophagique. Le nombre des autolysosomes n'augmente pas lors de la régression du RE, dont l'accroissement a été induit par des agents toxiques comme le phénobarbital.

Rôle dans la différenciation

Lors de la différenciation, la cellule subit des transformations importantes. L'autophagie est alors un mécanisme essentiel de ce modelage de la cellule. Elle a été particulièrement étudiée dans le rein du nouveau-né, le duodénum du fœtus ou au cours de la métamorphose des têtards de grenouille. La régression de la queue du têtard dépend de l'apoptose et de l'activité des vacuoles autophagiques : elle est induite par la *thyroxine*, hormone thyroïdienne dont dépend la métamorphose.

Destruction des zones cellulaires lésées par des toxiques

De nombreux agents toxiques provoquent des altérations cellulaires n'entraînant pas la mort de la cellule. Les lésions cellulaires sont du type focal, c'est-à-dire localisées à des parties plus ou moins volumineuses du cytoplasme.

Les agents responsables de ces lésions sont très variés et nombreux. Citons parmi ceux-ci :

- les inhibiteurs métaboliques,
- l'intoxication par la phalloïdine, l'obstruction biliaire, les infections virales,
- les radiations X, UV, γ ,
- l'hypoxie ou l'anoxie, etc.

Les zones lésées par ces agents s'entourent d'une membrane et forment une vacuole autophagique. L'autophagie est alors un mécanisme de défense, tendant à limiter l'extension d'un processus dégénératif.

Rôle dans la nutrition cellulaire

L'autophagie assure la nutrition cellulaire au cours de conditions défavorables (jeûne). La cellule vit de sa propre substance qu'elle digère : elle peut donc assurer encore les fonctions les plus élémentaires.

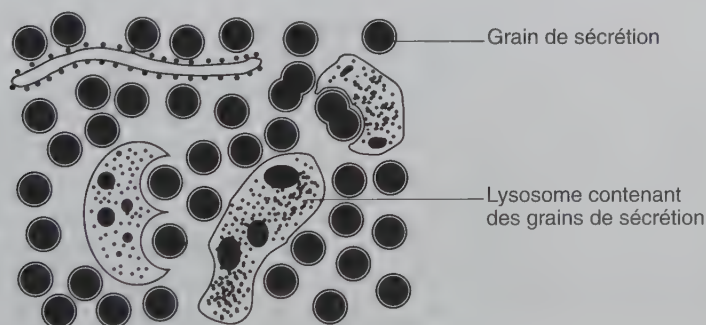
Résorption des cellules mortes

Les cellules mortes sont « digérées » par les enzymes de leurs propres lysosomes, dont les membranes se sont rompues au cours de la nécrose cellulaire.

Rôle dans la régulation de la sécrétion (crinophagie)

L'autophagie intervient dans la régulation de la sécrétion (crinophagie). Ce phénomène s'observe dans les cellules sécrétrices, endocrines ou exocrines. Lorsque les besoins de l'organisme sont couverts, les grains de sécrétion ne sont plus excrétés, mais s'accumulent dans la cellule. Ils sont détruits par les lysosomes. Les lysosomes et des grains de sécrétion fusionnent (fig. 10.10) et forment des crinolysosomes, dans lesquels le matériel en excès est résorbé.

Fig. 10.10
Crinophagie.



L'autophagie intervient dans le renouvellement des mitochondries, la défense de la cellule, la différenciation, la nutrition, la destruction des cellules mortes, la crinophagie.

Les corps résiduels

Dans les lysosomes, la dégradation transforme profondément le contenu des hétéro et autolysosomes : la majorité des substances contenues dans ces vacuoles est digérée. Cependant, un résidu insoluble peut persister dans le lysosome, lorsque la

quantité d'enzymes est insuffisante ou lorsque certaines substances ne sont pas sensibles à l'action des enzymes.

Un corps résiduel est une vacuole provenant d'un hétérolysosome ou d'un autolysosome, dans laquelle persistent des résidus non digérés par les enzymes lysosomales.

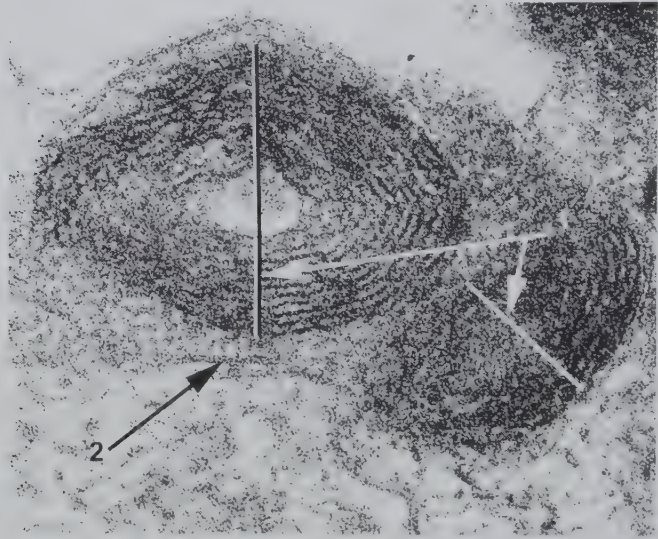
Nature du résidu

Les résidus sont de nature et de forme très variables, car leur aspect dépend de leur origine (fig. 10.11). Les corps résiduels contiennent des figures myéliniques, des pigments biliaires, de la ferritine, de la lipofuscine ou une substance étrangère injectée.

Fig. 10.11

Corps résiduel contenant une figure myélinique.

1. Figure myélinique caractéristique par son alternance de lignes denses et de lignes claires.
2. Membrane du corps résiduel.



Figures myéliniques

Les *figures myéliniques* sont le résultat de la dégradation altérée des phospholipoprotéines. Ces substances constituent habituellement les membranes des divers organites : ces figures myéliniques apparaîtront donc comme résidus des autolysosomes.

Leur apparition dépend de la quantité d'enzymes contenues dans les lysosomes. Les protéases existent en très grande quantité ; par contre, les lipases sont toujours peu abondantes. La fraction protéique des phospholipoprotéines est digérée, tandis que la fraction lipidique ne l'est que partiellement. Or, les molécules lipidiques, qui possèdent un groupement polaire hydrophile, ont toujours tendance à former des couches monomoléculaires. Les figures myéliniques sont donc constituées par des couches monomoléculaires parallèles les unes aux autres, disposées souvent en tourbillons ou en lamelles concentriques.

Lipofuscines

Les *lipofuscines* sont des pigments bruns, appartenant au groupe des chromolipoïdes. Elles résultent de l'oxydation non enzymatique des lipides. Dans la plupart des cas, ce type de pigments apparaît dans des cellules altérées ou sénescents, d'où le nom de « pigment d'usure » qui lui est fréquemment attaché. L'analyse biochimique de ce résidu indique la présence de phospholipides et de protéines en petite quantité.

L'activité phosphatasique des corps résiduels

Bien que les corps résiduels représentent la fin de l'évolution d'un hétérolysosome ou d'un autolysosome, ils renferment encore une activité phosphatasique acide décelable par les techniques histochimiques. Les autres activités enzymatiques sont faibles, voire nulles.

Excrétion ou persistance des corps résiduels

Le matériel « indigeste », qui persiste dans la vacuole, est éliminé à l'extérieur par exocytose (défécation cellulaire). Parfois, la cellule est dans l'impossibilité d'éliminer ces résidus (constipation cellulaire) : ceux-ci persistent jusqu'à la mort de la cellule.

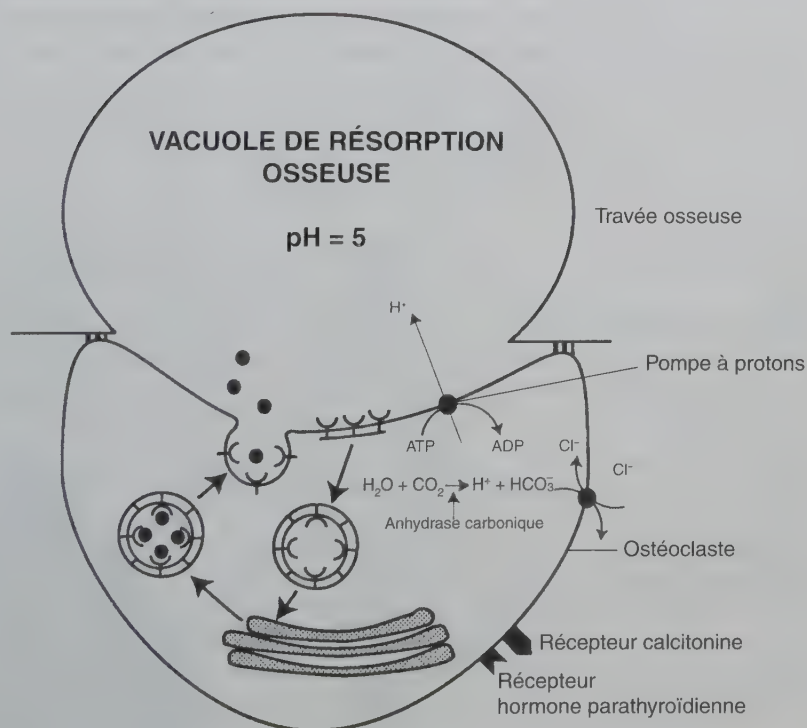
Les corps résiduels sont des lysosomes dont le contenu a été partiellement lysé. Les figures myéliniques, la lipofuscine sont les résidus les plus fréquents. Leur contenu n'est pas toujours excrété.

Digestion de matériaux extracellulaires

Les cellules déversent 10 % de leurs enzymes lysosomales dans le milieu extracellulaire. Les ostéoclastes illustrent parfaitement cette notion (fig. 10.12). Les ostéoclastes sont des cellules multinucléées, qui jouent un rôle essentiel dans la résorption du tissu osseux. Ils possèdent, sur une de leurs faces, de très nombreuses microvillosités. Ils s'appliquent, par cette face, aux travées osseuses, à laquelle ils

Fig. 10.12

Résorption du tissu osseux par un ostéoclaste. La vacuole ou chambre de résorption reçoit les hydrolases apportées par les vésicules à hydrolases. L'acidité de la chambre est produite par des pompes à protons contenues dans la membrane plasmique. Ces pompes utilisent les ions H^+ libérés par l'hydrolyse du dioxyde de carbone par l'anhydrase carbonique. Les produits de dégradation sont endocytés et conduits par voie endosomale vers des lysosomes.



adhèrent grâce à une intégrine $\alpha_5\beta_3$. Les villosités délimitent des espaces clos dénommés *chambres de résorption*, situés entre le tissu osseux et la membrane plasmique de l'ostéoclaste.

Les lysosomes libèrent leurs enzymes, par exocytose, dans les chambres de résorption (des protéases, principalement des collagénases) dont le contenu est acide, pH 5. Le pH acide est maintenu par le fonctionnement de pompes à protons, localisées dans la membrane plasmique de l'ostéoclaste. Ces pompes à protons sont contrôlées par la *calcitonine* (une hormone thyroïdienne) et l'*hormone parathyroïdienne*. La baisse de la concentration sanguine en calcitonine provoque une augmentation de l'activité des pompes à protons (régulation négative) : l'accroissement de la sécrétion en hormone parathyroïdienne induit une élévation de l'activité de ces mêmes pompes (régulation positive).

Les *collagénases* détruisent les fibres de collagène ; les cristaux d'hydroxyapatite qu'elles contiennent sont libérés : les sels de calcium sont solubilisés par l'acidité du milieu. Les produits de dégradation subissent une endocytose et sont transférés vers des lysosomes.

Rôle dans la fécondation

L'acrosome des spermatozoïdes est une volumineuse vacuole qui coiffe la partie antérieure du noyau des spermatozoïdes. Au cours de la spermatogenèse (fig. 10.13), des granules pré-acrosomaux, qui sont des vésicules à hydrolases, fusionnent et constituent l'acrosome. Le contenu acrosomal est riche en enzymes et en particulier en hyaluronidases, en sialidases et en phosphatases acides, qui sont nécessaires à la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte.

L'ovocyte contient lui aussi des lysosomes. Ils ont la forme de granules corticaux d'un diamètre de 0,5 à 1 μm . Lorsque le spermatozoïde pénètre dans l'ovocyte, il provoque une réaction du cortex de l'ovocyte, qui aboutit à la libération des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur. Ces enzymes détruisent les récepteurs des spermatozoïdes de la membrane plasmique de l'ovocyte, ce qui empêche une double fécondation.

Fig. 10.13

Acrosome (redessiné d'après C.G. THÉRET, P. LALÉGERIE, et J. ALLIET).

A. Partie antérieure du spermatozoïde.

1. Tête du spermatozoïde.

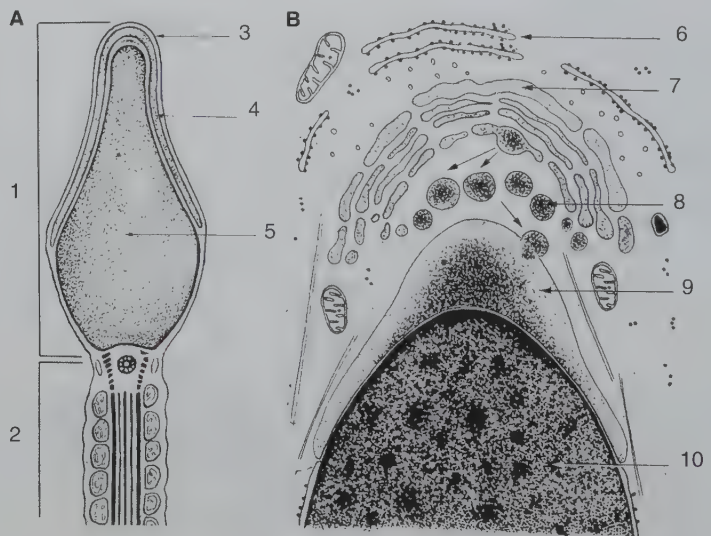
2. Pièce intermédiaire.

3. Membrane plasmique.

4. Acrosome. 5. Noyau.

B. Partie antérieure de la tête du spermatozoïde.

6. Réticulum endoplasmique granulaire. 7. Appareil de Golgi. 8. Granule pré-acrosomal. 9. Acrosome. 10. Noyau.



Les fonctions des lysosomes sont multiples : concentration de substances, nutrition, défense, détoxification, participation au renouvellement de certains organites en intervenant dans leur dégradation, régulation de la sécrétion endocrine et exocrine (crinophagie), participation à la synthèse d'hormones (hormones thyroïdiennes, T3 et T4), intervention dans la formation de l'acrosome des spermatozoïdes et dans la prévention de la polyspermie (lysosome du cortex ovocytaire).

Les maladies lysosomales

Atteintes de la membrane lysosomale

■ Destruction par un agent pathogène

La membrane est détruite par des facteurs extrêmement divers (choc traumatique, anoxie, oxygène hyperbare, substances polyanioniques, endotoxines, virus, particules de silice, de beryl, d'étain ou de zinc).

Les maladies suivantes, choisies à titre d'exemples, illustrent ce type d'atteintes du lysosome.

Les pneumoconioses

Ce sont des affections pulmonaires, provoquées par inhalation de poussière de charbon, de silice, de beryl, d'étain, de zinc. La pneumoconiose est donc une maladie fréquente des mineurs.

Elle se caractérise par des lésions pulmonaires entraînant une dyspnée. Le sujet est fragilisé. Il peut être plus facilement atteint, par exemple, de tuberculose pulmonaire. Les réactions inflammatoires tissulaires sont très importantes, entraînant des lésions des bronches et une réaction scléreuse du parenchyme pulmonaire.

Le mécanisme cellulaire est le suivant : les macrophages alvéolaires phagocytent ces particules. Il se forme des vacuoles de phagocytose, dans lesquelles les lysosomes viennent déverser leur produit enzymatique. Or, la paroi des lysosomes ainsi constituée se rompt sous l'influence de la substance qui y est contenue (silice, amiante, beryl). Les macrophages meurent et libèrent leurs enzymes au contact des alvéoles pulmonaires.

Les streptococcies

Les streptocoques sont responsables de nombreuses maladies infectieuses. Ils possèdent la particularité de lyser la membrane des lysosomes, ce qui entraîne la mort de la cellule par libération des enzymes. La cellule morte libère à son tour, dans l'organisme, les agents pathogènes.

■ Maladie de Chadiak-Streinbrink-Higashi

Certains gènes sont responsables de la synthèse des membranes lysosomales. Leur mutation provoque la maladie de Chadiak-Streinbrink-Higashi. Le contenu enzymatique des lysosomes est normal; par contre, leur membrane a une aptitude singulière à fusionner avec celle des autres lysosomes, ce qui provoque la formation de lysosomes géants à contour irrégulier (2 à 5 μm de diamètre). La perméabilité de la membrane lysosomale est anormalement augmentée.

Cette maladie se traduit, sur le plan clinique, par une baisse de la résistance aux infections, une splénomégalie, une hépatomégalie, une hypertrophie des ganglions lymphatiques, une photophobie, un albinisme.

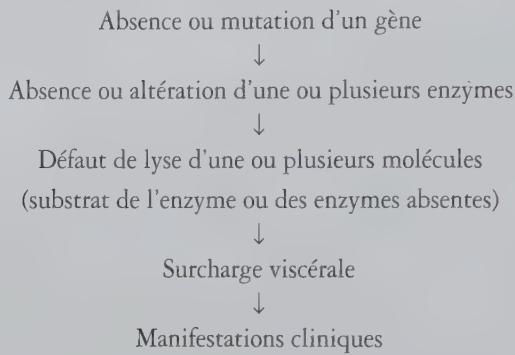
Maladies de surcharge

L'absence d'une ou de plusieurs enzymes provoque des maladies de surcharge. Cette surcharge peut être d'*origine génétique*, par l'absence d'une ou de plusieurs enzymes lysosomales, ou *acquise*.

■ Les thésaurismoses d'origine génétique

De nombreuses thésaurismoses sont d'origine génétique. Dans ces affections, la membrane lysosomale est strictement normale; par contre, un gène responsable de la synthèse des enzymes hydrolasiques est absent ou altéré.

Ces maladies s'expliquent schématiquement par la séquence suivante :



Maladie de Pompe

L' α -glucosidase acide est une hydrolase responsable de la dégradation du glycogène : en son absence, le glycogène s'accumule dans les lysosomes qui deviennent volumineux.

Cette affection porte le nom de *glycogénose II cardiomusculaire* ou maladie de Pompe. Elle se traduit cliniquement, dès la naissance, par une dyspnée avec polypnée, une toux associée à des troubles cardiaques (présence d'un souffle systolique). La mort survient à la fin de la première année. Anatomiquement, on observe une cardiomégalie, parfois une hépatomégalie, une hypertrophie musculaire avec hypotonie, une macroglossie.

Autres exemples

Ces maladies sont nombreuses. Dans les maladies de Niemann-Pick, Gaucher, Tay-Sachs, Fabry, Wolman, Hurler, comme dans l'exemple précédent, les substances qui pénètrent dans les lysosomes et dont la digestion ultérieure exigerait la présence de l'enzyme déficiente, s'accumulent sur place. Les lysosomes augmentent en taille et en nombre et occupent une partie considérable de la cellule. Les désordres qui en découlent sont d'autant plus graves que ces processus intéressent des cellules plus spécialisées. Ainsi, l'accumulation de substances dans le système nerveux central provoque des atteintes motrices et intellectuelles profondes et une issue souvent fatale.

■ Les thésaurismoses acquises

Les thésaurismoses acquises proviennent d'une surcharge des lysosomes. Des surcharges lysosomales apparaissent lorsque des lysosomes normaux n'ont pas le temps d'hydrolyser les substances qui pénètrent dans la cellule. Dans les néphrites ou certaines néphroses, les cellules des tubes contournés proximaux se remplissent de grosses gouttelettes hyalines. Ces gouttelettes sont des lysosomes chargés de protéines qui n'ont pas le temps d'être hydrolysées, car la réabsorption par le tube contourné proximal est trop rapide. La cellule rénale dégénère.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ABC	ATP-Binding Cassette; boîte de liaison de l'ATP
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ARN	Acide RiboNucléique
ATP	Adénosine TriPhosphate
ATPase	Adénosine TriPhosphatase
CI-MPR	Calcium-Independant-Mannose Phosphate Receptor; récepteur du mannose phosphate calcium-indépendant
ECV	Endosomal Carrier Vesicle; vésicule de transport endosomal
GAG	GlycosAminoGlycane
GTP	Guanosine TriPhosphate
GTPase	Guanosine TriPhosphatase
H ⁺ ATPase	H ⁺ Adénosine TriPhosphatase
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
Lamp	Lysosome-associated membrane protein; protéine membranaire associée au lysosome
Lgp	Lysosomal glycoprotein; glycoprotéine lysosomale
M6P	Mannose-6-Phosphate
M6P-R	Mannose-6-Phosphate Receptor; récepteur du mannose-6-phosphate
MARCKS	Myristoylated, Alanine-Rich C-Kinase Substrate; substrat myristoylé de la kinase C, riche en alanine
MF	MicroFilament d'actine
MT	MicroTubule
PAS	Periodic Acid Schiff reactif; acide périodique réactif de Schiff
PI3-kinase	PhosphoInositide 3-kinase
PKC	Protéine Kinase C
Rab	Ras-bovine brain; Ras extrait du cerveau de bovin
RE	Réticulum Endoplasmique
REG	Réticulum Endoplasmique Granulaire
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
TGN	Trans Golgi Network; réseau golgien <i>trans</i>
TSH	ThyréoStimuline Hypophysaire

■ 1. Les lysosomes :

- ☐ 1. sont des organites dont le contenu enzymatique est constant.
- ☐ 2. possèdent une structure hétérogène.
- ☐ 3. sont limités par une membrane qui provient directement de la vésiculation de la membrane du TGN.
- ☐ 4. ont un contenu homogène.
- ☐ 5. sont limités par une membrane qui est doublée sur sa face interne par des molécules colorables par le PAS.

■ 2. Les hydrolases contenues dans les lysosomes catalysent l'hydrolyse des liaisons :

- ☐ 1. esters.
- ☐ 2. éthers.
- ☐ 3. peptidiques.
- ☐ 4. C-halogènes.
- ☐ 5. C-C.

■ 3. Les vésicules à hydrolases :

- ☐ 1. sont des vésicules qui proviennent du bourgeonnement de la membrane du TGN.
- ☐ 2. contiennent des enzymes marquées par le M6P.
- ☐ 3. sont limitées par des membranes contenant un marqueur Lamp-1 et 2.
- ☐ 4. sont recouvertes par un manteau de COPs.
- ☐ 5. fusionnent avec les lysosomes précoces.

■ 4. Les enzymes lysosomales :

- ☐ 1. sont élaborées dans le REL : le peptide signal est associé à ces molécules dans le compartiment ERGIC pour être adressé aux saccules *cis*.
- ☐ 2. subissent l'ajout d'un groupe N-acétylglucosamine-1-phosphate dans les citernes *cis*.

- ☐ 3. subissent l'ajout d'une molécule de N-acétylglucosamine.
- ☐ 4. sont adressées grâce au radical M6P et à la PI3-kinase.
- ☐ 5. se combinent à des supports protéiques qui inhibent temporairement leur activité hydrolasique.

■ 5. La PI3-kinase :

- ☐ 1. est un métabolite fongique.
- ☐ 2. est nécessaire à l'adressage des vésicules à hydrolases.
- ☐ 3. se combine à M6P et permet ainsi l'adressage des enzymes aux vésicules à hydrolases.
- ☐ 4. est détruite par la wortmannine, ce qui provoque une déplétion en M6P-R des saccules *cis* et arrête la délivrance d'enzymes nouvellement synthétisées aux lysosomes.
- ☐ 5. est nécessaire à la formation des récepteurs de M6P.

■ 6. Les vésicules à hydrolases :

- ☐ 1. sont toujours recouvertes d'un manteau de clathrine.
- ☐ 2. contiennent dans leur membrane des protéines Lamp-1 et 2.
- ☐ 3. contiennent dans leur membrane deux types de récepteurs M6P.
- ☐ 4. fusionnent avec les corps multivésiculaires.
- ☐ 5. fusionnent avec les endosomes précoces.

■ 7. La membrane lysosomale contient :

- ☐ 1. des protéines porteuses (porines) des acides aminés libérés dans les lysosomes par la lyse des protéines.
- ☐ 2. des protéines ABC, GTP-dépendantes, qui transportent les molécules du cytosol vers la cavité lysosomale.

- ☐ 3. des ATPases de trafic qui transportent des molécules du cytosol vers la cavité lysosomale.
- ☐ 4. des marqueurs Lamp-1 et 2.
- ☐ 5. des récepteurs de la séquence KFERQ qui sont des molécules différentes des ATPases de trafic.

■ 8. Les récepteurs CI-MPR sont :

- ☐ 1. des récepteurs des marqueurs des enzymes lysosomales.
- ☐ 2. parfois localisés dans la membrane plasmique.
- ☐ 3. toujours recyclés par endocytose lorsque les hydrolases sont excrétées dans le milieu extracellulaire.
- ☐ 4. localisés dans la membrane des saccules médians.
- ☐ 5. mis en évidence par les techniques d'immunofluorescence.

■ 9. La membrane lysosomale :

- ☐ 1. est, comme toutes les membranes, imperméable aux protons.
- ☐ 2. possède des pompes à protons.
- ☐ 3. laisse traverser librement les molécules dont le PM est inférieur à 200 daltons.
- ☐ 4. contient toujours des Lamp.
- ☐ 5. a une composition constante.

■ 10. Les glycoprotéines de la membrane lysosomale :

- ☐ 1. assurent une protection des deux faces, cytosolique et luminale, de la membrane lysosomale.
- ☐ 2. sont colorables par la réaction au PAS.
- ☐ 3. sont au nombre d'une trentaine avec des PM oscillant entre 20 et 200 kDa.
- ☐ 4. agissent sur la longévité des lysosomes.
- ☐ 5. interviennent dans l'adressage des lysosomes.

■ 11. Les pompes à protons lysosomales :

- ☐ 1. ont un fonctionnement ATP et calcium-dépendant.
- ☐ 2. sont associées à des porines qui assurent le transport des protons vers la lumière lysosomale.

- ☐ 3. sont comparables aux pompes à protons des mitochondries.
- ☐ 4. sont activées par l'oligomycine.
- ☐ 5. sont insensibles à l'action du vanadate.

■ 12. Le ciblage lysosomal des protéines cytosoliques intéresse :

- ☐ 1. des protéines cytosoliques qui n'ont subi aucune modification.
- ☐ 2. des protéines non ubiquitinyllées dégradées par les protéasomes.
- ☐ 3. des protéines non modifiées mais porteuses de la séquence KFERQ.
- ☐ 4. des protéines reconnues par les protéines ABC de la membrane lysosomale.
- ☐ 5. des protéines cytosoliques de cellules ayant subi une carence nutritionnelle prolongée.

■ 13. La migration des phagosomes dépend :

- ☐ 1. des MTs au cours de l'internalisation.
- ☐ 2. toujours de l'actine F et de la myosine.
- ☐ 3. des protéines Rab.
- ☐ 4. de l'ATP.
- ☐ 5. des protéines G.

■ 14. La membrane des phagosomes s'associe :

- ☐ 1. à l'ATP.
- ☐ 2. à GTP.
- ☐ 3. aux protéines G.
- ☐ 4. à Lamp-1.
- ☐ 5. à MARKS et à PKC.

■ 15. La membrane des vacuoles d'endocytose :

- ☐ 1. perd son revêtement de clathrine après l'internalisation.
- ☐ 2. contient des complexes récepteur-ligand qui se désaccouplent.

- ☐ 3. libère les récepteurs qui sont recyclés par l'appareil de Golgi.
- ☐ 4. acquiert des pompes à protons.
- ☐ 5. fusionne avec un endosome secondaire.

■ 16. Les vacuoles hétérophagiques :

- ☐ 1. concentrent des substances d'origine extracellulaire.
- ☐ 2. interviennent dans la nutrition de la cellule.
- ☐ 3. protègent toujours la cellule contre les bactéries.
- ☐ 4. dégradent des substances médicamenteuses.
- ☐ 5. dégradent les substances toxiques.

■ 17. Ces propositions concernent les vacuoles hétérophagiques :

- ☐ 1. Les vacuoles hétérophagiques concentrent des substances d'origine extracellulaire.
- ☐ 2. *Mycobacter tuberculosis* détruit la paroi des lysosomes.
- ☐ 3. *Listeria monocytogenes* inhibe la fusion lysosome-phagosome.
- ☐ 4. *Mycobacterium avium* maintient le pH du contenu lysosomal à 6,3 ou au-dessus.
- ☐ 5. *Mycobacterium avium* empêche l'acquisition de pompe à protons par les membranes des hétérophagolysosomes.

■ 18. L'autophagie intervient :

- ☐ 1. uniquement dans la régulation de la sécrétion exocrine.

- ☐ 2. uniquement dans la régulation de la sécrétion endocrine.
- ☐ 3. dans la nutrition de la cellule placée dans des conditions défavorables.
- ☐ 4. dans le renouvellement des mitochondries et du RE.
- ☐ 5. dans la défense des cellules.

■ 19. Les corps résiduels :

- ☐ 1. possèdent encore une activité phosphatase acide.
- ☐ 2. contiennent des figures myéliniques qui proviennent d'une dégradation incomplète des protéines.
- ☐ 3. contiennent des lipofuscines qui proviennent d'une dégradation non enzymatique des lipides.
- ☐ 4. sont résorbés dans le cytoplasme.
- ☐ 5. sont toujours éliminés de la cellule par exocytose.

■ 20. L'exocytose du contenu lysosomal :

- ☐ 1. ne concerne que certaines cellules du tissu osseux.
- ☐ 2. est un phénomène qui intéresse toutes les cellules possédant des lysosomes.
- ☐ 3. est un mécanisme important pour le tissu osseux : il intervient d'abord dans la résorption des cristaux d'hydroxyapatite.
- ☐ 4. est essentielle à l'accomplissement des fonctions des ostéoblastes.
- ☐ 5. peut être contrôlée par des enzymes comme la calcitonine.

1.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	V

1. Le contenu enzymatique varie avec les fonctions de la cellule qui contient les lysosomes.

3. Ce sont les vésicules à hydrolases qui proviennent de la vésiculation de la membrane du TGN.

4. Le contenu des lysosomes est hétérogène.

2.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

3.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Lamp-1 et 2 sont les marqueurs des endosomes tardifs qui sont considérés comme des prélysosomes.

4. Les vésicules à hydrolases sont recouvertes par des molécules de clathrine.

5. Les vésicules à hydrolases fusionnent avec les endosomes tardifs.

4.

1	2	3	4	5
F	V	F	V	F

1. Les enzymes lysosomales sont élaborées dans le REG : le peptide signal est incorporé dans les citernes du REL.

3. Une N-acétylglucosaminase enlève la N-acétylglucosamine dans les citernes cis.

5. Les enzymes ne se combinent pas à des supports protéiques inhibiteurs.

5.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	V

1. La PI3-kinase est une enzyme, contenue dans les cellules animales ou végétales, indispensable à la formation des résidus mannose-6-phosphates nécessaires à l'adressage des vésicules à hydrolases.

3. 4. La wortmannine inhibe le codage de la PI3-kinase ou se lierait de manière covalente à l'enzyme.

6.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	F

1. Elles perdent leur revêtement de clathrine immédiatement après leur formation.

2. Elles ne contiennent pas, dans leur membrane, Lamp-1 et 2 qui sont des marqueurs des lysosomes.

5. Les vésicules à hydrolases fusionnent avec les corps multivésiculaires ou avec les endosomes tardifs

7.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. Les protéines ABC sont ATP-dépendantes et assurent le passage dans les lysosomes de molécules d'origine cytosolique.

5. Les protéines ABC (protéines de trafic) reconnaissent la séquence d'adressage KFERQ.

8.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Les récepteurs CI-MPR sont des récepteurs du signal d'adressage M6P.

4. Ils sont localisés dans la membrane du TGN.

9.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. La composition de la membrane lysosomale varie en fonction de la cellule à laquelle appartient le lysosome :

ainsi, dans les cellules hépatiques, la membrane lysosomale contient un lipide rare, l'acide lysobisphosphatidique.

10.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Les glycoprotéines protègent uniquement la face interne de la membrane lysosomale.

5. L'adressage des lysosomes dépend des v-SNAREs et non des glycoprotéines.

11.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	V

1. Les pompes à protons lysosomales sont ATP- et magnésium-dépendantes.

2. Elles assurent le transport des protons sans être associées à des porines.

3. 4. Elles sont très différentes des pompes à protons mitochondriales car elles ne sont pas inhibées par l'oligomycine, l'ouabaine, le vanadate.

12.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. 2. 3. Le ciblage lysosomal intéresse des protéines ubiquitinylées, partiellement dégradées par les protéasomes et porteuses de la séquence KFERQ.

13.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	V

1. L'internalisation des futurs phagosomes dépend de l'actine et de la myosine I.

2. Après l'internalisation, la migration des phagosomes dépend des MTs.

4. La migration des phagosomes est GTP-dépendante.

14.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. L'ATP ne s'associe pas à la membrane, la migration des phagosomes dans la cellule n'étant pas ATP-dépendante.

15.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Le recyclage des récepteurs localisés dans la membrane des vacuoles d'endocytose est assuré par les endosomes précoces.

4. Les vacuoles d'endocytose ne contiennent pas de pompe à protons.

5. Les vacuoles d'endocytose fusionnent avec les endosomes précoces.

16.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. Les lysosomes ne fusionnent pas avec les phagosomes qui contiennent *Mycobacter tuberculosis*. Les phagolysosomes contenant des bacilles de la tuberculose aviaire (*Mycobacterium avium*) conservent un contenu dont le pH ne peut descendre au-dessous de 6.3, de telle sorte que ces bactéries ne sont pas détruites.

17.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. *Mycobacterium tuberculosis* empêche la fusion lysosome-phagosome.

3. *Listeria monocytogenes* détruit la membrane des hétérophagosomes.

18.

1	2	3	4	5
F	F	V	F	V

1. 2. L'autophagie intervient dans la régulation de la sécrétion endocrine et exocrine en détruisant le surplus de sécrétion.

4. L'autophagie ne semble intervenir que dans le renouvellement des mitochondries mais sûrement pas dans celui du RE.

19.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	F

2. Les figures myéliniques proviennent de la digestion incomplète des phospholipoprotéines : les lipides restants s'organisent en figures concentriques, les figures myéliniques.

4. 5. Les corps résiduels sont soit exocytés, soit conservés dans la cellule.

20.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	V

1. Les cellules excrètent environ 10 % de leur contenu lysosomal.

3. Le contenu lysosomal détruit d'abord les fibres de collagène et libère les cristaux d'hydroxyapatite.

4. Ce mécanisme dépend des ostéoclastes et non des ostéoblastes.

ENTRAÎNEMENT

QROC

Questions

■ 1. Citez trois marqueurs des lysosomes.

■ 2. Citez un caractère histochimique de la face interne de la membrane lysosomale.

■ 3. Les protéases regroupent deux classes d'enzymes. Lesquelles ?

■ 4. Quel est le mécanisme d'action des enzymes lysosomales ?

■ 5. Quel est le caractère biochimique commun des enzymes lysosomales ?

■ 6. Que deviennent les M6P-Rs des vésicules à hydrolases qui ont fusionné avec leur compartiment cible ?

■ 7. Quelle enzyme intervient dans la facilitation du recyclage des récepteurs du mannose-6-phosphate ?

- **8.** Énumérez les caractères des vésicules à hydrolases.
- **9.** Citez les enzymes qui interviennent dans le marquage des enzymes lysosomales.
- **10.** Quelle est l'enzyme nécessaire à l'adressage des vésicules à hydrolases?
- **11.** Est-il possible d'inhiber l'adressage des vésicules à hydrolases? Si oui, comment?
- **12.** Comment la membrane des lysosomes est-elle protégée contre les enzymes lysosomales?
- **13.** Dans quelle condition le CI-MPR relargue-t-il son ligand?
- **14.** Quelles techniques permettent de localiser le CI-MPR?
- **15.** Quel est le devenir des vésicules à hydrolases?
- **16.** Citez les molécules qui entrent d'une manière constante dans la composition de la membrane lysosomale.
- **17.** Comment peut-on démontrer l'importance de la glycosylation des protéines membranaires lysosomales?
- **18.** Où est localisée la phosphatase acide?
- **19.** Quel mécanisme permet le maintien du pH du contenu des lysosomes?
- **20.** Que deviennent les produits finaux de la lyse des protéines?
- **21.** Quel est le mécanisme d'importation dans les lysosomes des protéines qui doivent être lysées?
- **22.** Citez un facteur susceptible de déclencher le ciblage lysosomal.
- **23.** Quelles sont les molécules membranaires lysosomales qui interviennent dans la capture des protéines devant être dégradées dans les lysosomes?
- **24.** Énumérez sans commentaires les protéines qui interviennent dans la maturation des phagosomes.
- **25.** À partir de quel moment la membrane des phagosomes contient-elle la molécule Lamp-1?
- **26.** Les lysosomes peuvent ne pas fusionner avec les phagosomes au cours de certaines infections. Citez un exemple.
- **27.** Dans quel cas les phagolysosomes n'acquièrent-ils pas de pompe à protons?
- **28.** Quel est le mécanisme de formation d'un autophagosome?
- **29.** Décrivez l'évolution d'un autophagosome.
- **30.** Les autophagolysosomes interviennent dans le renouvellement d'un organite. Lequel?
- **31.** Quel est le rôle de l'autophagie dans la régulation de la sécrétion?
- **32.** Énumérez les caractères des corps résiduels.
- **33.** Par quel mécanisme les figures myéliniques se forment-elles?
- **34.** Quelle est la signification des lipofuscines?
- **35.** Dans quel cas, les cellules excrètent-elles le contenu de leurs lysosomes?
- **36.** Quel rôle jouent les lysosomes dans la sécrétion des hormones thyroïdiennes?
- **37.** Pourquoi, au cours de la fécondation, un seul spermatozoïde pénètre-t-il dans l'ovocyte?
- **38.** Quelle est la nature de l'acrosome?

1. Lamp-1 et 2, cathepsine L.
2. Elle est PAS-positif en raison de la présence de résidus glucidiques.
3. Les endopeptidases qui lysent les liaisons peptidiques et les exopeptidases qui éliminent les acides aminés des extrémités carboxy- et amino-terminales.
4. Il s'agit d'un mécanisme hydrolasique qui catalyse la réaction $AB + H_2O \rightarrow AH + BOH$.
5. Il s'agit de protéines ayant subi une N-glycosylation.
6. Les vésicules à hydrolases retournent à leur TGN d'origine.
7. Rab11, une GTPase de la superfamille Ras.
8. Les vésicules à hydrolases sont recouvertes d'un manteau de clathrine/adaptine qui disparaît rapidement. Leur membrane ne contient pas les marqueurs des lysosomes Lamp-1 et 2. Leur membrane contient les récepteurs du M6P (M6P-Rs).
9. La N-acétylglucosamine transférase et la N-acétylglucosaminase.
10. La PI3-kinase.
11. Par l'administration de Wortmannine, un métabolite d'origine fongique qui, en inhibant le codage de la PI3-kinase, provoque la déplétion en M6P-R, ce qui interrompt la délivrance des enzymes à destination lysosomale nouvellement synthétisées.
12. La protection de la membrane des lysosomes est assurée par les glycoprotéines intramembranaires qui exposent leur chaîne glucidique sur la face interne de la membrane lysosomale.
13. Le CI-MPR relargue les protéines porteuses de M6P lorsque le pH devient acide (pH 6).
14. Les techniques d'immunofluorescence.
15. Les vésicules à hydrolases, après avoir perdu leur manteau de clathrine, fusionnent soit avec les corps multivésiculaires, soit avec les endosomes tardifs, soit avec les phagolysosomes, soit avec les vacuoles autophagiques.
16. Lgp120, la pompe à protons, Lamp-1 et 2.
17. Des cellules traitées par la tunamycine, un antibiotique qui bloque la glycosylation, possèdent des lysosomes dont la demi-vie diminue d'une manière très importante.
18. La phosphatase acide est localisée dans la membrane lysosomale : son domaine actif est situé dans la lumière du lysosome.
19. Les pompes à protons (H^+ -ATPase) de la membrane lysosomale transportent les ions H^+ du cytosol vers la lumière lysosomale. Le transport est ATP-dépendant.
20. Les acides aminés gagnent le cytosol en traversant la membrane lysosomale par l'intermédiaire des porines : ils sont réutilisés par la cellule.
21. Des protéines ABC (ATPases de trafic), ATP-dépendantes reconnaissent la séquence KFERQ des protéines à importer qui sont préalablement ubiquitinylées et partiellement dégradées par les protéases.
22. Une carence nutritionnelle prolongée.
23. Lamp-2 et Lgp96.
24. MARCKS (myristoylated, alanine-rich C-kinase substrate; substrat myristoylé de la kinase C riche en alanine) et PKC (protéine kinase C), myosine I.
25. Lamp-1 est un marqueur des lysosomes. Il apparaît donc lorsque les protéines MARCKS et PKC se séparent de la membrane, c'est-à-dire au moment de la fusion des lysosomes avec les phagosomes.
26. Les lysosomes ne fusionnent pas avec les phagosomes contenant *Mycobacter tuberculosis*.
27. Les phagolysosomes qui contiennent des bacilles de la tuberculose aviaire (*Mycobacterium avium*) conservent un contenu dont le pH ne peut descendre au-dessous de 6,3.

28. Un autophagosome se forme par enroulement du REL autour d'une région cytoplasmique lésée.

29. Un autophagosome se transforme en un autophagolysosome (ou autophagolysome) par fusion avec des lysosomes.

30. La mitochondrie.

31. Dans les cellules ayant une activité de sécrétion endocrine ou exocrine, l'autophagie se produit lorsque la sécrétion dépasse les besoins de l'organisme. Les lysosomes fusionnent alors avec les grains de sécrétion.

32. Les corps résiduels contiennent soit des lipofuscines, soit des figures myéliniques; ils possèdent encore une activité phosphatasique acide.

33. Les figures myéliniques proviennent d'une dégradation altérée des phospholipoprotéines. Lorsque la quantité de lipases est insuffisante, les phospholipoprotéines ne sont pas dégradées complètement. La fraction protéique est lysée, mais les phospholipides qui ne sont pas détruits s'organisent en figures myéliniques.

34. Les lipofuscines sont des pigments bruns du

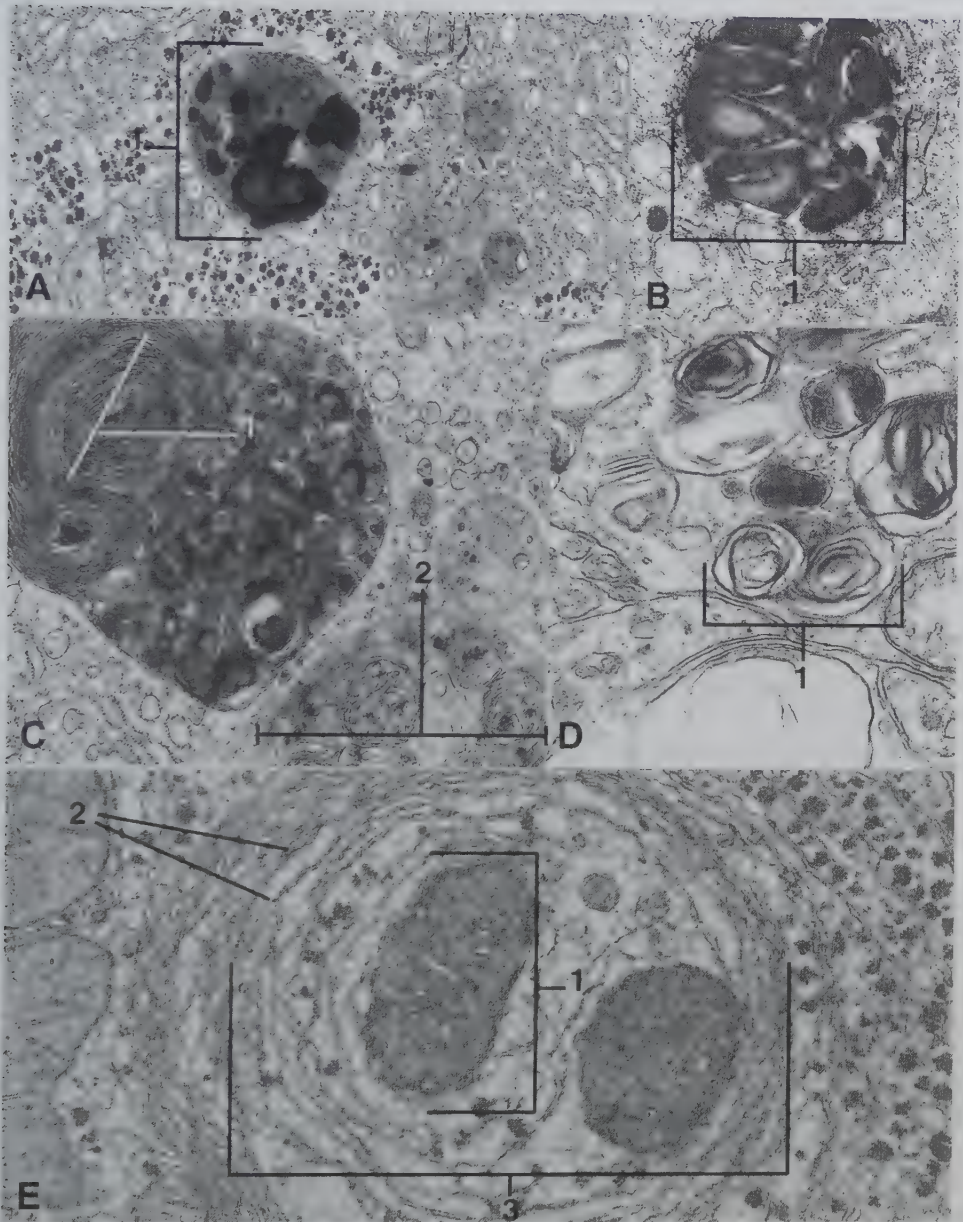
groupe des chromolipoides : elles proviennent de l'oxydation non enzymatique des lipides.

35. Toutes les cellules excrètent environ 10 % de leur contenu en enzymes lysosomales. Cependant, les ostéoclastes, cellules spécialisées dans la lyse du tissu osseux, excrètent la quasi totalité de leur contenu enzymatique lysosomal.

36. La thyroglobuline élaborée par les cellules thyroïdiennes, contenue dans les vésicules thyroïdiennes, est résorbée grâce à un mécanisme voisin de la phagocytose. Ces vésicules fusionnent avec des lysosomes et la thyroglobuline libérée, par hydrolyse et protéolyse, les hormones T3 et T4.

37. La pénétration du premier spermatozoïde provoque une réaction du cortex de l'ovocyte qui aboutit à la libération des hydrolases contenues dans les lysosomes. Ces hydrolases détruisent les récepteurs des spermatozoïdes de la membrane plasmique de l'ovocyte. Ceci est un des principaux mécanismes interdisant la pénétration d'autres spermatozoïdes.

38. L'acrosome est un volumineux lysosome qui coiffe le pôle antérieur du noyau : il contient de nombreuses enzymes et en particulier des hyaluronidases, des sialidases.



■ Cliché A :

Flèche 1 : vacuole lipidique.

■ Cliché B :

Flèche 1 : corps résiduel.

■ Cliché C :

Flèche 1 : corps résiduel : inclusion de lipofuscine.

Flèche 2 : autophagosome.

■ Cliché D :

Flèche 1 : mitochondrie normale.

■ Cliché E :

Flèche 1 : mitochondrie normale.

Flèche 2 : membrane plasmique enroulée.

Flèche 3 : expansion cellulaire cylindrique en coupe transversale.

■ Cliché A :

Flèche 1. *F* : hétérolysosome.

■ Cliché B :

Flèche 1. *V*.

■ Cliché C :

Flèche 1. *F* : corps résiduel : figure myélinique.

Flèche 2. *V*.

■ Cliché D :

Flèche 1. *F* : lysosome avec figure myélinique.

■ Cliché E :

Flèche 1. *V* (mitochondrie à matrice dense).

Flèche 2. *F* : enroulement du REL.

Flèche 3. *F* : autophagosome.

Morphologie

Organisation moléculaire

Biogenèse

Fonctions

Pathologie
d'origine peroxysomale

En 1954, Rhodin découvre, dans le tube contourné proximal des reins de Souris, des organites de petite dimension auxquels il donne le nom de « microbodies ». En 1967, De Duve les dénomme *peroxysomes*, car ces organites interviennent dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène, mais ce n'est pas leur seule fonction.

Les peroxysomes sont des organites cytoplasmiques, autorépliquables, limités par une membrane, présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des hématies, qui interviennent :

- dans l'homéostasie des lipides par β -oxydation des lipides, des acides gras à longue chaîne et à très longue chaîne;
- dans la conversion du cholestérol en sels biliaires (dans le foie);
- dans la biosynthèse de plasmalogènes (ou éthers phospholipidiques), une famille de phospholipides du cœur et du cerveau;
- dans la respiration cellulaire;
- dans de nombreuses autres fonctions : la biosynthèse du cholestérol, le métabolisme des acides aminés, des purines et l' α -oxydation.

Chez les Végétaux, dans les graines, ils sont responsables de la conversion des acides gras en glucides, par l'intermédiaire de l'acide glyoxylique. Ils interviennent dans la photorespiration en métabolisant des produits dérivés de cette fonction.

Les réactions d'oxydation qui s'y déroulent aboutissent à la formation de peroxyde d'hydrogène : ce peroxyde est dégradé par la peroxydase (d'où le nom peroxysome) ou utilisé pour oxyder divers substrats. Les peroxysomes ne possèdent pas de *génome* : toutes les molécules peroxysomales sont donc synthétisées dans le cytosol et transportées vers les peroxysomes.

Morphologie des peroxysomes

Structure et composition

Les peroxysomes sont des organites ovoïdes, isolés les uns des autres, dont le diamètre oscille entre 0,15 et 1,7 μm . Limités par une membrane, la membrane peroxysomale, ils contiennent une matrice homogène, un nucléoïde et une plaque marginale.

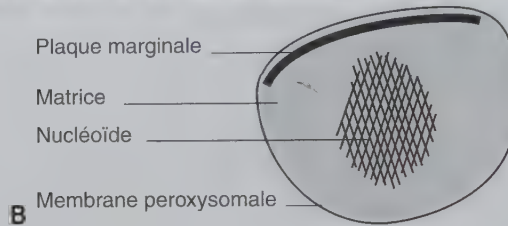
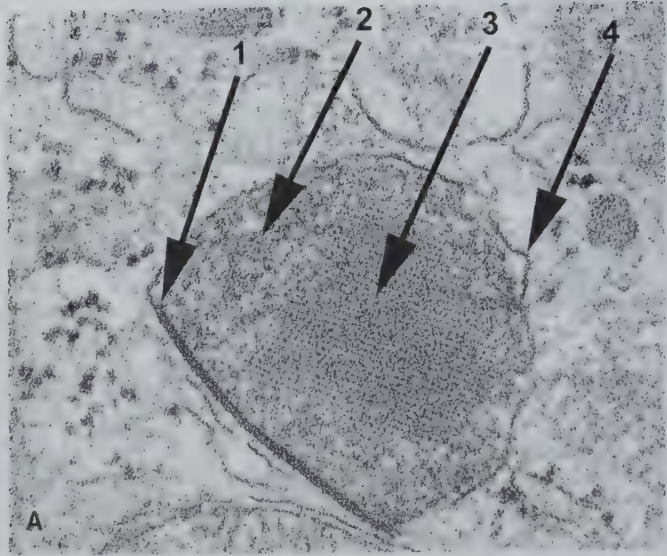
La membrane et la matrice sont des éléments constants. La présence du nucléoïde dépend de l'espèce; celle de la plaque marginale dépend de la nature de la cellule (fig. 11.1 et 11.2). L'absence de nucléoïde et de plaque marginale rend difficile l'identification de ces organites. Leur activité peroxydasique, révélée par la diaminobenzidine, permet seule, dans ces cas, de les reconnaître.

■ La membrane peroxysomale

Elle limite le peroxysome à sa périphérie. Dans les conditions classiques de fixation, elle offre, à l'examen, une structure tripartite d'une épaisseur de 6 à 8 nm, morphologiquement (et seulement morphologiquement) semblable à celle du REL (de nombreux cytologistes pensèrent, pour cette raison, que les peroxysomes se différenciaient à partir d'expansions tubulaires souvent sinueuses du REL).

Fig. 11.1

Peroxysome (rein de taupe).
A. Photomicrographie en microscopie électronique due à la courtoisie de Z. HRUBAN et M. RECHEIL. 1. Plaque marginale. 2. Matrice lysosomale. 3. Cristalloïde. 4. Membrane peroxysomale.
B. Représentation schématique.



■ La matrice

Modérément opaque au rayonnement électronique, elle contient quelquefois des filaments ramifiés de 4 à 4,5 nm de diamètre.

■ Le nucléoïde

Une formation de structure cristalline, le nucléoïde, contenant de l'uricase, occupe le centre des peroxysomes de nombreuses espèces animales et végétales (fig. 11.2); il n'existe pas chez les Primates et en particulier chez l'Homme : en effet, l'acide urique, produit du catabolisme des purines, est éliminé tel quel au lieu d'être dégradé.

Le nucléoïde résulte souvent de l'assemblage de tubules primaires. Le *tubule primaire* représente l'unité structurale du nucléoïde. Il s'associe à d'autres tubules, réalisant ainsi une structure poly ou multitubulaire. La disposition des tubules varie. Ils s'unissent soit étroitement en formation dense, soit autour d'un espace de forme tubulaire pour constituer la paroi d'un tubule secondaire. Ainsi, dans les nucléoïdes des peroxysomes du foie de Rat, les tubules primaires, dont la lumière a 3 à 4,5 nm de diamètre et la paroi une épaisseur de 4 nm, se groupent en faisceaux. Ces tubules primaires se disposent de manière à constituer un *tubule secondaire*, dont la paroi est formée par dix tubules primaires (fig. 11.3). La lumière de ce tubule secondaire a un diamètre de 9,5 à 11,5 nm. Les tubules secondaires s'associent les uns aux autres en formations parfois volumineuses.

Fig 11.2

Peroxysome de foie humain.
Photomicrographie en microscopie électronique ($\times 90\,000$).
1. Membrane peroxysomale.
2. Matrice peroxysomale.
3. Membrane mitochondriale.
4. Crête mitochondriale.
5. Peroxysome.

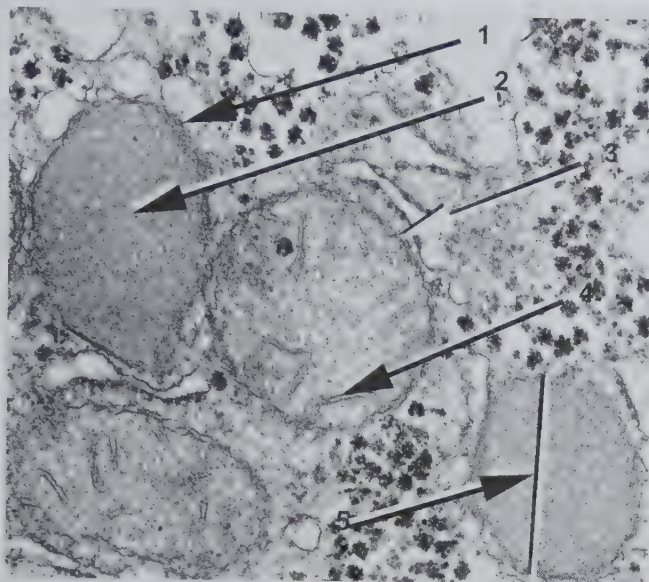
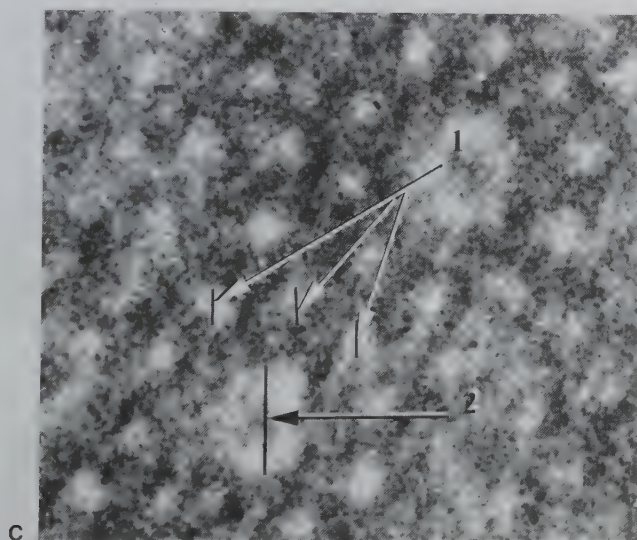
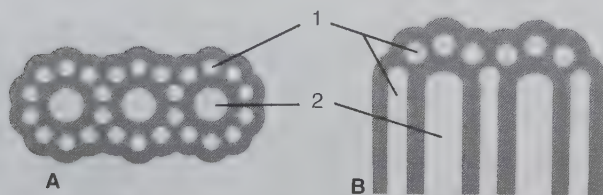


Fig. 11.3

Structure des cristalloïdes des peroxysomes de rat. Ils sont constitués par des faisceaux de cylindres parallèles. A. et B. Représentation schématique de la photomicrographie C. A. Coupe transversale. B. Photomicrographie en microscopie électronique due à la courtoisie de Z. HRUBAN et H. SWIFT, Uricase : localization in hepatic microgodies. *Science*, 146.

1. Tubule primaire.
2. Tubule secondaire.
A et C : $\times 660\,000$.
B : $\times 880\,000$.



■ La plaque marginale

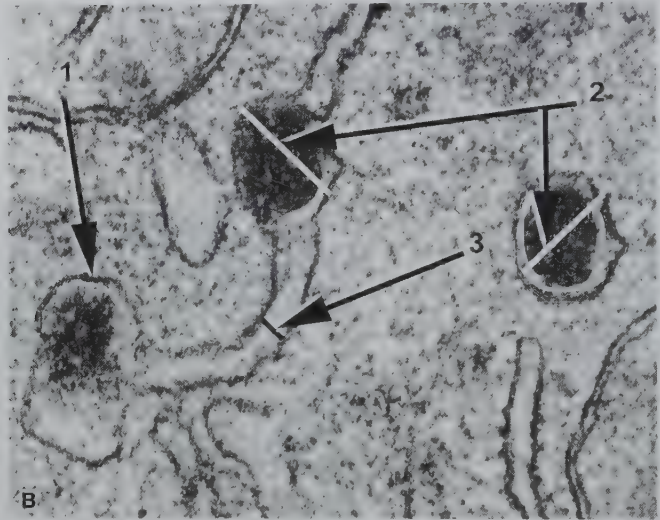
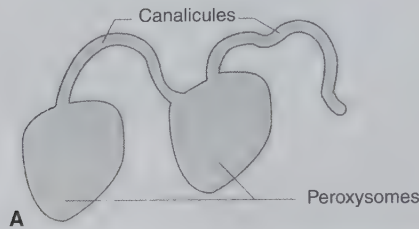
La plaque marginale, plate, linéaire, épaisse de 8,5 nm (donc plus épaisse que la membrane du peroxysome), se caractérise par son homogénéité et par sa densité au

rayonnement électronique. Un espace étroit, de faible densité au rayonnement électronique, sépare la plaque marginale de la membrane du peroxyosome. Cette plaque marginale existe dans les peroxyosomes du foie et des reins de nombreux primates et dans d'autres familles animales, mais elle est loin d'être constante.

Disposition en réseau canaliculaire

Des coupes épaisses (fig. 11.4) mettent en évidence la disposition en un réseau des peroxyosomes. De très fins canalicules les associent les uns avec les autres. Ce réseau est totalement indépendant du réticulum endoplasmique. Les canalicules et les peroxyosomes ont les mêmes fonctions.

Fig. 11.4
Réseau peroxyosomal ($\times 65\,000$).
Les peroxyosomes sont reliés par de très fins canalicules.
A. Représentation schématique.
B. Photomicrographie en microscopie électronique.
1. Membrane d'un peroxyosome.
2. Peroxyosome.
3. Canalicule du réseau peroxyosomal.



Dans l'espèce humaine, les peroxyosomes contiennent une matrice homogène. Ils ne possèdent pas d'uricase (absence de nucléoïde) et rarement une plaque marginale. La mise en évidence d'une activité peroxydasique par la diaminobenzidine permet seule, bien souvent, de les identifier formellement. Les peroxyosomes constituent un réseau canaliculaire, indépendant du réticulum endoplasmique.

Organisation moléculaire des peroxyosomes

La membrane fragile des peroxyosomes est composée de 30 % de lipides et 70 % de protéines. Sa pauvreté en cholestérol la rend particulièrement fluide. Elle contient

des transporteurs d'électrons, le *cytochrome P450*, le *cytochrome b₅*, des enzymes qui interviennent dans le métabolisme des lipides, des oxydoréductases et des *peroxines*.

Composition de la membrane peroxysomale

La membrane peroxysomale contient :

■ Les *peroxines* regroupent des protéines non glycosylées (les protéines du RE sont glycosylées). Le terme *peroxine* et son **acronyme PEX** désignent les protéines peroxysomales membranaires, les protéines importées dans la matrice peroxysomale, les protéines porteuses de protéines adressées aux peroxysomes, les protéines d'arrimage, les protéines contrôlant la prolifération des peroxysomes (récepteurs nucléaires contrôlant les gènes *PEX*) et la translocation des molécules destinées aux peroxysomes. Les *peroxines* ne sont donc pas toutes localisées dans le peroxysome.

– des *peroxines* intervenant, dans la reconnaissance, l'arrimage et la translocation des protéines destinées à la matrice : les protéines PEX 17, 14 et 13 sont vraisemblablement des protéines d'arrimage tandis que d'autres protéines PEX interviendraient dans la translocation. Les *peroxines* reconnaissent sur les protéines une séquence d'adressage aux peroxysomes constituée par trois acides aminés : la sérine, la lysine et la leucine (SKL ou Ser-Lys-Leu selon le système d'abréviation utilisée).

– des protéines ABC (ATP binding cassette; boîte de liaison à l'adénosine triphosphate) qui interviennent dans l'importation dans la matrice des protéines d'origine cytosolique. Ces protéines sont des protéines intramembranaires possédant 12 hélices α transmembranaires, qui peuvent transporter des produits extrêmement variés comme des peptides, des ions ou des molécules organiques de synthèse. Elles ne sont pas localisées uniquement dans les peroxysomes mais aussi dans les membranes biologiques impliquées dans des transports transmembranaires. Les protéines PEX 1 et 6 appartiennent à la famille des protéines ABC. Elles possèdent un ou deux domaines de fixation de l'ATP exposés dans le cytosol : la translocation de protéines dans les peroxysomes est ATP-dépendante.

– des enzymes nécessaires à l'activation des acides gras ou au début de la biosynthèse des éthers lipidiques (voir « Fonctions des peroxysomes »).

– une chaîne de transporteurs d'électrons comprenant le cytochrome b₅ et le cytochrome P450.

– deux ATPases qui diffèrent l'une de l'autre par leur sensibilité à la N-éthylmaléimide.

La membrane des peroxysomes contient des *peroxines* (protéines de reconnaissance du signal SKL, des protéines d'arrimage, des protéines de translocation), des acyl-coenzyme A synthétases et tout un ensemble d'enzymes nécessaires à la β -oxydation des acides qui se déroulent dans la matrice.

Fonctions des enzymes membranaires

Certaines enzymes membranaires favorisent la translocation des protéines et des lipides, d'autres activent les lipides.

■ Translocation

Parmi les *peroxines* impliquées dans les mécanismes de translocation, PEX1 et PEX6 appartiennent à la superfamille ABC des transporteurs. Ce sont des ATPases. Elles possèdent un ou deux domaines de fixation de l'ATP exposés dans le cytosol : la translocation des protéines dans les peroxysomes est ATP-dépendante.

Le contenu enzymatique des peroxysomes

Le contenu enzymatique est particulièrement riche. Une cinquantaine d'enzymes au moins ont été isolées à partir des peroxysomes. Elles n'existent pas

toutes dans le même peroxysome. En effet, le contenu des peroxysomes est fonction de l'activité de la cellule : par exemple, les cellules rénales sont les seules à contenir une L-amino-oxydase qui intervient dans le catabolisme de la triiodothyronine (voir « Fonctions des peroxysomes »).

Il existe des enzymes communes à tous les peroxysomes, en particulier la peroxydase-catalase qui permet d'identifier les peroxysomes lorsque leurs caractères morphologiques sont insuffisants pour le faire, grâce à la réaction à la diaminobenzidine qui donne une coloration brune en présence d'eau oxygénée.

Ces enzymes communes sont :

– la *peroxydase-catalase* qui caractérise les peroxysomes : cette enzyme, constante, utilisée comme marqueur des peroxysomes, assure la destruction du peroxyde d'hydrogène et sa transformation en H_2O selon deux mécanismes différents :

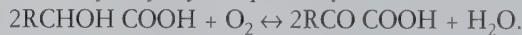
- un mécanisme peroxydasique, qui fait intervenir un « donneur d'hydrogène », $(R.H_2)$: $R.H_2 + H_2O_2 \leftrightarrow 2H_2O + R$ (substrat oxydé);

- un autre mécanisme de nature catalasique, dans lequel le donneur d'électrons est une autre molécule de peroxyde d'hydrogène : $H_2O_2 + H_2O_2 \leftrightarrow O_2 + 2H_2O$. La quantité de catalase, de $R.H_2$ et de H_2O_2 favorise l'une ou l'autre de ces réactions;

Cette enzyme est une hémoprotéine. Elle utilise l'eau oxygénée pour oxygéner de nombreux substrats. Par exemple, elle transforme l'alcool éthylique en acétaldéhyde.

– l'*uricase* ou *urate-oxydase* : cette enzyme (qui existe chez presque tous les Mammifères, à l'exception des Primates), localisée dans le nucléoïde, catalyse la dégradation de l'acide urique en allantoiné.

– la *L- α -hydroxy-oxydase* qui catalyse la réaction :



– la *D-amino-oxydase* qui agit sur les D-amino-acides d'une manière spécifique. Il est difficile d'en comprendre la signification, puisque ces acides aminés n'existent pas chez les Vertébrés et très rarement chez les Procaryotes (voir « Variabilité des peroxysomes »).

Les oxydo-réductases constituent une classe d'enzymes qui regroupe les peroxydases, les oxydases, les déshydrogénases, les hydrolases, les oxygénases, etc. Elles catalysent de nombreuses réactions, dont l'oxydation en acétyl-CoA des très longues chaînes d'acides gras saturés qui ne sont pas métabolisés par les mitochondries. L'activité peroxydasique est caractéristique des peroxysomes : elle existe dans tous les peroxysomes.

Biogenèse des peroxysomes

Rôle des gènes *PEX*

Les gènes *PEX* (anciennement *PAS* chez la Levure : peroxisomal assembly; assemblage peroxysomal, *PAF* chez l'Homme : peroxisomal assembly factor; facteur d'assemblage peroxysomal) sont responsables de l'assemblage et du maintien des peroxysomes. Ils codent toutes les protéines peroxysomales matricielles ou membranaires. Des protéines appelées proliférateurs des peroxysomes (PPs) ou inducteurs de la prolifération peroxysomale activent un récepteur nucléaire soit en se combinant avec lui directement, soit en stimulant la production de ligands pour ce récepteur (la nature de ces ligands est encore mal connue). Les récepteurs activés (PPARs, peroxisome proliferator-activated receptors; récepteurs activés par les proliférateurs des peroxysomes) reconnaissent sur l'ADN de courtes séquences appelées PPPE (peroxisome proliferator-response element;

élément de réponse aux proliférateurs de peroxysome) qui régulent l'activité des gènes *PEX*. Ces séquences sont localisées sur les régions promotrices en amont des gènes. La fixation des récepteurs activés sur les séquences PPRE induit la transcription des gènes *PEX*, déclenchant ainsi la synthèse des peroxines.

La *mutation* des gènes *PEX* provoque des altérations plus ou moins sérieuses des peroxysomes, pouvant aboutir à de graves perturbations du fonctionnement de la machinerie peroxysomale.

Les PPp regroupent des substances aussi diverses que les *hormones thyroïdiennes*, les *hypolipémiants* qui abaissent la cholestérolémie, les *thiazolidinediones* qui possèdent une action antidiabétique. Ces molécules appartiennent donc à un groupe structuellement divers de constituants qui provoquent une multiplication des peroxysomes et une induction des enzymes de la β -oxydation. Le récepteur nucléaire PPAR peut aussi être activé par une accumulation physiologique de lipides polyinsaturés.

La *prolifération* des peroxysomes s'accompagne toujours d'une prolifération cellulaire, normale ou anarchique. Il existerait un lien entre la prolifération des peroxysomes et la multiplication cellulaire, normale ou anarchique.

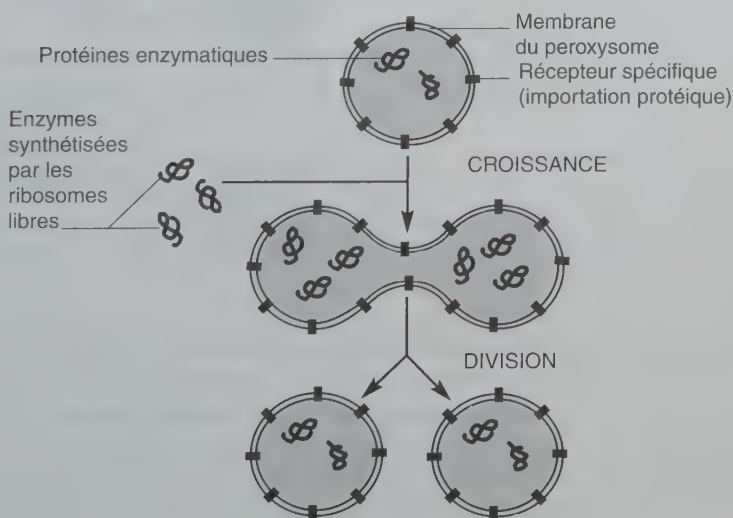
Multiplication des peroxysomes

Tous les biologistes sont d'accord sur le fait que les peroxysomes sont capables de s'accroître numériquement. Les peroxysomes se formeraient :

- par *bourgeonnement du réticulum endoplasmique*. Cette théorie a été abandonnée depuis une vingtaine d'années. Un certain nombre de travaux tentent de réaccréditer cette thèse.
- par *multiplication de peroxysomes préexistants* : diverses techniques, et en particulier les techniques de marquage par des éléments radioactifs, montrent que les peroxysomes se forment à partir de peroxysomes préexistants. Ces peroxysomes incorporent les protéines marquées. Ces protéines marquées se retrouvent dans les peroxysomes néoformés (fig. 11.5). Il existe, par exemple dans les hépatocytes, *deux populations peroxysomales* : une population peroxysomale constituée par des organites de haute densité ($1,22\text{--}1,23\text{ g/cm}^3$) (peroxysomes mûrs) et une population peroxy-

Fig. 11.5

Biogenèse des peroxysomes. La croissance qui précède la division se fait par captage des protéines d'origine cytosolique. Des récepteurs spécifiques membranaires catalysent l'importation des protéines.



somale de faible densité (1,16-1,17 g/cm³) contenant des peroxysomes immatures. Ces peroxysomes sont des peroxysomes qui viennent de se former par bourgeonnement des organites de haute densité et qui reçoivent des protéines néoformées.

– par *bourgeonnement* de la membrane peroxysomale ou du réseau canaliculaire (fig. 11.6) qui nécessite :

- l'apport de protéines qui s'intégreront dans la membrane peroxysomale : ces protéines sont des peroxines synthétisées dans le cytosol et transportées par des protéines spécialisées.
- l'apport de phospholipides qui sont synthétisés dans le feuillet cytosolique du REG.
- la présence de *coatomes* (Cop I) comparables aux protéines qui interviennent dans le bourgeonnement du réticulum endoplasmique. Ces coatomes reconnaissent la membrane peroxysomale dès le début de son bourgeonnement grâce à la présence d'une protéine intramembranaire, la protéine PEX 11. Cette protéine possède en effet un domaine cytosolique qui est capable de reconnaître les coatomes.
- des protéines G appartenant à la famille des ARF (ADN-ribosylation factor; facteur de ribosylation de l'ADN) qui accompagnent les coatomes. Les ARF sont impliqués dans la fusion des vésicules membranaires, dans le transport de ces vésicules et dans la formation de ces vésicules.
- la protéine Hsp70 nécessaire à l'incorporation des protéines dans la membrane peroxysomale.

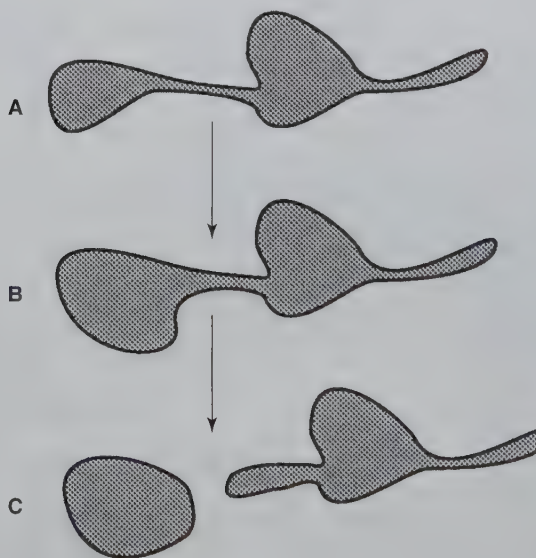
Fig. 11.6

Biogenèse et multiplication des peroxysomes.

A. Une expansion tubulaire du réseau peroxysomal bourgeonne en présence de COP1, ARF, Hsp70 et PEX11.

B. Des protéines sont importées dans la matrice (voir paragraphe « Importation des protéines dans la matrice »).

C. Le bourgeon se sépare pour former un peroxysome.



Enfin, le réticulum endoplasmique donnerait, par bourgeonnement, naissance à des vésicules recouvertes de coatomes (COP1) qui, après perte de leur revêtement, fusionneraient avec un peroxysome préexistant. Ce peroxysome formerait à son tour des vésicules à coatomes. Ces vésicules perdraient leur revêtement puis subiraient une phase de croissance par apport de protéines membranaires et de protéines à destination matricielle. Les mêmes molécules que précédemment inter-

viennent mais l'apport initial serait lié à la formation d'une vésicule provenant du réticulum endoplasmique.

L'assemblage des peroxysomes

Quel que soit le mécanisme de multiplication des peroxysomes, l'assemblage de ces organites se déroule en deux étapes :

- la première étape comprend la formation de la membrane et l'importation des protéines dans la membrane; ces protéines membranaires sont synthétisées en dehors des peroxysomes, elles sont transportées et insérées dans la membrane;
- la deuxième étape est l'importation des protéines qui formeront la matrice peroxysomale.

■ Formation de la membrane peroxysomale

Il existe au moins une douzaine de protéines humaines nécessaires pour réaliser l'assemblage des protéines peroxysomales : ces protéines sont appelées peroxines (PEX 1, PEX 2, PEX 3, PEX 4, etc.). L'absence ou l'altération d'une de ces protéines provoque un dysfonctionnement des peroxysomes à l'origine d'une pathologie d'origine lysosomale. Trois protéines (PEX 3, PEX 16, PEX 19) sont impliquées dans la formation de la membrane peroxysomale. L'absence d'une de ces trois protéines provoque une impossibilité à former la membrane peroxysomale.

■ Importation des protéines de la matrice

Toutes les protéines destinées à la matrice peroxysomale contiennent l'un des deux signaux spécifiques PTS1 ou PTS2 (PTS : peroxisome type signal).

Le signal peroxysomal de type 1 est le plus fréquent. Il est caractérisé par la présence d'une séquence SKL (sérine-lysine-leucine) dans la région carboxy-terminale. Il intervient dans le transport d'environ 95 % des protéines de la matrice peroxysomale.

Le signal peroxysomal de type 2 est seulement porté par trois protéines peroxysomales de la matrice. Il est composé d'un nonapeptide R/K-L/V/I-X₂-H/Q-L/A (arginine/lysine-leucine/valine-histidine/glutamine-leucine/alanine. X représente n'importe quel acide aminé).

Le mécanisme de transport des protéines dans la matrice est mieux connu que celui de leur passage dans la membrane. Des peroxines PEX 5 et PEX 7 font la navette entre cytosol et la membrane peroxysomale. La protéine PEX 5 reconnaît le signal PTS1 et la protéine PEX 7 reconnaît le signal PTS2. PEX 5 et PEX 7 transportent les protéines à la membrane peroxysomale.

Les protéines de la matrice peroxysomale associées à leur transporteur se lient à la surface de la membrane peroxysomale grâce à des interactions avec PEX 13, PEX 14 et PEX 17. PEX 5 et PEX 7 transmettent leurs cargos (les protéines destinées à la matrice peroxysomale) à travers la membrane. Ce passage à travers la membrane peroxysomale nécessite la présence de la protéine Hsp70 : cette protéine est recrutée dans le cytosol, puis intégrée dans la membrane peroxysomale. Une partie de la protéine Hsp70 demeure dans le cytosol : c'est elle qui interviendra au moment de la translocation. Les protéines à destination peroxysomale sont repliées dans le cytosol : cependant, la région carboxy-terminale porteuse de PTS reste dépliée. La protéine Hsp70 stabilise la région partiellement dépliée qui contient le signal PTS1 : elle rend ainsi cette séquence accessible au récepteur localisé dans la membrane peroxysomale. Cette protéine Hsp pourrait également faciliter le recy-

■ PEX5 (ancien PTS1R chez la Levure) est le récepteur de PTS1 : il intervient dans l'importation des protéines portant la séquence d'adressage SKL.

PEX7 (ancien PTS2R chez la Levure) est le récepteur de PTS2 (la mutation de PEX2 est responsable de la maladie de la chondrodysplasie ponctuée : RCDP). La chondrodysplasie ponctuée est une maladie récessive autosomale : elle se traduit par une anomalie de développement des os, qui produit un nanisme intéressant les segments proximaux des membres avec flexion. PEX7 appartient à la famille des protéines WD40, protéines constituées de motifs formés par une quarantaine d'acides aminés se terminant par Trp-Asp (tryptophane-asparagine).

PEX13 (une protéine membranaire), protéine d'arrimage, fixe exclusivement les complexes PEX5/protéines sur la surface de la membrane peroxysomale avant la translocation. PEX12, un composant de la machinerie d'importation peroxysomale intervient ensuite pour transloquer la protéine porteuse du signal d'importation PTS1.

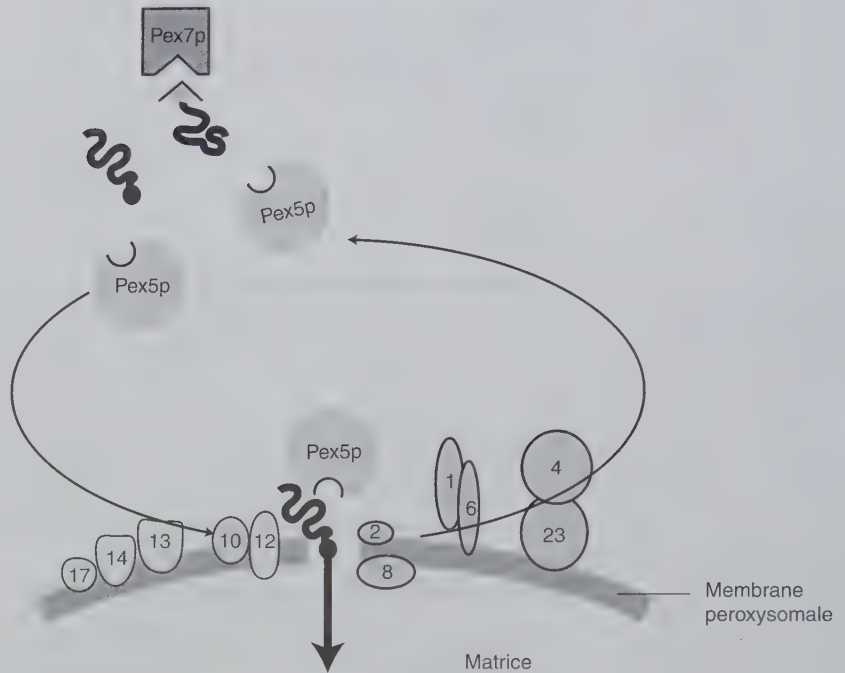
PEX14, une autre protéine membranaire d'arrimage, a la faculté de fixer les complexes protéiques qui contiennent soit PEX5, soit PEX7.

PEX3p (ScPAS3p, une PMP de 48 kDa) intervient dans la capture des enzymes peroxysomales : en son absence des enzymes peroxysomales restent localisées dans le cytosol.

clage de PEX 5 ou PEX 7 dans le cytosol. Il est en effet probable que le transporteur est libéré avant la translocation pour être recyclé afin d'effectuer de nouvelles importations (fig. 11.7).

Fig 11.7

Modèle hypothétique d'importation des protéines matricielles dans le peroxysome. PEX 5 et 7 forment des complexes avec les protéines porteuses des signaux PTS1 ou PTS2. Les complexes sont transportés jusqu'à la membrane peroxysomale. Les protéines PEX 17, 14 et 13 arriment les complexes protéiques. Les PEX 10, 12, 2 et 4 interviendraient (?) dans la translocation. Les PEX 5 et 7 sont recyclés pour de nouveaux transports.



■ Polymérisation de protéines au sein des peroxysomes

La polymérisation de certaines protéines peut s'effectuer dans la matrice peroxysomale. De nombreuses protéines importées sont des oligomères. Il est important de noter que les protéines pénètrent dans les peroxysomes sous une forme oligomérisée. Cependant, la catalase peut entrer sous sa forme tétramérique; par contre, l'alcool oxydase, une molécule octamérique, est assemblée dans les peroxysomes après importation des monomères.

Tout proliférateur de peroxysomes se lie sur un récepteur appartenant à la famille des récepteurs PEX11. PEX11 activé se fixe sur une séquence PPRE de l'ADN et induit ainsi la transcription des gènes PEX codant les peroxines. Les monomères de l'alcool oxydase sont polymérisés dans la matrice peroxysomale. Les peroxysomes ne possèdent pas de génome : ils importent tous leurs constituants. Les monomères pénètrent dans la lumière des peroxysomes, s'assemblent en polymères (par exemple les monomères d'alcool oxydase sont polymérisés dans la matrice peroxysomale). Les protéines possédant des signaux PTS1 (SKL) et PTS2 (9 acides aminés) forment des protéines porteuses cytosoliques (PEX5 ou 7). Ces complexes se fixent sur les protéines d'arrimage de la membrane peroxysomale. Immédiatement après l'arrimage, les protéines sont transloquées : elles pénètrent alors dans le peroxysome à l'état replié, à l'exception de la partie carboxy-terminale porteuse de la séquence PTS que Hsp70 maintient dépliée, autorisant ainsi sa reconnaissance par le récepteur. Hsp70 permet aussi l'importation ou le recyclage du récepteur de la membrane peroxysomale. Hsp70 hydrolyserait l'ATP (libérant l'énergie nécessaire à l'importation des protéines).

■ Le transport des lipides peroxysomaux depuis le RE

Une nouvelle membrane peroxysomale importe les lipides nécessaires à sa construction : ces lipides sont transportés, depuis leurs sites de synthèse (localisés à la surface de la membrane du RE) jusqu'à leur destination, par des protéines hydrosolubles d'échange ou de transfert de phospholipides. Elles transportent des molécules de phospholipides d'une membrane à l'autre. Il existe de nombreuses protéines de transfert, chacune reconnaissant un type particulier de phospholipides.

Une protéine de transfert capture, dans une membrane, une molécule de phospholipide qu'elle transporte en l'isolant du cytosol. Elle le libère dans une autre double couche lipidique.

■ Variabilité des peroxysomes

Variation du nombre de peroxysomes

Le nombre des peroxysomes varie en fonction du type cellulaire. Les peroxysomes sont particulièrement nombreux dans le foie : ils interviennent en effet dans le métabolisme du cholestérol ou dans la glyconéogenèse.

Variation du contenu enzymatique

Dans les cellules d'un même organisme, les peroxysomes, en fonction de la nature des cellules dans lesquelles ils se trouvent, contiennent des enzymes très différentes. Ceci explique les possibilités extraordinaires d'adaptation de ces organites. Le contenu enzymatique des peroxysomes est lié aux fonctions des cellules qui les contiennent : il sera différent dans les cellules qui synthétisent des plasmalogènes (cœur, cerveau) ou des lipides complexes (glande sébacée de la peau).

Ainsi, voici à titre indicatif, une liste de quelques enzymes peroxysomales :

- des *acyl-coenzyme A oxydases* qui interviennent dans la première étape de la β -oxydation des acides gras : leur absence est responsable de la pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale.
- une *enzyme multifonctionnelle* qui catalyse les trois premières étapes de la β -oxydation des acides gras. Elle contient des domaines identiques à ceux contenus par les enzymes de la famille des ϵ -noyl-CoA isomérases et des trois hydroxyacyl-CoA déshydrogénases.
- une *cétoacyl-CoA thiolase* qui intervient dans l'étape finale de la β -oxydation des acides gras. Son absence ou une altération de cette enzyme est responsable du pseudo-syndrome de Zellweger.
- une $\Delta 3,5$ - $\Delta 2,4$ -diénoyl-CoA isomérase qui contrôle une étape auxiliaire de la β -oxydation des acides gras.
- une *sérine-pyruvate aminotransférase*, pyridoxal-dépendante, dont l'absence est responsable de l'hyperoxalurie de type 1.
- une *carnitine-o-acétyltransférase*.
- une Δ -aspartate oxydase qui est une amino-oxydase FAD-dépendante.
- une *phosphomévalonate kinase* qui intervient dans la biosynthèse du cholestérol.
- une *thioestérase* qui enlève le coenzyme A des acides gras.

- une *mévalonate kinase*, ATP-dépendante, impliquée dans la biosynthèse du cholestérol et dont l'absence est responsable d'une mévalonicacidurie.
- une *dihydroxyacétonephosphate acyltransférase* impliquée dans la synthèse des éthers lipidiques et dont la carence est responsable de la chondrodysplasia punctata rhizomélique de type II (une maladie héréditaire caractérisée par la formation d'exostoses au niveau des épiphyses et provoquant un arrêt du développement et des malformations).
- une *époxyde hydroxylase*, qui intervient dans les phénomènes de détoxification.
- une *phytanoyl-CoA alpha-hydroxylase* impliquée dans la première étape de la dégradation de l'acide phytanique.
- une *isocitrate déshydrogénase*, NADP-dépendante, distribuée entre les peroxysomes et le cytoplasme qui joue un rôle possible dans la régénération de NADPH dans les peroxysomes.
- une Δ^3, Δ^2 -énol-CoA isomérase nécessaire à l'oxydation des acides gras insaturés.
- une *malonyl-CoA décarboxylase* distribuée entre les peroxysomes et le cytosol (il y en a beaucoup plus dans le cytosol) qui joue un rôle probable dans la dégradation des acides gras dicarboxyliques ayant un nombre impair d'atomes de carbone.

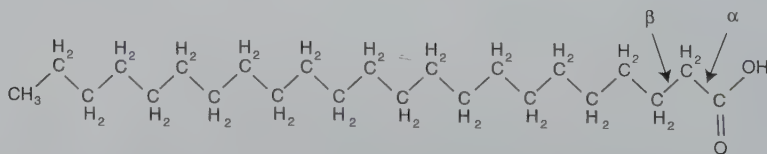
Chez les Levures, le contenu et la forme dépendent de l'environnement. Des levures cultivées en milieu glucidique possèdent des petits peroxysomes. Par contre, les mêmes levures, cultivées dans un milieu contenant du méthanol, possèdent de volumineux peroxysomes qui oxydent cet alcool. Il en est de même dans une culture contenant des acides gras : elles développent de gros peroxysomes qui dégradent les acides gras en acétyl-CoA.

Chez les Métaphytes, au cours de la photorespiration, dans le cas d'une faible concentration en CO_2 , la *ribulose diphosphate carboxylase* ajoute de l'oxygène au ribulose. Ce type d'oxydation aboutit à la synthèse de deux molécules, le 3-phosphoglycérate et le phosphoglycolate. Cette dernière molécule se transforme en glycolate qui gagne les peroxysomes. Le glycolate donne alors une molécule de 3-phosphoglycérate et une molécule de CO_2 .

Fonctions des peroxysomes

La β -oxydation

Les acides gras typiques sont formés par une chaîne aliphatique constituée par les carbones, les hydrogènes et un groupement terminal acide COOH . Les liaisons sont désignées, à partir de la fonction COOH , par les lettres grecques α , β , etc. Les carbones 1 et 2 sont unis par la liaison α , les carbones 2 et 4 par la liaison β . Dans la β -oxydation, c'est la liaison en β qui est rompue.



Les acides gras varient en fonction du nombre de carbones, qui peut être compris entre quelques-uns et 36. Ces acides gras sont présents dans tous les nutriments

(l'huile et le beurre ne sont formés que par des acides gras). Les acides gras sont stockés dans les adipocytes et ultérieurement dégradés pour produire de l'énergie.

La voie normale de l'oxydation des acides gras insaturés est la β -oxydation. Cette dégradation intéresse de nombreux substrats : les acides gras à très longues chaînes (VLCFA : very long chain fatty acid) à la fois saturés et insaturés, quelques acides gras à longues chaînes, des acides dicarboxyliques à longues chaînes, la chaîne latérale des eicosanoïdes (molécules dérivées de l'acide arachidonique importantes dans la transmission des signaux). Cette famille des eicosanoïdes comprend des prostaglandines (impliquées dans la régulation de l'AMP cyclique), des thromboxanes (qui interviennent dans la coagulation sanguine) et des leucotriènes (impliqués dans la contraction musculaire). La β -oxydation joue aussi un rôle dans la *synthèse des acides biliaires*. Cette synthèse commence, dans le cytosol, par une dégradation initiale de l'acide hydroxycoprostanolique, un dérivé du cholestérol : le cholestérol néoformé est délivré aux peroxysomes par les protéines transporteuses de stérols. Il est alors converti en cholyl-CoA et en glycocholate qui est le principal sel biliaire.

Deux organites interviennent dans la β -oxydation des acides gras : il s'agit des mitochondries et des peroxysomes. Les mitochondries sont capables de dégrader les acides gras plus courts que ceux qui sont dégradés par les peroxysomes. Les mitochondries peuvent dégrader des acides gras dont les dimensions sont inférieures à 20 atomes de carbone tandis que les peroxysomes agissent sur les acides gras qui sont beaucoup plus longs.

La β -oxydation fait intervenir des enzymes; certaines sont localisées dans la membrane du peroxysome :

- l'*acyl-coenzyme A synthase* qui ajoute un acyle à un acide gras pour former un acyl-coenzyme A;

- la *carnityl-transférase* qui permet aux acyl-coenzymes A de traverser la membrane peroxysomale.

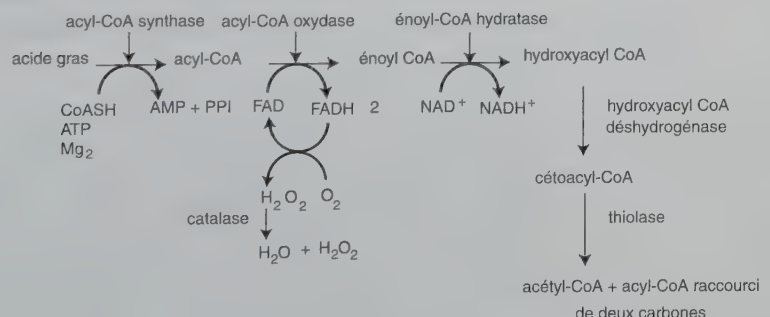
D'autres sont localisées dans la matrice :

- l'*acyl-coenzyme A oxydase*,

- l'*énoyl-coenzyme A hydratase*,

- l'*énoyl-coenzyme A déshydrogénase*, une enzyme bidirectionnelle qui catalyse la déshydratation des acyl-coenzyme A à très longue chaîne,

- la *thiolase*.



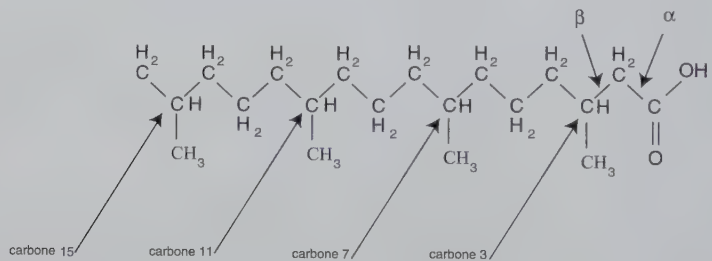
Les β -oxydations mitochondriale et peroxysomale se déroulent de manière légèrement différente. Les mitochondries utilisent une acyl-coenzyme A déshydrogénase pour convertir l'acyl-coenzyme A en énoyl-coenzyme A. Cette

enzyme transfère des électrons à FAD. Par contre, les peroxysomes utilisent une acyl-coenzyme A oxydase qui, finalement, transfère des électrons à l'oxygène, produisant ainsi du peroxyde d'hydrogène qui est transformé en eau et en oxygène par la catalase.

Il existe des acyl-coenzymes A *polyinsaturés ou insaturés au niveau des liaisons impaires*. Ces molécules ne peuvent pas être dégradées par β -oxydation. Le peroxysome contient, dans sa matrice, un certain nombre d'enzymes qui permettent de résoudre ce problème : il convertit ces molécules en un substrat adapté ou approprié qui peut alors s'intégrer à la voie normale. Par exemple, un acide gras, le $\Delta 3,5$ -diénoyl-CoA ne peut entrer dans l'hélice de Linnen parce qu'il possède une double liaison en position 3. Une enzyme, la $\Delta 3,5$ - $\Delta 2,4$ -diénoyl-CoA isomérase, convertit le $\Delta 3,5$ -diénoyl-CoA en 2,4-diénoyl-CoA. Cette enzyme existe aussi bien dans la matrice mitochondriale que dans la matrice peroxysomale. Le 2,4-diénoyl-CoA est converti en 3-énoyl-CoA par la $\Delta 2,4$ -diénoyl-CoA réductase (une enzyme qui existe dans la matrice mitochondriale et peroxysomale). Enfin le 3-énoyl-CoA est transformé par l'énoyl-CoA-isomérase en $\Delta 2$ -énoyl-Co une molécule qui est un intermédiaire de l'hélice de Linnen.

L' α -oxydation

L'acide phytanique est un acide gras ramifié dérivé du phytol. Il se forme par oxydation du phytol dans les tissus animaux et humains. Le sérum humain en contient 0,4 à 2 mg/l. C'est un acide tétraméthyl-3, 7, 11, 15 hénadécanoïque (hénadécanoïque signifie qu'il possède 16 atomes de carbone et tétraméthyl-3, 7, 11, 15 signifie que le groupe méthyle est fixé sur les carbones 3, 7, 11, et 15).



Cette molécule ne peut être dégradée par la β -oxydation parce que la fonction méthyle fixée sur le 3^e carbone bloque la déshydrogénation du groupe hydroxyle par l'hydroxyl-CoA.

La solution de ce problème est l' α -oxydation.

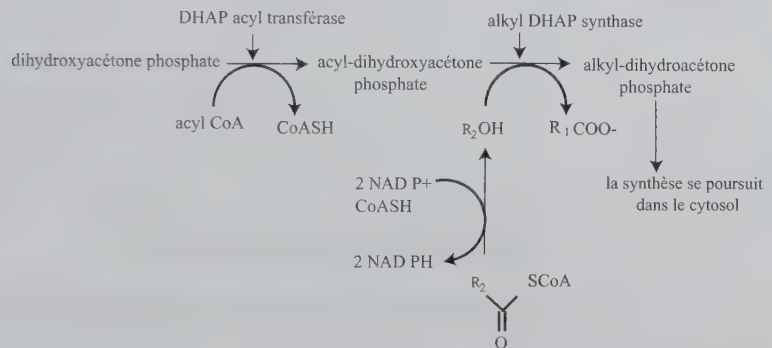
Une acyl-CoA synthétase contenue dans la matrice des peroxysomes lie CoA à l'acide phytanique. Une phytanoyl-CoA hydroxylase (PAHX) convertit le phytanoyl-CoA en α -hydroxylphytanoyl-CoA. Une mutation du gène codant PAHX est responsable de la maladie de Refsum (voir « Maladies peroxysomales »). Une série d'actions enzymatiques microsomaux aboutit à la formation de l'acide pristanique qui entre dans la voie peroxysomale de la β -oxydation.

Synthèse des glycérolipides

Les peroxysomes interviennent dans la synthèse des glycérolipides qui comprennent les plasmalogènes : les plasmalogènes sont des phospholipides

localisés principalement dans le cœur et dans le cerveau. Ils comprennent le phosphatidyléthanolamine, phosphatidylcholine. Les plasmalogènes sont doués de propriétés étonnantes : par exemple, le facteur d'activation des plaquettes induit l'agrégation des plaquettes et la dilatation des vaisseaux sanguins. Les plasmalogènes sont essentiellement des composants des membranes cellulaires; ils constituent presque la moitié des phospholipides cardiaques. Ils sont encore beaucoup plus abondants dans le tissu nerveux où ils constituent à peu près 80 à 90 % de la classe des phospholipides éthanolamines de la myéline. Cependant, la signification de ces phospholipides n'est pas connue.

Les deux premières étapes de la synthèse des plasmalogènes s'effectuent dans les peroxysomes. En effet, ces organites contiennent la dihydroxyacétonephosphate-acyltransférase (DHAP-AT) et l'alkyl-DHAP-synthase (DHAP : dihydroxyacétone phosphate). Ces deux enzymes transforment, dans le peroxysome, le dihydroxyacétone phosphate en 1-alkyl-dihydroxyacétone phosphate.



L'acyl/alkyl-dihydroacétone phosphate réductase, qui agit sur l'alkyl-dihydroacétone, se trouve à la fois dans le peroxysome et dans le RE. La fraction peroxysomale est liée à la face cytosolique de la membrane du peroxysome. La fin de la synthèse des plasmalogènes se déroule donc dans le cytosol.

Métabolisme des purines

■ La xanthine oxydase ou xanthine déshydrogénase

Dans l'espèce humaine, le catabolisme des acides nucléiques aboutit à la formation de bases puriques et pyrimidiques. Ces bases sont soit réutilisées pour la biosynthèse d'acides nucléiques, soit dégradées. Il en est de même pour AMP et GMP. Ces bases sont métabolisées dans le cytoplasme et se transforment en xanthine. La xanthine pénètre dans le peroxysome. Chez les Primates, les Oiseaux, les Reptiles, les Insectes, la xanthine est dégradée en acide urique tandis que chez d'autres vertébrés, elle est transformée en acide urique. Chez les Invertébrés marins, la xanthine est dégradée en ammoniac. La xanthine oxydase transforme la xanthine en acide urique. Elle agit comme une déshydrogénase qui utilise NAD^+ comme accepteur d'électrons, mais elle peut être convertie en oxydase qui utilise l'oxygène moléculaire comme accepteur d'électrons. Sa présence a été démontrée par immunocytochimie dans les peroxysomes de Rat.

■ L'urate oxydase

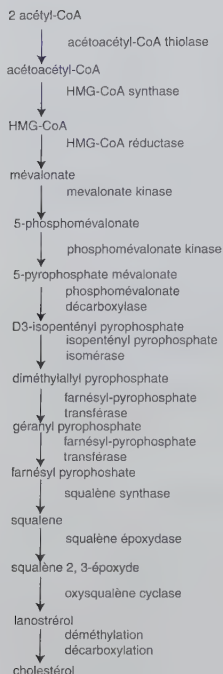
L'urate oxydase est localisée exclusivement dans les peroxysomes (à noter que les primates, les oiseaux, les reptiles, les insectes n'en possèdent pas). Cette enzyme transforme l'acide urique en allantoiné.

■ Pathologie du métabolisme purique

Une déficience en xanthine oxydase provoque une xanthinurie de type 1, maladie décrite par Dent et Philpot. Cette affection se caractérise par une augmentation quantitative de la xanthine et une baisse de l'acide urique : elle provoque la formation de calculs rénaux contenant de la xanthine et des dépôts cristallins dans le rein et dans le muscle squelettique.

Biosynthèse du cholestérol

La biosynthèse du cholestérol se déroule dans les peroxysomes des cellules eucaryotes. Le cholestérol est nécessaire à la synthèse des membranes : c'est aussi un précurseur des hormones stéroïdes et de la vitamine D. Des recherches récentes ont montré que la majorité, sinon la quasi-totalité, des enzymes nécessaires à la synthèse du cholestérol existe dans le peroxysome. La synthèse débute par la combinaison de deux molécules d'acétyl-CoA et s'achève dans le peroxysome à la formation du lanostérol. À partir de cette molécule, elle se poursuit dans le cytosol (*cf. ci-contre*).



Métabolisme des acides aminés

Les peroxysomes interviennent dans le métabolisme de la lysine, de la sérine et de l'alanine.

■ Métabolisme de la lysine

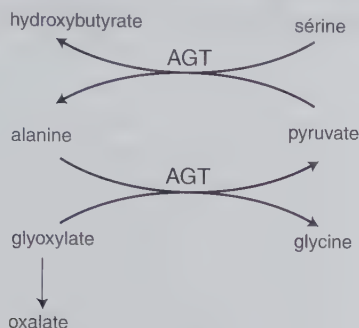
Dans l'espèce humaine, il existe trois voies du métabolisme de la lysine, dont la plus importante est la suivante : la lysine se forme à partir de l'alpha aminoadipate ($\text{COOH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$) grâce à l'action d'une enzyme, l'acide pipécolique oxydase sur l'acide pipécolique (un agoniste du récepteur GABA). Cette voie est très active dans le cerveau. Cette enzyme est contenue dans les lysosomes.

acide pipécolique $\rightarrow$ α -aminoadipate $\rightarrow$ lysine

acide pipécolique oxydase

■ Métabolisme de l'alanine

L'alanine glyoxylate aminotransférase (parfois appelée sérine pyruvate aminotransférase) est une enzyme importante dans la voie de détoxification du glyoxylate. Comme toutes les aminotransférases, elle requiert le pyridoxal phosphate comme cofacteur. Chez l'Homme, l'alanine glyoxylate aminotransférase est une enzyme entièrement peroxysomale (chez le Rat, elle existe également dans la mitochondrie). Elle catalyse la conversion de la sérine en hydroxypyruvate. Une carence en cette enzyme empêche la conversion du glyoxylate en glycine et provoque une *augmentation des oxalates*. Cette maladie autosomale récessive est connue sous le nom d'hyperoxalurie de type 1.



Métabolisme de la tri-iodothyronine

La tri-iodothyronine ou T3 est une hormone thyroïdienne. Elle est transformée, dans les reins, par une enzyme lysosomale, la L-amino-oxydase peroxydasique, en acide tri-iodopyruvique. L'acide tri-iodopyruvique est ensuite converti en acide tri-iodoacétique qui est éliminé : il possède encore une activité hormonale.

Dégradation des alcools

Dans le foie, les peroxysomes dégradent les alcools. Le cytochrome P450 contenu dans la membrane peroxysomale transporte l'hydrogène provenant de cette oxydation. Les peroxysomes jouent ainsi un rôle dans la détoxification.

Transformation des acides gras en glucose

L'activité peroxydasique et catalasique couplée permet d'oxyder le NADH_2 en NAD, grâce à un transfert d'électrons. En maintenant un certain taux de NAD, qui contrôle la dégradation des glucides en pyruvate, les peroxysomes règlent le catabolisme du glucose.

Les peroxysomes convertissent les graisses en glucides au cours du cycle glyoxylique, une variante du cycle de Krebs. Au cours du cycle glyoxylique, les acides gras forment de l'acétyl-coenzyme A, de l'acide succinique. Ce dernier pénètre, en traversant la membrane, dans les peroxysomes pour être converti en glucose. Les peroxysomes, où se déroule un tel cycle, portent le nom de *glyoxysomes*. Mais, chez les animaux, seules les formes primitives possèdent le cycle du glyoxylate.

« Nous pouvons fabriquer des graisses à partir des hydrates de carbone — un privilège auquel beaucoup d'entre nous seraient heureux de renoncer — mais nous sommes incapables de renverser le processus, car nos peroxysomes ne sont pas des glyoxysomes. » (*Une visite guidée de la cellule*, De Duve, Belin).

La β -oxydation des acides gras se déroule dans les mitochondries et dans les peroxysomes. Si elle aboutit au même résultat, la libération de radicaux acétyl, elle diffère, chez les peroxysomes, par l'intervention d'une enzyme bidirectionnelle qui catalyse les réactions 2 et 3. Les peroxysomes sont aussi responsables du catabolisme oxydatif des dérivés du cholestérol.

Voies de biosynthèse impliquant les peroxysomes

Certes, les peroxysomes ne contiennent pas les enzymes clés qui catalysent la biosynthèse des triacylglycérides et des phosphoglycérides, mais ils contiennent celles qui interviennent dans le début de la biosynthèse des éthers lipidiques et qui aboutissent à la synthèse des glycérides.

Ils sont le siège ou le départ de plusieurs autres voies de biosynthèse :

- celle du dolichol,
- celle du cholestérol,
- les deux premières étapes de la synthèse des alkénylphosphatides ou plasmalogènes, comme le PAF-acéther (platelet-activating factor; facteur activateur des plaquettes), un alkyl-phosphatide qui est un médiateur lipidique capable d'induire l'agrégation des plaquettes et de libérer le contenu de leurs granules.

La minichaîne respiratoire

Les oxydations qui se déroulent dans les peroxysomes et dans les mitochondries donnent des résultats très différents. Cependant, ces oxydations atteignent le même but, c'est-à-dire l'oxydation d'une très grande variété de substances avec réduction d'oxygène en eau. Les mitochondries récupèrent une part importante de l'énergie libre sous forme d'ATP utilisable. Par contre, dans les peroxysomes, l'oxydation des substrats ne provoque pas de phosphorylation oxydative, mais une très légère augmentation de chaleur. Il s'agit, somme toute, d'une sorte de minichaîne respiratoire très simple, qui s'est probablement formée au tout début de l'apparition de la cellule sur la Terre. Cette minichaîne est loin du rendement de la chaîne respiratoire de la mitochondrie.

Les réactions d'oxydation ne fournissent donc pas d'énergie, mais libèrent de la chaleur.

Les maladies peroxysomales

Chez l'Homme, 17 maladies génétiques peroxysomales ont été isolées (15 se traduisent par une atteinte du système nerveux). Ces maladies génétiques sont des maladies létales récessives par mutation des ou d'un gène codant les enzymes peroxysomales.

Classification, description

Les maladies peroxysomales sont classées en trois groupes, A, B et C. Les maladies du groupe A et B sont des maladies infantiles, généralement létales au cours de la première décennie. Comme ces désordres de la biogenèse des peroxysomes sont génétiquement hétérogènes et atteignent moins d'un nouveau-né sur 50 000, une stratégie de prévention semble actuellement impraticable.

■ Maladies du groupe A

Les maladies du groupe A sont la conséquence de l'absence de nombreuses enzymes peroxysomales. Elles regroupent la maladie de Zellweger, de l'adrénoleucodystro-

phie néo-natale (NALD : neonatale adrenoleucodystrophy), la maladie de Refsum infantile (IRD : infantile Refsum disease) et l'acidémie hyperpipécolique.

Ce déficit enzymatique provoque une accumulation des acides phytanique (l'acide phytanique est un métabolite intermédiaire du phytol, d'origine alimentaire), pristanique et pipécolique, une accumulation des acides gras à très longue chaîne et une réduction drastique de la synthèse des acides biliaires, des plasmalogènes qui sont des éthers lipidiques ayant une fonction antioxydante.

Le syndrome cérébro-hépto-rénal de Zellweger

Ce syndrome est dominé par une dysmorphie crânio-faciale, une cataracte bilatérale, une rétinopathie, une atteinte hépatique, des petits kystes rénaux et une sévère dysplasie cérébrale avec hypomyélinisation. Les patients ont de profondes anomalies du système nerveux à la naissance et meurent au cours de la première année de leur existence.

L'adrénoleucodystrophie néo-natale

C'est une maladie génétique liée à l'X. Un déficit en acyl-CoA oxydase en est la cause. Dans sa forme la plus sévère, NALD se traduit par une atteinte du SNC (démélinisation rapide et mort en quelques années). L'insuffisance surrénalienne peut être le seul signe clinique. Cette maladie se caractérise par une accumulation des acides gras à très longue chaîne (VLCFA), provoquée par l'absence de β -oxydation dans les peroxysomes.

■ Maladies du groupe B

Le groupe B n'est représenté que par la chondrodysplasie rhizomélrique ponctuée (RCDP : rhizomelic chondrodysplasia punctata). Cette maladie génétique peroxysomale se caractérise par un trouble de la croissance de type rhizomélrique (retard de croissance des régions proximales des membres), une cataracte, des calcifications épiphysaires et une ichtyose.

À l'échelon cellulaire, la DHAP-AT et l'alkyl-dihydroxy-acétone-phosphate synthase (ou alkyl-DHAP synthase) sont absentes, ainsi que la phytanique acide oxydase.

Sur le plan biologique, on observe, dans le sérum de ces malades, une accumulation d'acide phytanique mais pas d'acides gras à très longue chaîne.

■ Maladies du groupe C

Le groupe C regroupe l'adrénoleucodystrophie et des maladies dépendant d'un déficit d'une seule enzyme peroxysomale.

L'adrénoleucodystrophie (ALD)

L'adrénoleucodystrophie est une maladie génétique peroxysomale liée au chromosome X. L'ALD est caractérisée biochimiquement par une accumulation des acides gras à très longue chaîne dans la substance blanche du système nerveux, les glandes surrénales, les fibroblastes et le plasma sanguin. Cette affection est liée à une absence de la VLCFA-CoA synthétase.

C'est la plus fréquente des maladies peroxysomales, qui atteint 1 Homme sur 15 000 et qui présente des signes cliniques différents dans la même fratrie. 45 % des sujets atteints développent une forme cérébrale avec des symptômes neurologiques provenant d'une démyélinisation des neurones cérébraux, qui débute entre les 5^e et 12^e année. La maladie évolue vers un état végétatif ou la mort en 2 à 5 ans.

Par contre, 35 % des sujets ont une atteinte de la moelle épinière et des nerfs périphériques. Cette adrénomyéloneuropathie (AMN) évolue plus lentement sur une période de 5 à 10 ans. Une insuffisance surrénalienne est fréquemment associée à l'AMN ou à la forme cérébrale de ALD.

La maladie de Refsum (chez l'adulte)

La maladie de Refsum (ARD : adult Refsum disease) est provoquée par un déficit en DHAP-AT. Elle se caractérise par des troubles nerveux centraux (ataxie cérébelleuse) et périphériques (surdité, altération pigmentaire de la rétine). Biologiquement, il existe une accumulation de l'acide phytanique dans les lipides du sang, dans le foie, les reins et les muscles. L'acide phytanique est un métabolite intermédiaire formé à partir du phytol présent dans les aliments végétaux.

L'hyperoxalurie

L'hyperoxalurie primaire de type 1 est due à une mutation d'un gène de l'AGT peroxy-somale (alanine-glyoxylate-aminotransférase) qui démasque une séquence signal mitochondriale : l'aminotransférase est déroutée vers les mitochondries. Cette déficience permet au glyoxylate d'être oxydé en oxalate. L'oxalate de calcium, très insoluble, excrété par les reins, provoque soit une lithiase rénale, soit une néphrocalcinose.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

ABC	ATP-Binding Cassette; boîte de liaison à l'ATP
AGT	Alanine-Glyoxylate-aminoTransférase
ALD	AdrenoLeucoDystrophy; adrénoleucodystrophie
AMN	Adr�noMy�loNeuropathie
AMP	Adénosine 3'-5' MonoPhosphate
ARD	Adult Refsum Disease; maladie de Refsum chez l'adulte
ARF	ADN Ribosylation Factor; facteur de ribosylation de l'ADN
ATP	Adénosine TriPhosphate
DHAP	DiHydroxyAcétone-Phosphate
DHAP-AT	DiHydroxyAcétone-Phosphate-AcylTransférase
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
IMP	Integral Membrane Protein; protéine intrinsèque membranaire
IRD	Infantile Refsum Disease; maladie de Refsum infantile
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
NALD	Neonatale AdrenoLeucoDystrophy; adrénoleucodystrophie néonatale
PAF	Peroxisome Assembly Factor; facteur d'assemblage peroxysomal
PAF	Platelet-Activating Factor; facteur activateur des plaquettes
PAP	Peroxisome Assembly Protein; protéine d'assemblage peroxysomal
PAS	Peroxisomal ASsembly; assemblage peroxysomal
PAY	Peroxisome Assembly in <i>Yarrowia lipolytica</i> ; assemblage peroxy-somal de <i>Yarrowia lipolytica</i>
PEX	PEroXine

PMP	Peroxisomal Membrane Protein; protéine de la membrane peroxysomale
PP	Peroxisomal Proliferator; proliférateur des peroxysomes (substance provoquant la multiplication des peroxysomes)
PPAR	Peroxisomal Proliferators-Associated Receptor; récepteur associé aux proliférateurs des peroxysomes
PPRE	Peroxisome Proliferators-Response Element; élément de réponse aux proliférateurs des peroxysomes
PTS	Peroxisomal Targeting Signal; signal d'adressage peroxysomal
RCDP	Rhizomelic ChondroDysplasia Punctata; chondrodysplasie rhyzomélique ponctuée
RE	Réticulum Endoplasmique
REL	Réticulum Endoplasmique Lisse
SKL	Sérine-Lysine-Leucine (code international à une lettre)
SNC	Système Nerveux Central
TRIAC	TRIiodothyroACetic acid; acide triiodothyroacétique
VLCFA	Very Long Chain Fatty Acid; acide gras à très longue chaîne

■ 1. Les peroxysomes interviennent :

- ☐ 1. grâce à leur génome, dans la synthèse de certains de leurs constituants.
- ☐ 2. dans la β -oxydation.
- ☐ 3. dans la conversion, dans les cellules surrénaliennes, du cholestérol en hormones stéroïdes.
- ☐ 4. dans la conversion, dans les adipocytes, de quelques acides gras en glucose.
- ☐ 5. dans la synthèse des plasmalogènes.

■ 2. Chez l'Homme, les peroxysomes :

- ☐ 1. sont des organites ovoïdes, isolés les uns des autres.
- ☐ 2. possèdent un diamètre oscillant entre 0,15 et 1,7 μm .
- ☐ 3. contiennent une matrice homogène.
- ☐ 4. contiennent parfois un nucléoïde.
- ☐ 5. contiennent rarement une plaque marginale.

■ 3. La membrane des peroxysomes contient :

- ☐ 1. des molécules de cholestérol, en plus grand nombre que celle du RE.
- ☐ 2. des transporteurs d'électrons.
- ☐ 3. des enzymes qui interviennent dans le métabolisme des lipides.
- ☐ 4. des oxydoréductases.
- ☐ 5. des peroxines : les peroxines n'existent que dans les peroxysomes.

■ 4. Les peroxines membranaires impliquées dans les mécanismes de translocation :

- ☐ 1. font partie de la superfamille ABC des transporteurs.
- ☐ 2. ont une activité GTPasique.

- ☐ 3. sont dépendantes de GTP.

- ☐ 4. possèdent un ou deux domaines de fixation de GTP exposé dans le cytosol peroxysomal.
- ☐ 5. sont ATPasiques.

■ 5. À propos de la β -oxydation des acides gras qui se déroule dans les peroxysomes :

- ☐ 1. elle nécessite l'activation des acides gras.
- ☐ 2. les acides gras, dans un premier temps, forment des acyl-AMPs.
- ☐ 3. les acyl-AMPs réagissent avec les coenzymes A-SH pour former des acyl-coenzymes A.
- ☐ 4. la formation des acyl-coenzymes A dépend des acyl-CoA synthétases.
- ☐ 5. les cellules des Mammifères contiennent peu de variétés d'acyl-CoA synthétases.

■ 6. La peroxydase :

- ☐ 1. est toujours présente dans la cavité peroxysomale.
- ☐ 2. est impliquée dans des réactions qui font nécessairement intervenir H_2O_2 .
- ☐ 3. peut se dispenser, pour fonctionner, de la présence d' H_2O_2 .
- ☐ 4. peut avoir une action catalasique.
- ☐ 5. peut dégrader l'acide urique dans d'autres espèces que l'espèce humaine.

■ 7. Les peroxysomes se forment et se multiplient :

- ☐ 1. par bourgeonnement du REL.
- ☐ 2. par division d'un peroxysome.
- ☐ 3. par bourgeonnement d'un peroxysome.
- ☐ 4. grâce à l'action de gènes *PEX* qui sont sous le contrôle des proliférateurs des peroxysomes.
- ☐ 5. grâce à l'inhibition d'un répresseur des gènes *PEX*.

■ 8. Les proliférateurs des peroxysomes (PPs) :

- ☐ 1. reconnaissent, sur l'ADN, de courtes séquences PPRE situées en aval des gènes.
- ☐ 2. peuvent être activés par une accumulation de lipides saturés.
- ☐ 3. déclenchent une prolifération qui s'accompagne toujours et exclusivement d'une prolifération cellulaire normale.
- ☐ 4. sont principalement des hormones de croissance.
- ☐ 5. appartiennent à un groupe structurellement divers de constituants.

■ 9. Les protéines destinées aux peroxysomes :

- ☐ 1. sont toujours complètement repliées par une chaperonine.
- ☐ 2. sont partiellement dépliées.
- ☐ 3. sont porteuses d'un signal PTS1 sérine-lysine-leucine.
- ☐ 4. pénètrent dans le peroxysome par l'intermédiaire d'une invagination de sa membrane.
- ☐ 5. pénètrent dans le peroxysome par l'intermédiaire d'un pore.

■ 10. Les protéines porteuses des peroxines destinées aux peroxysomes :

- ☐ 1. ne sont pas lysées immédiatement après avoir délivré leur molécule au peroxysome.
- ☐ 2. assurent la navette entre le cytosol et les peroxysomes.
- ☐ 3. contiennent une séquence d'adressage aux peroxysomes.
- ☐ 4. assurent le recyclage des séquences PTS.
- ☐ 5. délivrent directement dans la matrice les peroxines destinées aux peroxysomes.

■ 11. Les peroxysomes sont le siège :

- ☐ 1. de la biosynthèse du dolichol.
- ☐ 2. de la biosynthèse du cholestérol.
- ☐ 3. de la première étape de la synthèse des plasmalogènes.
- ☐ 4. de la polymérisation de la catalase.
- ☐ 5. de la polymérisation de l'alcool oxydase.

■ 12. La chaperonine Hsp70 :

- ☐ 1. est localisée dans la membrane des peroxysomes.
- ☐ 2. participe au repliement des protéines à importer.
- ☐ 3. est insensible à l'action des protéases (à cause de sa localisation intramembranaire).
- ☐ 4. stabilise la région qui contient les séquences d'adressage PTS.
- ☐ 5. permettrait le recyclage des récepteurs.

■ 13. Les lipides de la membrane peroxysomale :

- ☐ 1. proviennent du RE.
- ☐ 2. sont transportés par des protéines de transfert non spécifiques.
- ☐ 3. sont transportés par des protéines de transfert spécifiques.
- ☐ 4. sont des phospholipides.
- ☐ 5. proviennent des vacuoles lipidiques.

■ 14. À propos des peroxysomes :

- ☐ 1. le contenu enzymatique des peroxysomes dépend des fonctions des cellules auxquelles ils appartiennent.
- ☐ 2. la concentration en acide gras du milieu de culture agit sur la taille des peroxysomes.
- ☐ 3. les levures cultivées en milieu glucidique possèdent des petits peroxysomes.
- ☐ 4. les levures cultivées en milieu glucidique possèdent de volumineux peroxysomes.
- ☐ 5. les levures cultivées sur milieu contenant du méthanol possèdent de volumineux peroxysomes.

■ 15. L'uricase :

- ☐ 1. est une enzyme qui intervient au cours de la dégradation des purines.
- ☐ 2. est une molécule commune à l'ensemble des peroxysomes des Vertébrés supérieurs.
- ☐ 3. transforme l'acide urique en allantoin.
- ☐ 4. dégrade les purines en acide urique qui est éliminé par le rein.
- ☐ 5. provoque, chez l'Homme, la goutte lorsque son taux sanguin baisse.

■ 16. Les peroxysomes :

- ☐ 1. contrôlent la dégradation du glucose.
- ☐ 2. possèdent une activité catabolique couplée à l'oxydation de NADH_2 .
- ☐ 3. sont le siège d'un transport d'électrons nécessaire à l'oxydation du glucose en pyruvate.
- ☐ 4. assurent la dégradation du glucose en pyruvate.
- ☐ 5. règlent le catabolisme du glucose en maintenant constant le taux de NAD.

■ 17. À propos du cycle glyoxylique :

- ☐ 1. il se déroule comme le cycle de Krebs dans les mitochondries.
- ☐ 2. il aboutit à la formation, à partir d'acides gras, d'acide succinique.
- ☐ 3. l'acide succinique formé pénètre dans les mitochondries.
- ☐ 4. le cycle glyoxylique n'existe que chez les Végétaux.
- ☐ 5. l'acide glyoxylique convertit les glucides en lipides.

■ 18. La β -oxydation dans les peroxysomes :

- ☐ 1. concerne 30 % des acides gras.

- ☐ 2. concerne les acides gras à longue chaîne aliphatique.
- ☐ 3. réduit la chaîne aliphatique à une longueur de 8 à 10 acides aminés.
- ☐ 4. produit des acides aminés qui sont acheminés aux mitochondries par des transférases.
- ☐ 5. aboutit à la formation de radicaux acétyl.

■ 19. Les peroxysomes :

- ☐ 1. dégradent les dérivés du cholestérol.
- ☐ 2. interviennent dans la dégradation de T3 qu'ils convertissent en acide triiodothyroacétique.
- ☐ 3. sont le siège de la synthèse du cholestérol.
- ☐ 4. sont le siège de la synthèse du dolichol.
- ☐ 5. dégradent les plasmalogènes.

■ 20. Les peroxysomes :

- ☐ 1. sont le siège, comme les mitochondries, de réactions d'oxydation.
- ☐ 2. contiennent une minichaîne respiratoire.
- ☐ 3. transforment l'énergie en ATP.
- ☐ 4. transforment l'énergie en chaleur.
- ☐ 5. produisent de l'eau par réduction de l'oxygène.

1.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	V

1. Les peroxysomes ne possèdent pas de génome.

3. Dans le foie, les lysosomes convertissent le cholestérol en sels biliaires : ce sont les mitochondries qui participent à la conversion du cholestérol en hormones stéroïdes.

4. La conversion des acides gras en glucose est le résultat de l'action des peroxysomes des végétaux (glyoxysomes).

2.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Les peroxysomes se disposent en un réseau canaliculaire.

4. Ils ne contiennent jamais de nucléoïde chez l'Homme.

3.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. La membrane des peroxysomes renferme moins de molécules de cholestérol : elle est plus fluide que celle du RE.

5. Le terme peroxine désigne les protéines peroxysomales membranaires, les protéines importées dans la matrice peroxysomale, les protéines porteuses de protéines adressées aux peroxysomes, les protéines d'arrimage, les protéines contrôlant la prolifération des peroxysomes et la translocation de molécules.

4.

1	2	3	4	5
V	F	F	F	V

2. Les peroxines ont une activité ATPasique.

3. Elles sont ATP-dépendantes.

4. Elles possèdent un ou deux domaines de fixation de l'ATP exposé dans le cytosol peroxysomal.

5.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Les cellules des Mammifères contiennent une très grande variété d'acyl-CoA synthétases.

6.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. Les mécanismes peroxydasique ou catalasique nécessitent toujours la présence de peroxyde d'hydrogène.

5. C'est l'uricase qui dégrade l'acide urique : cette enzyme n'existe pas chez l'Homme.

7.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	F

1. Les peroxysomes ne se forment jamais à partir du REL.

5. Les peroxysomes se multiplient grâce à l'activation de récepteurs nucléaires (PPAR) qui reconnaissent sur les promoteurs des gènes PEX de courtes séquences activatrices appelées PPPE.

8.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	V

1. Les récepteurs nucléaires des PP reconnaissent, sur l'ADN, de courtes séquences PPPE situées en amont des gènes.

2. Le récepteur nucléaire (PPAR) peut être activé par une accumulation physiologique de lipides polyinsaturés.

3. La prolifération des peroxysomes s'accompagne d'une prolifération cellulaire normale ou anarchique.

4. Les PP regroupent des substances extrêmement diverses.

9.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. Les protéines transportées aux peroxysomes sont partiellement dépliées afin que les signaux PTS1 et 2 ne soient pas masqués.

10.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	F

3. Elles ne contiennent pas de séquence d'adressage aux peroxysomes : c'est la protéine transportée qui contient les séquences PTS.

4. Le recyclage des séquences PTS est assuré par les protéines associées à la membrane peroxysomale.

5. Les protéines porteuses délivrent les molécules transportées à des protéines membranaires d'arrimage.

11.

1	2	3	4	5
V	V	F	F	V

3. Les peroxysomes sont le point de départ des deux premières étapes de la synthèse des plasmalogènes, comme le PAF-acéther (platelet-activating factor; facteur activateur des plaquettes), un médiateur lipidique capable d'induire l'agrégation des plaquettes et de libérer le contenu de leurs granules.

4. La catalase peut entrer dans les peroxysomes sous sa forme tétramérique.

12.

1	2	3	4	5
V	F	F	V	V

2. Hsp70 stabilise vraisemblablement la région partiellement dépliée qui contient la séquence PTS.

3. La chaperonine reste sensible à l'action de la protéase sur des peroxysomes dont la membrane est intacte, ce qui indique qu'elle ne pénètre pas dans la lumière.

13.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. 5. Les lipides de la membrane peroxysomale sont des phospholipides qui proviennent exclusivement de la membrane du RE. Ils sont transportés par des protéines de transfert qui reconnaissent chacune un type particulier de phospholipides.

14.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Des levures cultivées en milieu glucidique possèdent des petits peroxysomes.

15.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	F

2. L'uricase n'existe pas dans les peroxysomes humains.

4. 5. L'uricase dégrade l'acide urique en allantoiné.

16.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

17.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	F

4. Les formes animales primitives possèdent un cycle glyoxylique.

5. L'acide glyoxylique convertit les lipides en glucides.

18.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. La β -oxydation concerne seulement 10 % des acides gras.

4. La β -oxydation produit des acides gras et uniquement des acides gras possédant une chaîne aliphatique de 8 à 10 atomes de carbone.

19.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	F

5. Les deux premières étapes de la synthèse des plasmalogènes se déroulent dans la matrice des peroxysomes.

20.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. Les peroxysomes ne peuvent produire de l'ATP : ils ne contiennent pas de H^+ -ATPase.

ENTRAÎNEMENT

QROC

Questions

- 1. Citez deux propriétés communes aux mitochondries et aux peroxysomes.
- 2. Comment peut-on identifier un peroxysome qui ne possède ni plaque marginale ni nucléoïde ?
- 3. Quelle est la disposition des peroxysomes dans la cellule ?
- 4. Citez deux formations inconstantes des peroxysomes.
- 5. Quelle est la particularité physique de la membrane peroxysomale et pourquoi ?
- 6. Dans les peroxysomes, où sont localisés les cytochromes P450 et b_5 ?
- 7. Quelle est la localisation des peroxines ?
- 8. Énumérez la localisation et les fonctions des peroxines.
- 9. Quels sont les caractères biochimiques des peroxines ?
- 10. Citez une protéine utilisée comme marqueur des peroxysomes.
- 11. Quelle propriété enzymatique possèdent les protéines PEX qui interviennent dans la translocation des protéines ?
- 12. À quelle condition les acides gras subissent-ils une β -oxydation dans les peroxysomes ?
- 13. Où sont localisées les enzymes nécessaires à l'activation des acides gras ?
- 14. Citez les principales oxydo-réductases contenues dans la matrice des peroxysomes.
- 15. Quel est le mode de biogenèse des peroxysomes ?
- 16. Citez des inducteurs de la prolifération peroxysomale.
- 17. Quel est le résultat de l'action des PPs ?
- 18. Quel est le mécanisme d'action des PPs ?
- 19. À l'exclusion des PPs, qu'est-ce qui peut activer le récepteur nucléaire PEX11 ?
- 20. Quelle est l'origine des peroxines ?

- **21.** Comment les protéines porteuses des peroxines destinées aux peroxysomes reconnaissent-elles l'adressage vers les peroxysomes ?
- **22.** Pourquoi les PEX sont-elles des protéines non glycosylées ?
- **23.** Quel rôle jouent les peroxysomes des cellules hépatiques ?
- **24.** Citez une molécule dont la polymérisation se déroule dans les peroxysomes.
- **25.** Quelle est la localisation de la protéine Hsp70 dans les peroxysomes ?
- **26.** Quelle est la fonction de la Hsp70 de la membrane peroxysomale ?
- **27.** Quelle est l'origine des lipides de la membrane des peroxysomes ? Quel est le mécanisme d'importation ?
- **28.** Quel est le caractère morphologique des peroxysomes de levures cultivées en milieu glucidique ?
- **29.** Quel est le caractère morphologique des peroxysomes de levures cultivées sur un milieu contenant du méthanol ?
- **30.** Par quel mécanisme les peroxysomes dégradent-ils les purines ?
- **31.** Dans quelle cellule les peroxysomes transforment-ils les acides gras en glucose ?
- **32.** Donnez un exemple du rôle joué par les peroxysomes dans la détoxication.
- **33.** Quels sont les acides gras qui ne sont pas dégradés dans la matrice peroxysomale ?
- **34.** Quel est le produit commun de la β -oxydation dans les mitochondries et dans les peroxysomes ?
- **35.** Quelle cellule possède des peroxysomes qui sont responsables du catabolisme oxydatif des dérivés du cholestérol et de leur transformation ?
- **36.** À quelle classe appartiennent certains hypolipémiants utilisés en thérapeutique ? Quel est leur mode d'action ?
- **37.** Citez deux molécules dont le siège de synthèse est le peroxysome.
- **38.** Citez une voie de synthèse dont les peroxysomes sont le point de départ.
- **39.** En quoi diffèrent les résultats obtenus par l'oxydation dans les peroxysomes et dans les mitochondries ?
- **40.** Citez une maladie au cours de laquelle les acides gras à très longue chaîne s'accumulent dans la cellule.

1. Ces organites participent au métabolisme oxydatif et ils importent leurs protéines après traduction (les mitochondries n'en traduisent qu'un petit nombre).

2. En mettant en évidence la présence de peroxydase par une réaction à la benzidine.

3. Les peroxysomes sont unis les uns aux autres par de fins canalicules. Ils constituent un réseau canaliculaire.

4. Le nucléoïde et la plaque marginale.

5. La membrane peroxysomale est particuliè-

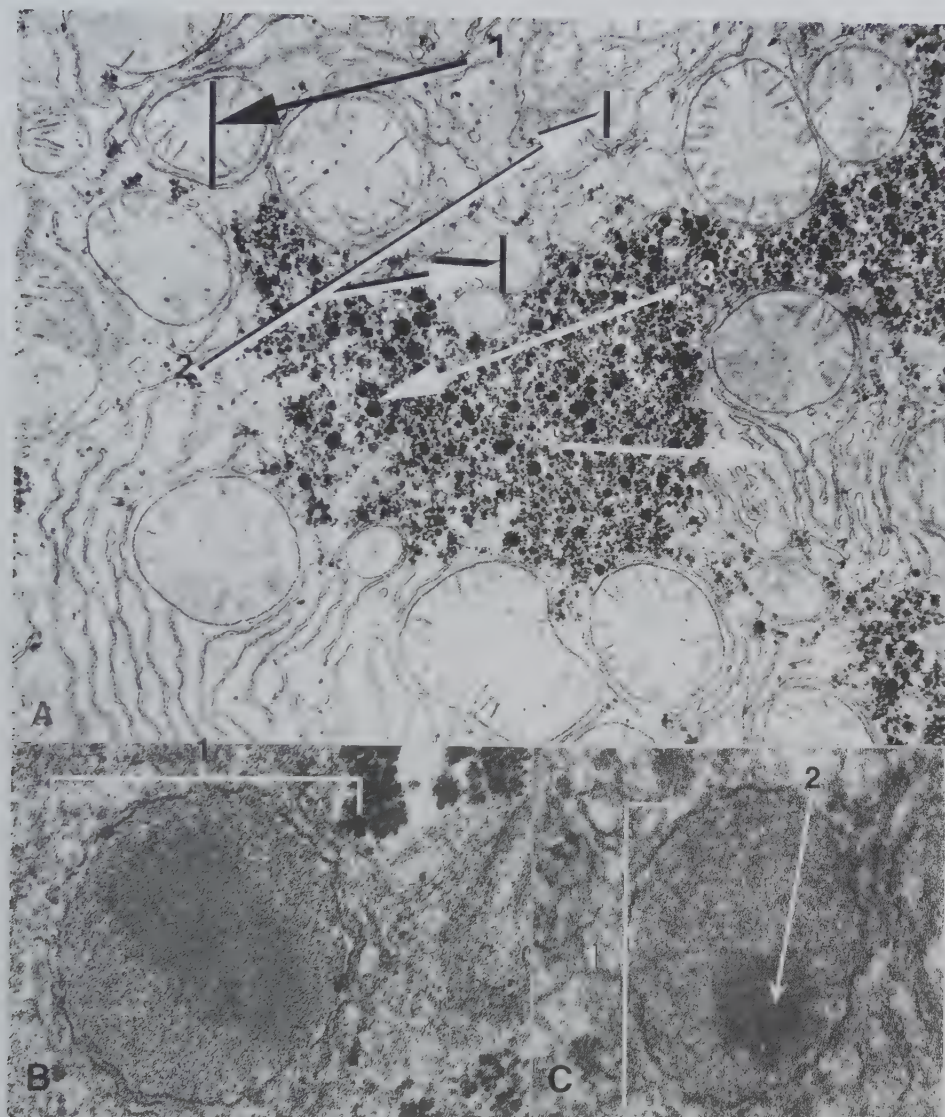
rement fluide : cette fluidité est due à sa pauvreté en cholestérol.

6. Dans la membrane peroxysomale.

7. Dans le cytoplasme et dans les peroxysomes.

8. Les peroxines peuvent être des protéines peroxysomales membranaires, des protéines importées dans la matrice peroxysomale, des protéines porteuses de protéines adressées aux peroxysomes, des protéines d'arrimage, des protéines contrôlant la prolifération des peroxysomes (récepteurs nucléaires contrôlant les gènes PEX) et la translocation des molécules destinées aux peroxysomes.

9. Les peroxines sont des protéines non glycosylées.
10. La peroxydase-catalase.
11. Elles possèdent une activité ATPasique.
12. Il faut qu'ils soient activés. L'acide gras forme, avec l'ATP, un acyl-AMP, puis l'acyl-AMP réagit avec un coenzyme A-SF pour former un acyl-coenzyme A.
13. Elles sont localisées dans la membrane des peroxysomes.
14. La peroxydase/catalase, l'uricase, la L-β-hydroxy-oxydase, la D-amino-oxydase.
15. Les peroxysomes se forment soit par bourgeonnement, soit par division d'un peroxysome préexistant.
16. Les PPs regroupent des substances très diverses : hormones thyroïdiennes, hypolipémiants, thiazolidinediones.
17. La prolifération des peroxysomes, inactivation des enzymes de la β-oxydation.
18. Les PPs activent un récepteur nucléaire en se combinant avec lui. Le complexe PPs-récepteur reconnaît, sur l'ADN, de courtes séquences PPRE. L'interaction du récepteur avec ces séquences induit la transcription des gènes cibles PEX.
19. Une accumulation physiologique de lipides poly-insaturés.
20. Elles viennent du cytosol où elles sont synthétisées par des polyribosomes libres.
21. Les protéines destinées aux peroxysomes portent des signaux PTS1 (séquence sérine-lysine-leucine) ou PTS2 (une séquence de 9 acides aminés).
22. Parce que les PEX sont importées dans les peroxysomes immédiatement après leur traduction (ce qui explique qu'aucune protéine peroxysomale n'est glycosylée).
23. Ils participent au métabolisme du cholestérol et interviennent dans la glyconéogenèse.
24. La catalase.
25. La protéine Hsp70 est transmembranaire : elle est en effet sensible à l'action de la protéase sur des peroxysomes dont la membrane est intacte.
26. Elle stabilise la région partiellement dépliée qui contient la séquence PTS, afin de la rendre accessible aux récepteurs de la membrane peroxysomale, de faciliter la délivrance du récepteur à la membrane des peroxysomes, de permettre le recyclage du récepteur dans le cytosol.
27. Les phospholipides de la membrane peroxysomale proviennent du RE. Ils sont transportés par des protéines hydrosolubles d'échange ou des protéines de transfert.
28. Ces peroxysomes sont de petite taille.
29. Les levûres, cultivées dans un milieu contenant du méthanol, possèdent de volumineux peroxysomes qui oxydent cet alcool.
30. Les peroxysomes contiennent des nucléases spécifiques qui, chez l'Homme, dégradent, par exemple, l'adénine en acide urique.
31. Dans les cellules végétales. Au cours du cycle glyoxylique, il se forme de l'acide succinique qui pénètre dans les peroxysomes où il est converti en glucose.
32. Les alcools sont dégradés dans la matrice peroxysomale : le cytochrome P450 intramembranaire transporte l'hydrogène provenant de cette oxydation.
33. Les acides gras dont la chaîne aliphatique contient moins de 8 à 10 atomes de carbone.
34. Le radical acétyl.
35. Les cellules hépatiques qui transforment l'acide trihydroxycoprostanolique en sels biliaires.
36. Les fibrates qui sont des inducteurs de la prolifération des peroxysomes.
37. Le dolichol et le cholestérol.
38. Les peroxysomes sont le point de départ de la synthèse d'alkénylphosphatides ou de plasmalogènes du PAF-acéther (platelet-activating factor; facteur activateur des plaquettes), un alkyl-phosphatide, médiateur lipidique capable d'induire l'agrégation des plaquettes et de libérer le contenu de leurs granules.
39. Les oxydations qui se déroulent dans les peroxysomes aboutissent à un dégagement de chaleur, tandis que, dans les mitochondries, elles aboutissent à la formation d'ATP.
40. Le syndrome cérébro-hépatorenal de Zellweger.



■ Cliché A :

Flèche 1 : peroxysome.

Flèche 2 : mitochondrie.

Flèche 3 : ribosome.

Flèche 4 : REL.

■ Cliché B :

Flèche 1 : lysosome.

■ Cliché C :

Flèche 1 : peroxysome.

Flèche 2 : cristalloïde.

Cliché A :

Flèche 1. *F : mitochondrie.*

Flèche 2. *F : peroxysome.*

Flèche 3. *F : glycogène.*

Flèche 4. *F : REG.*

Cliché B :

Flèche 1. *F : peroxysome avec son nucléoïde.*

Cliché C :

Flèche 1. *V.*

Flèche 2. *F : nucléoïde.*

Structure

Constitution chimique

Rôle

Les cils vibratiles

■ Le centrosome et l'appareil de Golgi pourraient être un site secondaire de nucléation des MTs. Une protéine GMAP210 est localisée sur le CGN. Elle est capable de se lier à l'extrémité négative des MTs et de participer à un complexe incluant la tubuline γ . Cette protéine joue un rôle déterminant dans le maintien de l'appareil de Golgi autour du centrosome.

Il y a plus de cent ans, Heidenhaim observe, pour la première fois, dans une cellule sanguine de Salamandre, une structure, le centre cellulaire ou microcentre, un organe mystérieux qui définit le centre géographique de la cellule. Il est composé de deux « granules », les centrioles, qui sont situés dans le cytoplasme au voisinage du noyau. La morphologie de cet organe varie : cela se traduit par la concentration, autour des centrioles, de zones particulières condensées. Il se forme ainsi une structure à laquelle van Beneden donne le nom de centrosome. Très rapidement, les biologistes, constatant la participation de cette structure à la division cellulaire, supposèrent que le centre cellulaire joue le rôle d'un centre dynamique.

Une paire de centrioles, cylindres spécialisés dont la paroi est constituée par des microtubules, occupent le cœur de cet organe. Les biologistes notent sa relation avec les cils et flagelles : en effet, les corpuscules basaux, organites situés à la base des cils ou des flagelles, possèdent la même structure que le centriole.

Les centrioles sont responsables du recrutement de protéines dont l'ensemble constitue le matériel péricentriolaire (PCM : pericentriolar material). Le PCM contient, entre autres, la tubuline γ qui nucléée la plupart des microtubules de la cellule, pendant l'interphase et pendant la mitose. Chez les Plantes et les Champignons, les centrioles et le centrosome sont remplacés par des plaques polaires (spindle pole body) : cependant, tous ces centres qui organisent les microtubules ont des fonctions semblables et contiennent des protéines homologues, montrant ainsi qu'ils se sont développés à partir d'un seul ancêtre.

Le centriole

Toutes les fonctions de cette structure ne sont pas encore connues, mais les biologistes peuvent néanmoins se faire, actuellement, une idée de l'importance de cet organe.

Il est généralement situé au centre de la cellule, en relation étroite avec la face concave de l'appareil de Golgi (fig. 12.1), généralement associé, à un autre centriole immature et incomplet, qui subit d'importantes modifications au cours du cycle cellulaire.

Structure

Le centriole est un cylindre de 0,15 à 0,25 μm de largeur sur 0,3 à 0,7 μm de longueur. Il comprend :

- une partie périphérique épaisse, ou paroi, de 0,04 à 0,05 μm , dense au rayonnement électronique, contenant neuf groupes de trois microtubules ou triplets (fig. 12.2) entourant une partie centrale généralement claire pouvant parfois contenir un ou deux granules; une des extrémités du centriole est proche du centre de la cellule, c'est la partie proximale, l'autre est tournée vers la périphérie de la cellule, c'est la partie distale;
- un système en roue de charrette située dans la partie proximale;
- des structures accessoires, neuf courts appendices distaux qui peuvent connecter le centriole à la membrane plasmique;
- des satellites;
- des fibres d'interconnexions des centrioles.

Fig 12.1

Localisation du centriole.

1. Diplosome.
2. Espace périnucléaire.
3. Membrane externe de l'enveloppe nucléaire.
4. Membrane interne de l'enveloppe nucléaire.
5. Chromatine.
6. Appareil de Golgi.

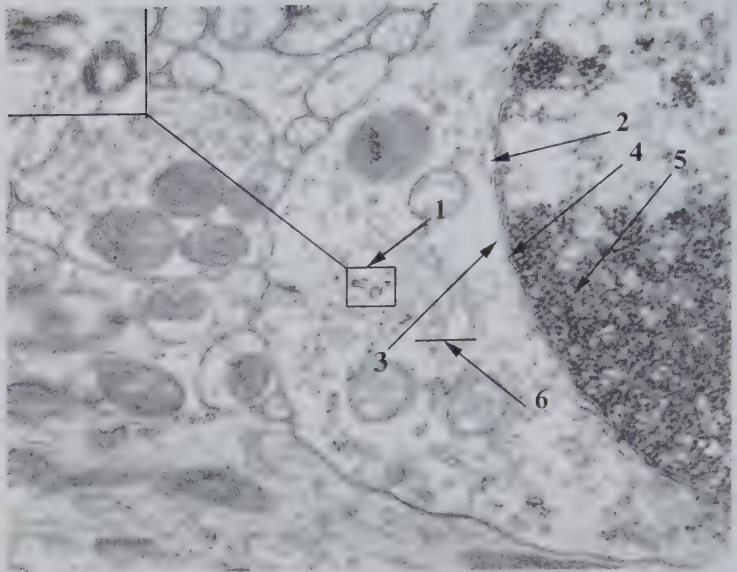


Fig 12.2

Centriole.

A. Coupe transversale de l'extrémité d'un centriole.

1. Microtubule C.
2. Microtubule B.
3. Microtubule A.

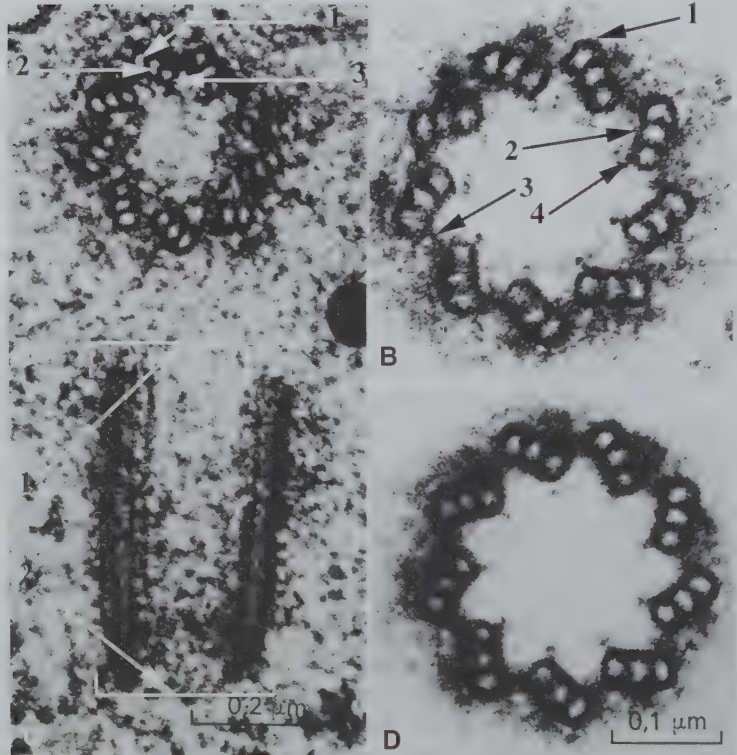
B. Coupe transversale d'un centriole.

1. Microtubule C.
2. Microtubule B.
3. Lien dense de nexine
4. Microtubule A.

C. Coupe longitudinale d'un centriole.

1. Extrémité distale.
2. Extrémité proximale.

D. Coupe transversale de l'extrémité proximale d'un centriole.



■ La paroi centriolaire

La paroi centriolaire est constituée par neuf triplets. Chaque triplet est formé par l'association étroite de trois MTs. L'axe virtuel passant par le centre de chacun des tubules fait, avec le rayon du cercle qui décrit la base du cylindre, un angle de 40° à 50° (fig. 12.2).

Les lettres A, B ou C désignent chacun des trois MTs. Les MTs A et B, B et C possèdent une paroi commune. Le MT A, le plus interne (c'est-à-dire le plus proche de l'axe du centriole), possède une paroi commune avec le MT B; le MT C, le plus externe, possède de même une paroi commune avec le MT B. Leur diamètre atteint 20 à 26 nm.

Des protofilaments composent la paroi de chaque MT des triplets. La réunion en un cylindre de 13 protofilaments (résultant de la polymérisation de dimères de tubulines $\alpha\beta$), autour d'une cavité centrale claire, réalise le tubule A.

A et B ont en commun trois à quatre protofilaments, ainsi que B et C. Le MT A est *circulaire* à la coupe tandis que les microtubules B et C ont une forme semi-lunaire. Chaque protofilament a un diamètre de 5 nm.

Les triplets sont réunis par des liens denses de *nexine*, tendus entre les MTs A et C.

■ Le système en roue de charrette

Le système en roue de charrette (fig. 12.3), situé à l'extrémité distale, est constitué par des rayons denses convergant vers le centre du centriole. Ils s'insèrent en dehors par des pieds adhérant à la face interne des microtubules A : les rayons et les pieds sont tous disposés dans un plan perpendiculaire à l'axe du centriole et dessinent une sorte de dispositif en roue de charrette. Au-dessus, les rayons sont répartis de telle sorte que la réunion, sur une ligne virtuelle, de leurs points d'insertion sur le cylindre central décrirait une spirale. Lorsque le centriole a atteint, par polymérisation des MTs, une longueur de 300 nm, la disposition en roue de charrette est détruite. Il ne persiste que dans les centrioles qui se transforment en corpuscules basaux.

Fig 12.3

Centriole.

1. Appendice distal (p210, Cénexine, p52).

2. Satellite (PCM-1, kendrine).

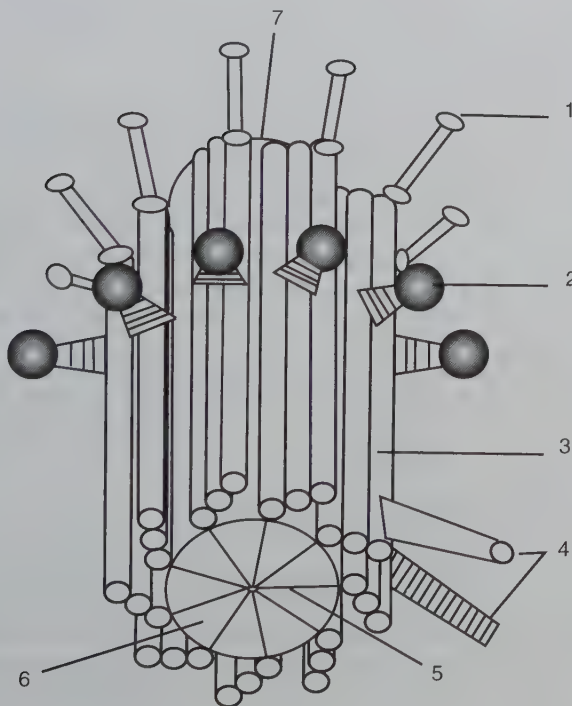
3. Triplets (tubuline α , β , δ , Sp77, Sp33, Rib43, tektine).

4. Fibres (centrine, Bap95, Bap90).

5. Roue de charrette.

6. Lumière proximale (tubuline γ , Nek-2, C-Nap1).

7. Extrémité distale (centrine, protéine Vlf1p, katanine, Fa1p).



■ Les appendices distaux

Ils jouent un rôle d'ancrage à la membrane plasmique lorsque le centriole se transforme en corpuscule basal (fig. 12.3). Il permet l'accrochage du centriole à la membrane plasmique et les appendices distaux deviennent les fibres de transition. Les études sur les Algues ont permis d'identifier une protéine distale de l'appendice, la protéine p210 : cette protéine possède des homologies avec la protéine AP180 (adaptine) qui intervient dans l'assemblage du manteau de clathrine et qui joue un rôle dans l'attachement aux membranes. La cénexine, un autre composant des appendices distaux, est localisée dans la même région que les appendices distaux : elle n'existe que chez le centriole père (au cours de la duplication centriolaire, le centriole préexistant est appelé centriole père tandis que le centriole en cours de formation est appelé centriole fils).

■ Les satellites centriolaires

Des structures satellites (satellites centriolaires) de forme sphérique sont localisées dans la région péricentriolaire (fig. 12.3). Elles sont attachées aux centrioles par des formations striées. Ces satellites interviennent dans la nucléation des microtubules pendant l'interphase et uniquement pendant l'interphase. Ils n'existent d'ailleurs que pendant cette phase du cycle. Ils fixent les microtubules par leur extrémité négative. Ces satellites contiennent une protéine, la protéine PCM-1 qui attache les microtubules cytoplasmiques aux satellites. Cette protéine PCM1 peut interagir avec les microtubules par l'intermédiaire de la dynéine cytoplasmique. PCM-1 est localisé dans le centriole pendant la phase G1 mais disparaît au cours de la phase G2 et de la phase M, c'est-à-dire au moment où les satellites n'interviennent plus comme sites d'organisation des microtubules. PCM-1 peut former des complexes avec la kendrène, une protéine superenroulée, homologue de la protéine Spc110 de l'aster des levures. Spc110 est impliquée dans le recrutement de matériel servant à la nucléation des microtubules sur la face nucléaire des asters, suggérant que cet homologue de kendrène peut être impliqué dans la nucléation des microtubules par les satellites.

■ Les fibres d'interconnexions des centrioles

Des fibres d'interconnexions réunissent les deux centrioles au cours de l'interphase. Par exemple, chez les Algues, il existe deux fibres, une fibre de connexion distale (qui unit les extrémités distales) et une fibre de connexion proximale. La fibre de l'interconnexion distale contient une protéine, la *centrine*, tandis que la fibre des interconnexions proximales contient la protéine Bap 90. Chez les mutants *vfl1* et *vfl3* de *Chlamydomonas*, ces fibres ne connectent pas les centrioles, si bien que la ségrégation centriolaire se déroule mal et que le nombre de centriole par cellule est variable. Ces fibres lient les centrioles l'un à l'autre jusqu'à leur séparation qui est contrôlée.

Fonctions des centrioles

■ Le recrutement du matériel péricentriolaire

Les centrioles recrutent le matériel (matrice péricentriolaire ou matériel péricentriolaire) nécessaire à la nucléation des microtubules (PCM : pericentriolar material; matériel péricentriolaire) et forment ainsi le centrosome.

Les cellules eucaryotes dépourvues de centrioles ne forment pas de centrosome et, surtout, la destruction des centrioles par administration d'anticorps, qui reconnaissent les isoformes des tubulines spécifiques de ces organites, provoque la dispersion des éléments constituant les centrosomes. L'introduction de centrioles intacts dans une cellule provoque l'assemblage des constituants des centrosomes.

La mutation de deux gènes chez la *Drosophile*, les gènes *asl* (asterless; sans aster) et *cnm* (centrosomine), provoque une réduction marquée du nombre de tubules astériens à chacun des pôles du fuseau. Les embryons mutants, homozygotes pour *asl* ou pour *cnm* (qui manque complètement de centrosomine), ne se développent pas : la division cellulaire est très anormale, ce qui démontre que les centrioles jouent un rôle essentiel dans l'assemblage du centrosome et son maintien. Des mécanismes identiques se déroulent chez les Vertébrés supérieurs et en particulier chez les Mammifères.

■ L'assemblage des MTs des cils ou des flagelles

Les centrioles agissent également comme des matrices pour amorcer l'assemblage des cils et des flagelles. Ils portent alors le nom de corpuscules basaux et sont attachés à la membrane plasmique par des appendices qui constituent les fibres de transition.

■ La différenciation du fuseau mitotique et sa mise en place

Voir également « Le cycle cellulaire », chapitre 5.

En provoquant la formation du centrosome et donc l'accumulation de molécules intervenant dans la nucléation des microtubules, le centriole donne naissance aux pôles fusoriaux astraux qui peuvent être ainsi correctement disposés par rapport au sillon de clivage.

Lorsque la cellule ne contient qu'un seul centriole, il se forme un fuseau bipolaire monastérien (monastral), c'est-à-dire ne possédant qu'un seul aster. Le fuseau peut être anastral si la cellule ne contient pas de centriole. De tels fuseaux ne sont pas orientés correctement au cours de la division cellulaire.

Cette voie acentriolaire de la division cellulaire n'existe pas normalement dans les cellules somatiques. Dans ce cas, les microtubules nucléés par les chromosomes s'auto-organisent en faisceaux bipolaires grâce aux protéines motrices. Cette voie acentriolaire est par contre commune au cours de la méiose. Ainsi, des cellules acentriolaires ne forment pas de centrosome mais peuvent assembler des faisceaux de microtubules.

Le fait que les cellules acentriolaires ne puissent pas former de centrosome explique la mauvaise orientation intracellulaire de tels fuseaux : en effet la bonne orientation des fuseaux ne dépend pas des microtubules astériens.

Chez *Chlamydomonas*, une algue verte unicellulaire, la mutation *bld2* provoque de profondes anomalies de la structure centriolaire. Les centrioles sont constitués par un anneau de simples tubules. L'assemblage du fuseau et la mitose se déroulent sans aucun problème, mais le fuseau est mal orienté. Ces mêmes défauts apparaissent lorsque l'allèle de *bld2* a perdu une partie de ses fonctions. Par contre, l'allèle nul de *bld2* est létal. Ceci est important, car le centriole contribue directement à la progression du cycle cellulaire et ceci peut expliquer la létalité de la mutation nulle de *bld2*.

L'exérèse du centriole des cellules de Mammifères produit également des erreurs dans la division cellulaire. Ces erreurs proviennent de l'incapacité des fuseaux anastraux à conserver une position correcte pendant la division.

■ La régulation de la progression du cycle cellulaire

En plus du rôle joué par le centriole dans la division cellulaire par la voie de la formation de microtubules astériens, les centrioles, par l'intermédiaire des centrosomes dont ils ont médié la formation, jouent un rôle dans la régulation de la progression du cycle cellulaire.

Les cellules, dont le centriole a été enlevé soit par microchirurgie, soit par destruction au laser, peuvent se diviser, mais elles s'arrêtent à la phase G1 et n'atteignent jamais la phase S : le centriole influence directement la progression du cycle cellulaire. Il existe un point de contrôle du cycle qui vérifie le nombre de copies des centrioles et qui interrompt le cycle lorsque les cellules ne possèdent pas un nombre correct de centrioles : un tel mécanisme évite les erreurs de ségrégation chromosomique au cours de la division suivante.

Le centriole fils et le corps intermédiaire

L'étude du cycle centriolaire (voir paragraphe « Le cycle centriolaire ») a été faite par marquage de la centrine (une molécule entrant dans la composition du centriole père) à l'aide d'une protéine verte fluorescente (GFP : green fluorescent protein). Il est donc possible de suivre, dans la cellule en cours de division, l'évolution de chaque centriole. Lorsque l'anaphase est terminée, les deux centrioles ne sont plus disposés perpendiculairement l'un à l'autre. Ils sont parallèles, maintenus par des fibres flexibles qui unissent leurs extrémités. Le centriole père est relativement statique, immobile, tandis que le centriole fils est animé de mouvements irréguliers. Il peut se déplacer le long de filaments tout en restant attaché au père par un lien fibreux flexible. Au cours de ces déplacements, le centriole fils rencontre le corps intermédiaire (voir le paragraphe « La mitose ou phase M » du chapitre 5), une structure riche en microtubules qui persiste un court instant entre les deux cellules. Cette rencontre induit la coupure de la connexion, qui persiste entre les cellules et le corps intermédiaire : elle libère les deux cellules filles qui peuvent ainsi s'éloigner l'une de l'autre. Cette découverte remarquable implique que la régulation de certains événements du cycle cellulaire requière la proximité d'un composant interactif plutôt que celle d'un système de transduction de signaux.

La motilité différente du centriole père du centriole fils reflète des interactions différentes avec les microfilaments d'actine et les microtubules.

Le centriole fils et la nucléation des MTs

Au cours de l'interphase, le centriole fils peut nucléer les microtubules mais ne se lie pas aux microtubules. Il agit ainsi comme une source de microtubules qui sont libérés dans le cytoplasme. Plus tard, au cours du cycle cellulaire, le centriole fils acquiert l'aptitude de retenir les microtubules de telle sorte qu'il peut former un fuseau mitotique dans la cellule fille comme le centrosome de la cellule mère. Cette maturation est associée à l'apparition de rayons qui partent de l'extrémité du centriole et qui contiennent une protéine, la dynéine, qui se lie à l'extrémité négative des microtubules et les stabilise.

Le centriole père et la nucléation des MTs

Le centriole père intervient dans la nucléation des microtubules et retient leur extrémité négative, formant ainsi l'image classique du centrosome qui contient le centriole au centre de l'aster vers lequel convergent, sans l'atteindre, les microtubules polarisés.

Le centriole, formation cylindrique dont la paroi est constituée par 9 triplets de microtubules, joue un rôle important dans la division cellulaire en recrutant du matériel péricentriolaire pour former le centrosome. Il joue également un rôle important dans la progression du cycle cellulaire en recrutant des molécules intervenant dans la régulation du cycle. Cependant, aucune de ses fonctions n'est strictement essentielle au déroulement de la division cellulaire elle-même.

Le centrosome ou MTOC

Structure et composition chimique

Il est constitué par le centriole ou les centrioles entourés par le matériel péricentriolaire.

Le matériel péricentriolaire contient environ une centaine de protéines différentes et il est difficile de préciser si ces protéines transitent simplement par le centrosome ou si elles lui confèrent une fonction.

La majorité des protéines suivantes interviennent dans la nucléation des MTs ou établissent des rapports avec les MTs :

- la ninéine, une protéine responsable de l'ancrage des microtubules sur le centriole père.
- AKAP450 (AKAP : A kinase-anchoring protein; protéine d'ancrage de la kinase A), une protéine géante.
- la centrine qui possède un motif de ciblage permettant son accumulation dans les centrosomes. Il s'agit d'une protéine de 20 kDa, découverte dans le corpuscule basal des algues vertes. Elle existe dans tous les centrioles, les corpuscules basaux, les fuseaux mitotiques, de cellules aussi variées et différentes que celles des Algues, des Plantes supérieures, des Invertébrés, des cellules de Mammifères. La centrine joue un rôle essentiel dans la duplication des centrosomes au cours du cycle cellulaire. La destruction ou l'absence de centrine provoque une inhibition de la duplication des centrosomes. Elle intervient également dans le positionnement et l'orientation du centrosome, la ségrégation des chromosomes.
- la nucléophosmine, une chaperone indispensable à la duplication centrosomale, qui se localise également dans les centrosomes non dupliqués. Elle est particulièrement abondante dans le nucléole.
- les cyclines qui interviennent dans l'initialisation de la duplication centriolaire.
- la cénexine, une protéine associée uniquement avec le centriole le plus ancien (le centriole père). Le centriole fils ne l'acquiert qu'au moment de la transition de la phase G2/M.
- la tubuline γ qui est associée aux centrosomes des Vertébrés au cours de toutes les phases du cycle cellulaire et dans les MTOCs de toutes les cellules animales et végétales. Elle intervient dans la nucléation des MTs en formant une amorce annulaire désignée par le sigle γ TuRC (γ TuRC : γ -tubulin ring complexe; complexe annulaire de tubuline γ). On ne la retrouve pas dans les MTs.

– la péricentrine, protéine de 220 kDa qui se localise dans les centrosomes et les centrosomes acentriolaires organisateurs de MTs; les anticorps anti-péricentrine interrompent la mitose et la méiose et bloquent la formation de l'aster, mais ne bloquent pas l'assemblage de la tubuline γ . La péricentrine est un composant habituel des centrosomes impliqués dans l'organisation initiale des MTs.

– la dynéine qui intervient dans l'assemblage de la péricentrine et de la tubuline γ dans le centrosome.

– le PCM-1, une protéine centrosomale de 228 kDa, étroitement associée au centrosome pendant les phases G1, S et une partie de G2. Cette protéine, à la fin de la phase G2, se dissocie du centre cellulaire et se disperse dans la cellule au cours de la mitose.

– la katanine, une ATPase de type AAA (ATPases associated with various cellular activities; ATPases associées à des activités cellulaires variées), protéine de fragmentation des microtubules qui utilise l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP pour désassembler les microtubules. Au cours de la mitose, les microtubules fusoriaux subissent d'importantes modifications : une polymérisation au niveau de leur extrémité positive qui est liée au kinétochore et une dépolymérisation à leur extrémité négative qui plonge dans le centrosome. La katanine intervient dans le « désassemblage » des MTs à leur extrémité négative.

– la centrosomine (CMN), une protéine nécessaire à l'assemblage du centrosome. Les drosophiles mutantes, qui ne synthétisent pas de centrosomine, sont stériles car le centrosome ne peut se constituer.

– des constituants des protéasomes.

Après extraction de ces protéines, il reste un réseau de fibres anastomosées de 3 à 8 nm de diamètre. Ce réseau est désigné par les termes de matrice centrosomale, matrice centrosomienne ou échafaudage centrosomal (centromatrix). Ce réseau ne possède aucune activité de nucléation des microtubules mais, lorsqu'il est incubé avec γ TuRC en présence d'extrait d'embryons de Drosophile, la nucléation des MTs est restaurée. Ce réseau est constitué par des protéines, identifiées comme étant les mêmes que celles qui constituent les fibres denses les plus externes du flagelle des spermatozoïdes (Ofd2 : outer fiber dense 2). C'est un composant de la matrice centrosomienne.

Variations morphologiques des MTOCs

Chez les Végétaux, les MTOCs ne contiennent pas de centriole. Les MTOCs possèdent des apparences variées. Dans la majorité des cellules végétales, ils seront constitués par des plaques de matériel dense (spindle pole body) localisées en dehors du noyau. Chez les Champignons, il a la forme d'un disque, désigné sous les termes de *plaque polaire*, situé dans le noyau. Il assure la polymérisation du fuseau mitotique qui commence à se former à l'intérieur du noyau.

Les centrosomes acentriolaires

Certains centrosomes de Vertébrés ne contiennent pas de centrioles. Ces *centrosomes acentriolaires* interviennent aussi dans la nucléation des MTs et accomplissent toutes les fonctions des MTOCs. Par exemple, le *fuseau méiotique* des oocytes de Souris n'a pas de centriole : il contient, au niveau de chacun des pôles du fuseau, une bande de matériel centrosomal, analogue au PCM, mis en évidence par un auto-antisérum humain. De ce matériel dense aux électrons émanent les MTs. Il

existe aussi une quinzaine de foyers discrets de matériel centrosomal dans le cytoplasme proche du cortex cellulaire. La morphologie de ces régions rappelle celle des asters : ces régions sont associées à la nucléation des MTs. Ces foyers sont appelés *cytasters* : ils sont dépourvus de centriole. Les foyers corticaux, après fécondation, restent dans la périphérie cellulaire jusqu'à la fin de la phase S : ils migrent ensuite vers le *pronucleus*.

À la métaphase de la première division de la méiose, de nombreux MTOCs se disposent autour de chacun des groupes de chromosomes et s'alignent, au cours de la métaphase, pour former deux bandes sur chacun des côtés de la plaque équatoriale de la première mitose. Ces MTOCs interviennent dans la nucléation des MTs.

Fonctions des centrosomes

Les centrosomes sont des centres organisateurs des microtubules ou MTOCs.

Ils interviennent par l'intermédiaire du centriole père dans la nucléation des MTs du fuseau mitotique. La division des cellules eucaryotes nécessite l'assemblage de fuseaux mitotiques afin d'assurer la ségrégation des chromosomes répliqués.

Une étape essentielle dans l'assemblage du fuseau est la nucléation de microtubules à partir du centrosome. Une des protéines impliquées dans la nucléation est la tubuline γ . Les molécules de tubuline γ forment un complexe annulaire (γ TuRC) de 2 200 000 Da avec sept autres protéines. Ce complexe agit comme une unité active de nucléation des microtubules *in vitro*.

Cet anneau s'associe avec l'extrémité négative des microtubules au cours de la nucléation *in vitro* à partir de centrosomes purifiés. La microscopie en fluorescence de tubuline γ associée à la protéine fluorescente verte (GFP) ont montré que la tubuline γ est intégrée dans le centrosome au cours de la mitose. Le recrutement de γ TuRC par le centrosome est facilité par la péricentrine, une protéine qui interagit à la fois avec la tubuline γ et la dynéine. Les protéines centrosomales qui ancrent γ TuRC au centrosome n'ont pas encore été identifiées mais le fractionnement *in vitro* de centrosomes purifiés indique qu'une ou plusieurs protéines de la matrice du centrosome qui permettent l'ancrage sont essentielles à la nucléation.

Coordination du cycle centriolaire avec le cycle cellulaire

Les centrioles se dupliquent d'une manière extrêmement précise (fig. 12.4) : chaque centriole donne naissance à un nouveau centriole à chaque cycle. Cette duplication est nécessaire pour maintenir le nombre exact de centrioles par cellule. Des anomalies numériques centriolaires contribuent directement à la formation de cancers.

Le nouveau centriole (centriole fils), qui se forme à côté d'un centriole préexistant (centriole père), forme un angle droit avec l'extrémité proximale du centriole père. Le centriole fils n'incorpore aucune partie du centriole père : il n'est pas généré par clivage.

Le centriole commence sa duplication à la fin de la phase G1 et l'achève au début de la prophase (duplication centrosomienne signifie que les deux centrosomes formés à partir d'un centrosome possèdent chacun deux centrioles équivalents). À la fin de la phase G2, le centrosome contient un diplosome formé de deux centrioles de même dimension, chacun étant associé à un procentriole en cours

Fig 12.4

Cycle du centriole.

A. Initiation de l'assemblage des centrioles fils. cdk2-cycline E/A active, par phosphorylation, la nucléophosmine qui intervient dans la mise en place des disques génératifs, un par futur centriole fils. La centrine intervient également : l'inhibition de cette molécule inhibe la duplication du centriole.

B. Formation du procentriole. Intervention de la tubuline γ .

C. Assemblage des triplets. L'inhibition de la tubuline δ prévient la formation des triplets.

D. Allongement des microtubules des triplets. Cdc25^{string} joue un rôle essentiel (chez la Drosophile) dans l'entrée en mitose.

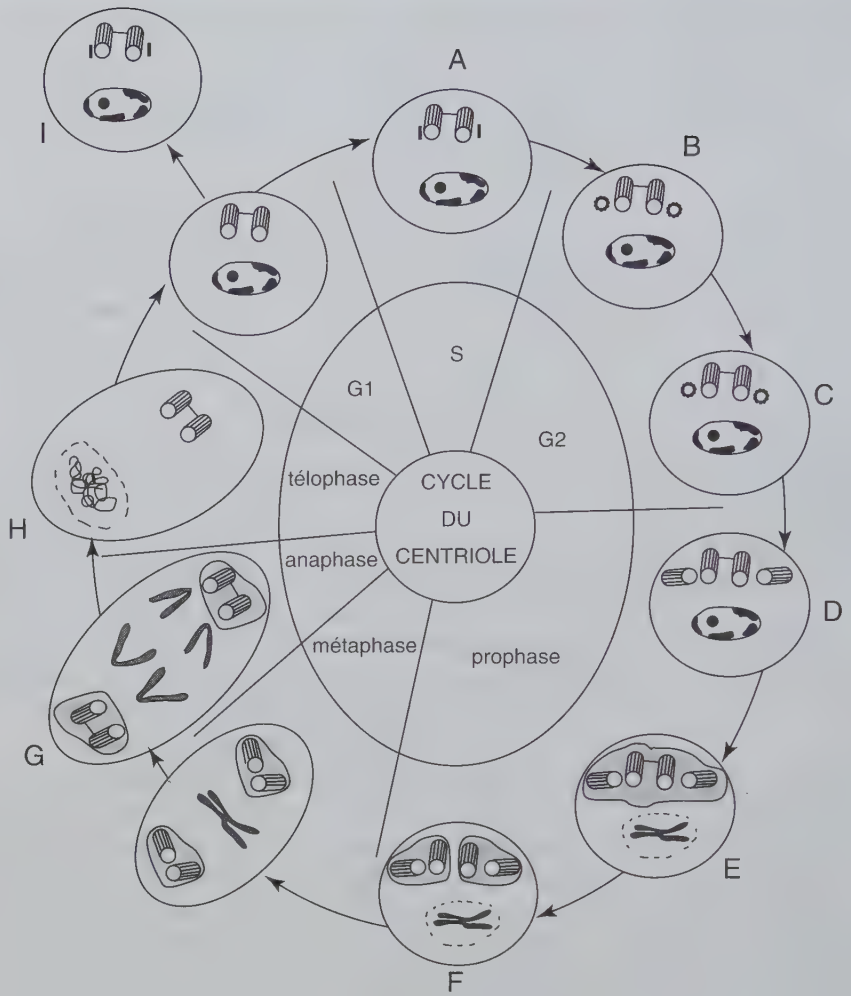
E. Recrutement de protéines autour des centrioles (péricentrine, γ TuRC, NuMA, TPX2, CP60, 190, Ran, Asp, Cnn).

F. Séparation des paires de centrioles (Centrine, Aurora, un membre de la famille des protéines kinases qui joue un rôle dans l'assemblage du fuseau, Nek-2 une kinase agissant sur C-Nap1 qui assure la cohésion des deux centrioles).

G. Détachement des deux centrioles qui perdent leur disposition perpendiculaire l'un par rapport à l'autre. Chez la Drosophile, le détachement du centriole fils du centriole père dépend de cdc20^{fizzy}. Chez *Xenopus*, les inhibiteurs du protéasome inhibent ce détachement.

H. Désassemblage du centrosome mitotique : les protéines péricentriolaires disparaissent pour gagner le noyau en cours de formation.

I. Transformation en corpuscule basal : elle dépend de HFH-4 (forkhead transcription factor).



d'allongement. Le centriole se forme en une série d'étapes : chaque étape correspond à une étape différente du cycle cellulaire.

■ Première étape : initiation de l'assemblage d'un centriole fils

L'assemblage de nouveaux centrioles débute lorsque la cellule entre en phase S. L'initiation de la duplication centriolaire dépend de l'activité de la kinase 2

cycline-dépendante (cdk2-cyclin E) chez les embryons jeunes et de cdk2-cycline A dans les cellules somatiques. cdk2-cycline E phosphoryle la nucléophosmine qui est la première cible au cours de l'initiation de la duplication. Elle se dissocie des centrosomes après phosphorylation de la thréonine 199 par cdk2-cycline E, ce qui provoque l'apparition d'une première structure (située au niveau et à courte distance de l'extrémité proximale du centriole père), le « disque générateur » ou disque générateur (generative disc).

Les satellites n'interviennent pas dans la différenciation d'un nouveau centriole.

Chez la Levure, l'homologue de la centrine, Cdc31 forme une structure en demi-pont donnant naissance directement à un nouveau corps polaire fusorial, suggérant que la centrine joue un rôle semblable dans la duplication centriolaire. L'inhibition des fonctions de la centrine provoque un arrêt de la duplication centriolaire. D'autres protéines sont impliquées dans la duplication centriolaire comme Vfl3p et les tubulines.

■ Deuxième étape : la formation du procentriole

Le signe le plus évident que l'assemblage centriolaire a commencé est la formation d'un anneau de neuf simples microtubules, appelé le procentriole.

■ Troisième étape : l'assemblage des triplets

Des microtubules complémentaires se réunissent à côté des microtubules préexistants, formant un anneau de neuf microtubules de triplet. Généralement, les microtubules forment d'abord des doublets et ensuite des triplets.

■ Quatrième étape : l'allongement

Dès que les triplets sont mis en place, les MTs s'allongent jusqu'à ce que le centriole néoformé ait atteint la longueur du centriole père. L'allongement a normalement lieu pendant la mitose.

■ Cinquième étape : la formation du centrosome mitotique

Au tout début de la mitose, des protéines s'accumulent autour des centrioles pour former le centrosome mitotique. La plupart des protéines du centrosome n'interagissent pas directement avec le centriole, mais avec la matrice fibreuse qui se constitue autour des centrioles.

De nombreuses protéines centrosomales sont séquestrées dans le noyau pendant l'interphase comme par exemple NuMA (nuclear mitotic apparatus; appareil mitotique nucléaire). Une expérience intéressante a été réalisée chez un ver plat (*Cerebratulus*). Des œufs énucléés sont fragmentés par microchirurgie. Ces fragments peuvent induire l'assemblage d'asters contenant des centrioles, à condition que l'enveloppe nucléaire ait été rompue au cours des micromanipulations.

■ Sixième étape : la séparation des deux paires de centrioles

Les centrioles pères sont accolés à leur extrémité proximale par la protéine C-Nap-1 (nucleosome assembly protein; protéine d'assemblage du nucléosome). La kinase Nek2 phosphoryle la protéine C-Nap1, ce qui provoque la séparation des deux paires de centrioles (fig 12.5).

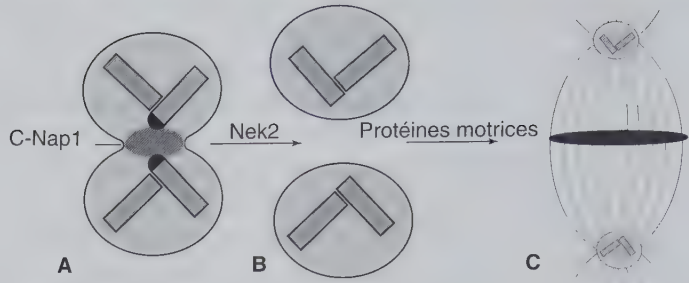
Fig 12.5

Séparations de deux paires de centrioles

A. Centrosome dont les centrioles pères sont collés l'un à l'autre par C-Nap1.

B. Après phosphorylation de C-Nap1 par Nek2, les centrioles pères se séparent et les deux centrosomes s'éloignent l'un de l'autre.

C. Des protéines motrices (dyneïne) interviennent dans la migration des centrosomes : le fuseau mitotique se différencie et s'allonge au fur et à mesure que les deux centrosomes s'éloignent.



■ Septième étape : le détachement des centrioles

À un moment où les cellules sortent de mitose et entrent en phase G1, le centriole père et le centriole fils ne se disposent plus perpendiculairement l'un à l'autre, mais parallèlement l'un à l'autre. Chez *Xenopus*, des inhibiteurs des protéasomes préviennent le détachement des centrioles. De tels phénomènes se déroulent également dans les cellules des Mammifères. Ils prouvent que le détachement des centrioles est provoqué par une protéolyse dépendant de l'ubiquitine.

■ Huitième étape : le désassemblage du centrosome mitotique

Après la mitose, les protéines péricentriolaires regagnent les noyaux nouvellement formés. Le désassemblage du centrosome est accompagné par des changements importants de l'ultrastructure du centriole. Par exemple, le halo dense aux électrons, visible autour du centriole père de chacune des paires, disparaît après l'anaphase.

Les centrosomes contiennent généralement un centriole mature et un centriole en cours de croissance. Leur paroi est constituée par neuf triplets (trois MTs associés). L'extrémité distale des centrioles en cours de maturation contient un système en « roue de charrette » qui disparaît lorsque le centriole est mature. Les centrioles possèdent parfois des satellites. Certains centrosomes sont acentriolaires. Les centrosomes centriolaires ou acentriolaires sont des MTOCs. Les centrosomes contiennent de nombreuses protéines, en particulier de la centrine (responsable de la duplication des centrosomes), de la péricentrine (nécessaire à la mitose et à la méiose), de l'actine et de la tubuline γ (nécessaire à la nucléation des MTs). Les centrosomes se dupliquent au cours de la phase S. Les centrosomes sont responsables de la nucléation des MTs, de leur polarité, de la formation du fuseau mitotique et de la régulation de son fonctionnement. Les mouvements de déplacement des centrosomes au cours de la prométaphase dépendent de la dyneïne. Les MTOCs forment les corpuscules basaux des cils.

Les cils vibratiles

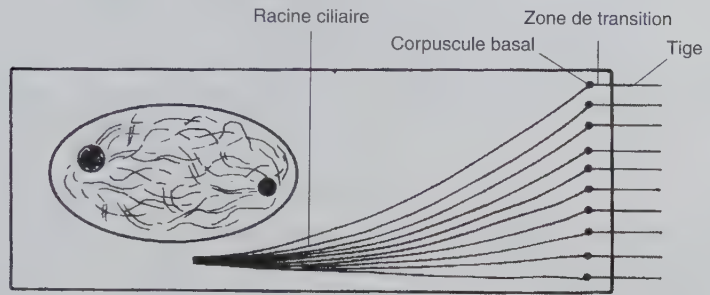
Les cils vibratiles sont des expansions cytoplasmiques mobiles occupées par l'*axonème*, un assemblage complexe de MTs : ces expansions sont douées de *mouvements pendulaires ou ondulants*, qui entraînent les particules, brassent et font circuler les liquides à la surface des épithéliums tubaires, des voies respi-

ratoires et de certains tubes des voies excrétrices du testicule. Les cils vibratiles sont des dérivés de l'activité des MTOCs. En effet, les corpuscules basaux, dont ils dérivent, ont la même structure que les MTOCs. Chez les Eucaryotes, les flagelles ont une structure voisine de celle des cils vibratiles. Il n'en est pas de même chez les Procaryotes : en effet, chez les Bactéries, les flagelles sont des projections protéiques formées à partir de la surface cellulaire.

Organisation morphologique des cils vibratiles

Les cils comprennent (fig. 12.6 et 12.7) :

Fig. 12.6
Structure générale d'un cil
en microscopie optique.



- une tige,
- une zone de transition,
- un corpuscule basal, centre cinétique,
- des racines ciliaires inconstantes.

■ L'axonème

La tige ciliaire a un diamètre de $0,2\ \mu\text{m}$ en moyenne, une longueur de $5\ \text{à}\ 10\ \mu\text{m}$. Elle est limitée par la membrane plasmique du pôle apical. Elle renferme (fig. 12.7 et 12.8) :

- une *matrice* faiblement opaque aux rayons électroniques;
- l'*axonème*, ensemble de 11 tubules longitudinaux, rectilignes, parallèles les uns aux autres, divisés en deux groupes :

- une *paire de MTs centraux* de $20\ \text{nm}$ de diamètre, dont la paroi est épaisse de $5\ \text{à}\ 7\ \text{nm}$. Ces tubules sont disposés de telle sorte que la ligne passant par leur centre est perpendiculaire à la direction du battement des cils; ils sont formés par l'association de 13 sous-unités chacun. Ils commencent juste au-dessus du corpuscule basal pour s'achever à une courte distance de l'extrémité libre de la tige.
- 9 *doublets MTs périphériques* disposés autour de la paire centrale. Leur axe longitudinal, c'est-à-dire la droite unissant les centres de chacune des sections transversales des MTs du doublet, forme un angle de $5\ \text{à}\ 10^\circ$ avec une ligne tangentielle à la surface ciliaire, en un point opposé du doublet. Le diamètre de chaque tubule est de $18\ \text{à}\ 22\ \text{nm}$. Chaque doublet (fig. 12.8) est distant de $50\ \text{nm}$ de ses voisins. Il est constitué de deux tubules, que l'on peut désigner par les lettres A et B.

Les doublets portent des bras de dynéine qui unissent les MTs B aux MTs A

Le MT A est plus proche du centre du cil que le MT B. Son diamètre est plus petit. Il porte deux bras dirigés dans le sens des aiguilles d'une montre (en supposant que l'œil soit placé sous la tige ciliaire et regarde en direction de l'extrémité libre du cil) et constitués par une protéine, la *dynéine*. Ils sont disposés tout au long du tubule A et distants les uns des autres de $13\ \text{nm}$. Ils sont absents à la base de la tige.

Le MT B est plus large, moins dense au rayonnement électronique que le tubule A. Les MTs A et B ont une paroi commune : ils sont associés en doublet.

Un long filament longe la paroi du doublet entre le MT A et le MT B. Il s'agit d'une molécule fibrillaire, la *tektine*, de 2 à 3 nm de diamètre, apparentée aux filaments intermédiaires, qui intervient dans la formation de la paroi commune entre le MT A et le MT B. Cette molécule pourrait déterminer les positions, sur le MT, de structures périodiques comme les fibres rayonnantes (bras radiaires), les molécules de nexine, etc.

La paroi des MTs centraux et périphériques est constituée par des protofilaments

Ces protofilaments sont des polymères du dimère tubuline $\alpha\beta$. Les doublets périphériques contiennent 23 protofilaments (13 pour le MT A, 10 pour le B) tandis que les doublets centraux en contiennent 13 chacun.

Fig. 12.7

Représentation schématique d'un cil vibratile en microscopie électronique. 1. Membrane plasmique. 2. Doublet. 3. Tubules centraux entourés de leur gaine. 4. Fibres radiaires. 5. Granules intramembranaires (zone proximale de la membrane ciliaire). 6. Collier. 7. Vésicule ciliaire. 8. Plaque basale. 9. Corpuscule basal. 10. Racine ciliaire. A, B, C, D, E. Coupes transversales.

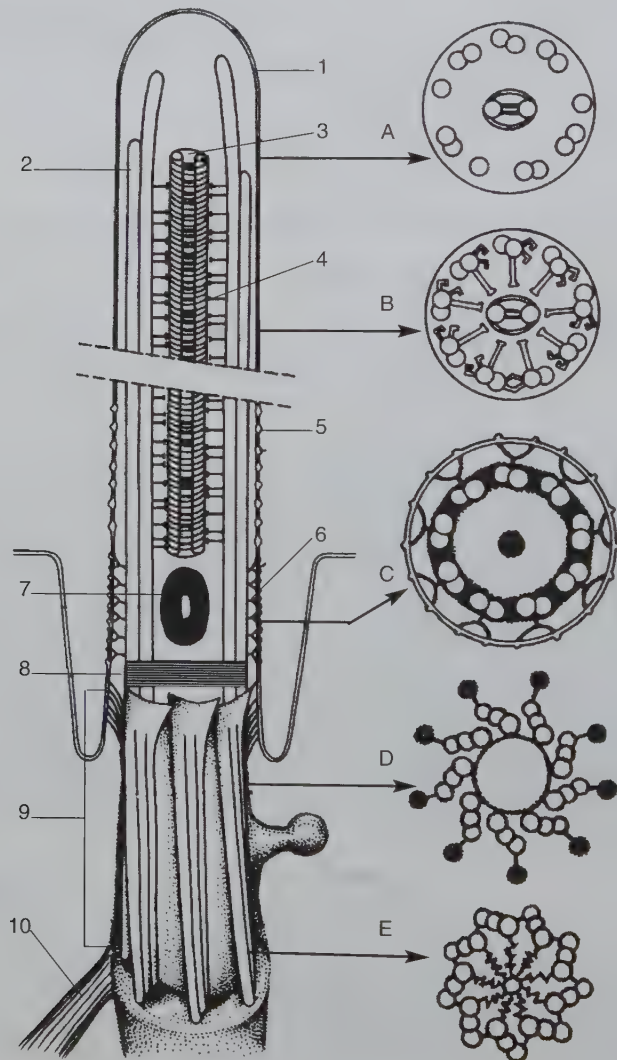
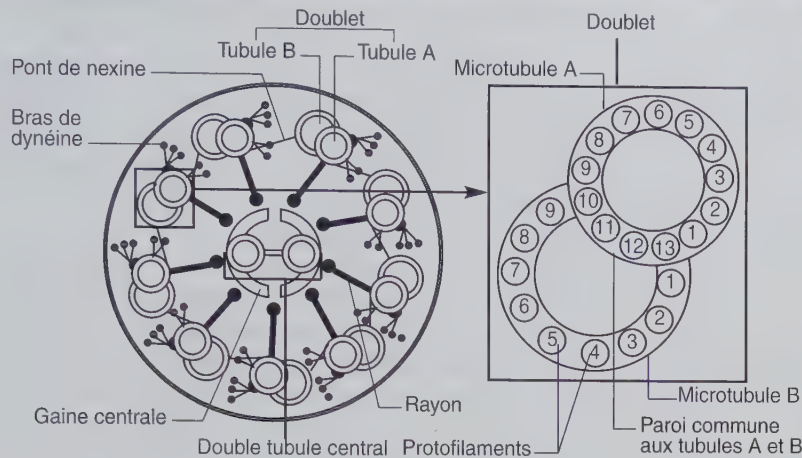


Fig. 12.8

Relations entre les divers composants de l'axonème.



Une gaine centrale entoure les MTs centraux

Sur une coupe transversale à de très forts grossissements, on peut observer une ligne dense de forme ovale, la *gaine centrale*, qui entoure les deux MTs centraux.

Des bras radiaires réunissent les MTs A à la gaine centrale

Ces sont des fibres à disposition radiaire, qui s'insèrent sur les tubules A et se terminent à proximité de la gaine centrale par un renflement. Sur chaque tubule A, les bras radiaires sont groupés par trois avec une périodicité de 96 nm. Les bras sont respectivement distants de 24 et de 32 nm, les groupes de 40 nm.

Les ponts de nexine unissent les doublets périphériques

Les 9 doublets périphériques sont unis par 9 filaments (ou ponts) de nexine.

L'axonème a un plan de symétrie passant par le doublet 1 et entre les doublets 5 et 6

Des numéros de 1 à 9 permettent de désigner les doublets. Le doublet 1 est celui dont la fibre radiaire est perpendiculaire à une droite passant par chacun des axes des deux tubules centraux. L'axonème a un plan de symétrie passant par le doublet 1 et entre les doublets 5 et 6. Les bras externe et interne de dynéine sont orientés dans le sens des aiguilles d'une montre lorsque les coupes sont observées de la base du cil vers son extrémité libre.

■ La zone de transition

Elle se situe entre la tige et le corpuscule basal; suivant l'origine des cils, elle peut être intracytoplasmique ou limitée par la membrane plasmique du cil. De toute manière, à son niveau :

- les deux tubules centraux s'interrompent;
- une *plaque basale*, encore appelée *axosome*, placée fréquemment au-dessous de la région où s'arrêtent les fibres centrales, obture cette zone dans sa partie supérieure : elle a la valeur d'un centre organisateur des deux MTs centraux et contient des germes de nucléation donc de polymérisation;
- la membrane cellulaire est caractérisée par un regroupement de protéines membranaires mises en évidence par les techniques de cryodécapage : cette région

porte le nom de *collier ciliaire*. Les protéines intramembranaires sont unies aux doublets par des liens délicats. Le collier ciliaire est une adaptation de la membrane plasmique de la base ciliaire, qui correspond à la zone de flexion du cil. Ce collier renforce la base ciliaire et limite l'amplitude du mouvement.

Chez les Mammifères et les Protozoaires, les doublets périphériques passent autour de la plaque basale et participent à la constitution du corpuscule basal (voir fig. 12.7).

■ Le corpuscule basal

Dans sa forme la plus simple, le corpuscule basal a 500 nm de long et 120 à 150 nm de large; il est de forme cylindrique. Les parois du cylindre sont constituées de 9 triplets (3 MTs dont 2 proviennent de l'axonème). Au niveau de la plaque basale, les triplets délimitent une circonférence; à l'autre extrémité, l'axe passant par le centre de chaque tubule d'un triplet s'incline de 50° par rapport au rayon du cylindre qu'il délimite. Le tubule additionnel situé en dehors du tubule B est désigné sous le nom de tubule C. Le tubule A de chaque triplet est lié au tubule C du triplet voisin par une ligne dense de 4,5 nm d'épaisseur. Neuf lamelles, ou fibres de transition, associent les triplets à la membrane plasmique.

Un dispositif en « roue de charrette » occupe la base du corpuscule basal : il peut parfois occuper la totalité du corpuscule.

■ Modifications post-traductionnelles stabilisatrices de la tubuline

La stabilité des MTs dépend de modifications post-transcriptionnelles de la tubuline. La tubuline α , immédiatement après sa synthèse, subit une polyglutamylation. D'autre part, la tubuline α est remplacée par un de ses variants, une tubuline α amputée de deux acides aminés situés dans l'extrémité carboxy-terminale.

■ La racine ciliaire

Cette racine ciliaire résulte de l'association de microfilaments parallèles les uns aux autres, où alternent des zones denses et claires (fig. 12.9). Elle part du corpuscule basal et, en fonction du type cellulaire, plonge plus ou moins loin dans le cytoplasme. Comme ces zones sont placées au même niveau d'un microfilament à l'autre, la racine ciliaire a un aspect strié dont la périodicité est de l'ordre de 70 nm. L'angle compris entre la racine ciliaire et le prolongement intracellulaire de l'axe de la tige est généralement aigu.

■ Les **racines ciliaires** assurent la propagation du stimulus déclenchant le mouvement ciliaire et seraient responsables du rythme métachrone. Elles jouent probablement un rôle d'ancrage du corpuscule basal, bien que leur point d'attache dans le cytoplasme ne soit pas connu. Elles sont constituées par un groupe de protéines (dont une protéine 175 kDa) qui constitue l'axe fibreux, tandis que la striation est constituée de plusieurs autres protéines.

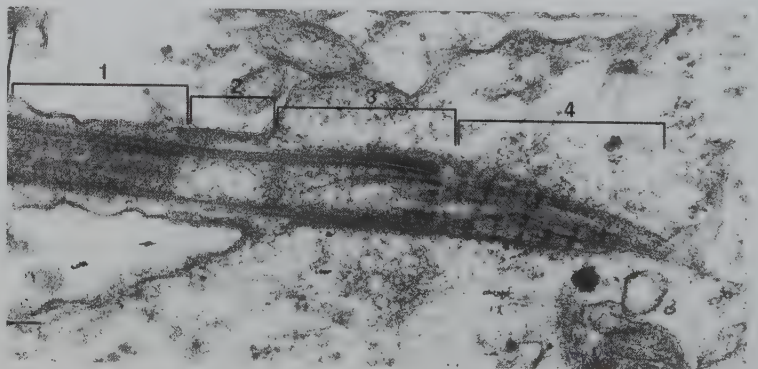


Fig. 12.9

Structure générale d'un cil.
1. Tige ciliaire. 2. Zone de transition. 3. Corpuscule basal. 4. Racine ciliaire.

Le battement ciliaire

Si l'axonème est indispensable aux mouvements ciliaires, la structure 9 doublets + 2 tubules centraux qui est la plus fréquente n'est pas obligatoire. Des modèles différents existent : par exemple, 9 + 1 chez les vers plats, 9 + 0 dans les flagelles des spermatozoïdes de l'anguille, chez l'éphémère ou la limule.

L'analyse de la forme du battement du cil est rendue difficile par la rapidité du mouvement. Un cil a entre 600 et 1 300 battements par minute. La vitesse angulaire est de 12° par milliseconde. Pour un cil qui aurait 12 μm de longueur, l'extrémité se déplacerait à une vitesse de 2,5 mm par seconde.

Il existe deux types de mouvements en fonction de la nature du cil :

- les *mouvements pendulaires* au cours desquels la tige reste rigide, sauf à sa base où elle se courbe pour permettre au cil des mouvements d'aller et retour; ce type de mouvement est rare;

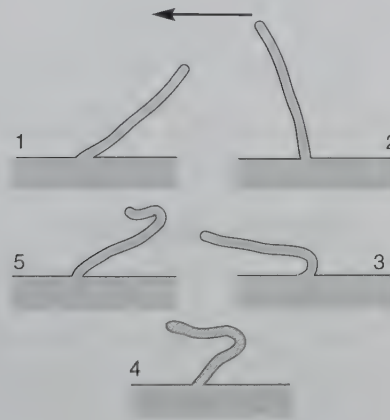
- les *mouvements en crochet* (fig. 12.10) qui comportent une phase active (ou efficace) et une phase de retour, de telle sorte que les produits liquides ou les particules balayées par les cils sont déplacés dans une seule direction. Ce mouvement se déroule dans un plan perpendiculaire à la membrane cellulaire. Pendant la phase efficace, la tige est en extension, légèrement recourbée; elle décrit un angle de 180° autour d'un point fixe, qui est la base du collier ciliaire. À la fin de la phase active, alors que l'extrémité distale de la tige continue à se déplacer dans la même direction, le segment proximal commence son mouvement de retour en amorçant une courbure. Le mouvement de retour se poursuit grâce à cette courbure qui gagne progressivement l'extrémité distale de la tige : la tige se redresse et revient à sa position de départ.

Fig. 12.10

Mouvement en crochet.

1 et 2. Mouvement efficace du battement ciliaire (dans le sens de la flèche).

3, 4 et 5. Mouvement de retour à la position initiale 1.



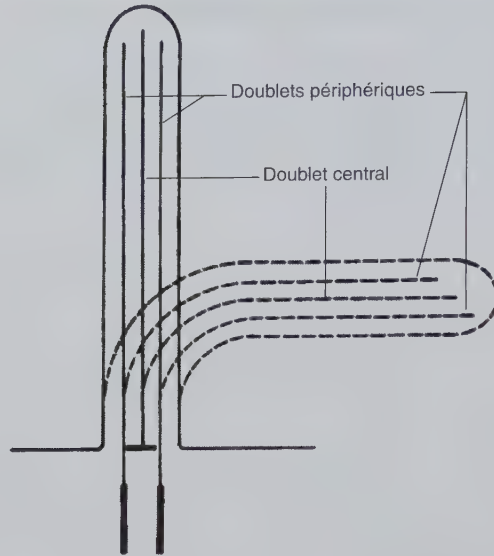
■ Mécanisme moléculaire

Au cours des mouvements ciliaires, les MTs ne se raccourcissent pas, mais ils glissent les uns par rapport aux autres.

Lorsque la tige est perpendiculaire à la surface cellulaire, les 9 doublets périphériques et le doublet central se terminent à égale distance de la membrane plasmique de l'extrémité du cil. Lorsque le cil est infléchi et qu'il est à peu près parallèle à la surface cellulaire, l'extrémité des différents doublets n'est pas située à égale distance de la membrane plasmique (fig. 12.11).

Fig. 12.11

Place des microtubules au cours de la flexion du cil. Lorsque le cil est infléchi, les différents doublets ne se terminent pas à égale distance de la membrane plasmique apicale.



Les doublets les plus proches de la surface cellulaire s'achèvent plus près de la membrane plasmique de l'extrémité de la tige que les doublets les plus éloignés. Ce fait d'observation implique que les doublets ont une longueur constante et que le mouvement ciliaire ne peut être provoqué que par un glissement des MTs les uns par rapport aux autres.

Un cil séparé de son corpuscule basal possède encore des mouvements ondulatoires. Un axonème isolé, plongé dans une solution saline contenant de l'ATP, a des mouvements ondulatoires : de tels faits impliquent que les éléments responsables de la motilité sont situés dans l'axonème et ne dépendent pas d'un moteur situé à sa base.

Le corpuscule basal interviendrait seulement dans la coordination des battements d'une bordure ciliaire et dans l'ancrage du cil par l'intermédiaire de la racine ciliaire.

■ Rôle de la dynéine

Les bras de dynéine sont formés par un très volumineux complexe protéique. Le bras interne s'achève par deux têtes globulaires, le bras externe par trois : chacune de ces têtes possède une activité ATPasique. Ces têtes sont liées à une racine commune par de fines chaînes flexibles. La racine se fixe sur la paroi du MT A.

Chaque tête est un pont d'hydrolyse de l'ATP. L'activité ATPasique des têtes de dynéine est stimulée par leur association avec les MTs B. Les têtes dirigent le glissement des MTs dans un cil selon un mécanisme analogue à celui des têtes de myosine dans le muscle strié : les bras de dynéine, en présence d'ATP, établissent un contact avec le doublet adjacent. Un cycle de changements de conformation de chaque tête (dépendant de la liaison et de l'hydrolyse de l'ATP) déplace les têtes de dynéine dans le sens base → sommet du cil, en direction de l'extrémité négative du MT sur lequel ces têtes sont fixées. Ces mouvements entraînent le doublet voisin vers le sommet de l'axonème.

La *force de flexion* est produite par le glissement des MTs. Un axonème dont les ponts de nexine et les fibres ont été détruits, en présence d'une faible concentration d'ATP, s'allonge d'une longueur neuf fois supérieure à sa longueur habituelle. En

effet, les bras de dynéïne qui n'ont pas été détruits provoquent un glissement des MTs les uns par rapport aux autres. Les liaisons latérales, lorsqu'elles sont intactes, convertissent le mouvement d'allongement en un mouvement de flexion.

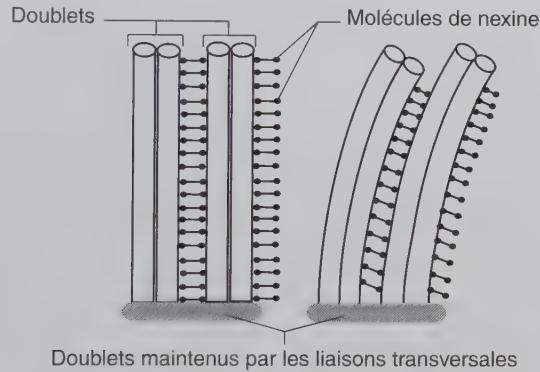
Donc, au début du cycle du mouvement, les jonctions entre les MTs sont situées au même niveau. Puis les points d'insertion des bras sur les tubules B se déplacent en direction de l'extrémité de la tige, provoquant ainsi un glissement des doublets les uns par rapport aux autres. Comme les doublets sont associés les uns aux autres par des liaisons transversales, il se produit une courbure des axonèmes (fig. 12.12). Cette courbure est plus importante au niveau de la zone de transition du cil (cette région est moins résistante puisque les bras sont absents).

Lors du début du mouvement de retour, le glissement des fibres les unes par rapport aux autres se fait dans une direction inverse, mais uniquement dans la région recourbée. Puis la région de glissement gagne progressivement l'extrémité distale de la tige, assurant le redressement complet.

L'énergie nécessaire au glissement actif provient de l'hydrolyse de l'ATP par la dynéïne en présence de Ca^{++} et de Mg^{++} . Le mouvement ciliaire est donc un mouvement de glissement ATP et dynéïne-dépendant.

Fig. 12.12

Flexion des doublets de l'axonème. Les mouvements de glissement des doublets les uns par rapport aux autres, grâce à l'action de la nexine, provoquent une courbure de ces doublets s'ils sont maintenus par des liaisons transversales.



■ Modulation de la vitesse et du sens du battement efficace

De nombreuses expériences ont été pratiquées sur la paramécie, un infusoire cilié. Lorsqu'une paramécie rencontre un obstacle au cours de son déplacement en avant, la membrane plasmique se dépolymérise, ce qui déclenche l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'augmentation du calcium associé à sa protéine de liaison, la *calmoduline*, inverse le sens du battement des cils. La paramécie recule.

L'utilisation de substances attirant les paramécies provoque l'ouverture des canaux potassiques, l'hyperpolarisation de la membrane plasmique, l'activation de l'adényl-cyclase et la production d'AMPc. L'AMPc déclenche la phosphorylation des protéines axonémiques et provoque une augmentation de la fréquence des battements ciliaires.

Groupements de cils en bordures ciliaires

Les bordures ciliaires sont des groupements fonctionnels de cils. Elles sont situées au niveau du pôle apical des épithéliums de mouvement. Ces bordures ont des mouvements coordonnés, c'est-à-dire que les cils s'agitent :

– suivant un rythme *isochrone* : ils battent en même temps ;

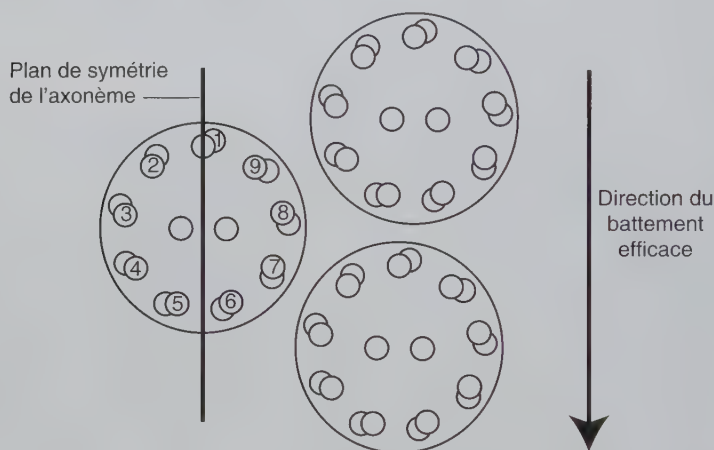
– ou selon un rythme *métachrone* : chaque cil a une position légèrement en avance par rapport à celui qui le précède; il se forme ainsi des vagues qui cheminent à la surface de l'épithélium.

Dans ce type de mouvement, la coordination dépend de la transmission de l'excitation. Il semble qu'elle passe d'un corpuscule basal au suivant et ainsi de suite avec une très grande rapidité.

La vitesse de déplacement de particules placées à la surface d'un épithélium cilié est de 6 à 35 mm par minute. Les mouvements des cils sont toujours dirigés dans la même direction. Dans une bordure ciliaire, l'axonème de chaque cil a la même orientation (fig. 12.13). L'axonème a une symétrie par rapport à un plan passant par le doublet 1 et entre les doublets 5 et 6 (chaque doublet est numéroté de 1 à 9 dans le sens des aiguilles d'une montre : le doublet numéro 1 étant celui dont le bras radiaire est perpendiculaire à un plan passant par l'axe de chacun des deux tubules centraux). Le mouvement efficace se fait suivant l'axe de symétrie, en direction d'un point situé entre les doublets 5 et 6.

Fig. 12.13

Bordure ciliaire : sens du battement des cils. Seul l'axonème est représenté. L'axonème est disposé de la même manière pour chacun des cils d'une bordure ciliaire. Le battement efficace se fait suivant l'axe de symétrie, en direction des doublets 5 et 6.



Les mouvements efficaces des cils d'une bordure ciliaire se font toujours dans le même sens. Après inversion d'un épithélium bronchique, les cils, au lieu de battre vers la trachée, battent en sens inverse, c'est-à-dire en direction des poumons. La synchronisation des battements dépend de la présence du corpuscule basal.

Les formations ciliaires se différencient à partir d'un corpuscule basal. Chacune d'elles est constituée par une tige cylindrique qui contient l'axonème (un complexe formé par neuf doublets périphériques et une paire de MTs centraux), une zone de transition qui unit la tige au corpuscule basal. Une racine ciliaire plus ou moins bien visible s'insère sur le corpuscule basal. Les mouvements ciliaires, en crochet, dépendent du glissement des MTs les uns par rapport aux autres, glissement provoqué par une protéine motrice, la dynéine, qui possède deux ou trois têtes ayant une activité ATPasique.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

AAA	ATPases Associated with various cellular Activities; ATPases associées à des activités cellulaires variées
ADP	Adénosine DiPhosphate
AMPC	Adénosine 3'-5' MonoPhosphate cyclique
ATP	Adénosine TriPhosphate
ATPasique	Adénosine TriPhosphatasique
cdc	cell division cycle; cycle de division cellulaire
GTP	Guanosine TriPhosphate
Hsp	Heat shock protein; protéine de choc thermique
MT	MicroTubule
MTOC	MicroTubule Organizing Center; centre organisateur des microtubules
NAP	Nucleosome Assembly Protein; protéine d'assemblage du nucléosome
NUMA	NUclear Mitotic Apparatus; appareil mitotique nucléaire
PCM	PeriCentriolar Material; matériel péricentriolaire

■ 1. Dans les MTOCs :

- ☐ 1. un centriole est toujours associé à du matériel péricentriolaire.
- ☐ 2. le centriole a une paroi constituée par des triplets (réunis par des filaments unitifs) dont les tubules les plus internes sont les tubules C.
- ☐ 3. le microtubule C des triplets comprend 12 à 13 protofilaments.
- ☐ 4. un lien linéaire formé par des microfilaments de nexine réunit les microtubules A et C des triplets voisins.
- ☐ 5. la partie distale des centrioles est occupée par un cylindre constitué par un matériel opaque réuni aux microtubules C par des rayons.

■ 2. Les MTOCs :

- ☐ 1. peuvent contenir des centrioles dont les satellites sont associés aux MTs centriolaires.
- ☐ 2. déterminent la polarité des microtubules dont l'extrémité positive se situe dans le matériel dense péricentriolaire.
- ☐ 3. déterminent la polymérisation des microtubules astériens.
- ☐ 4. se dupliquent avant la phase S.
- ☐ 5. sont responsables de la bipartition égale des chromosomes au cours de la mitose.

■ 3. Les MTOCs :

- ☐ 1. ne contiennent pas de centrioles dans les oocytes de Souris.
- ☐ 2. sont responsables de la bipartition des chromosomes au cours de la mitose.
- ☐ 3. contiennent des molécules de tubuline α .
- ☐ 4. sont toujours responsables de la polymérisation des MTs.
- ☐ 5. sont obligatoirement localisés dans la région occupée par l'appareil de Golgi.

■ 4. Les MTOCs :

- ☐ 1. ont toujours la même morphologie.
- ☐ 2. ont, en fonction des cellules qui les contiennent, des apparences très variées.
- ☐ 3. donnent naissance, au cours de la ciliogenèse, à de nombreux corpuscules basaux.
- ☐ 4. peuvent être localisés dans le noyau.
- ☐ 5. contrôlent le nombre de MTs d'une cellule.

■ 5. La séparation des MTOCs au cours de la prophase dépend :

- ☐ 1. des forces de répulsion générées par des MTs à polarité opposée.
- ☐ 2. de la présence d'une protéine motrice, la dynéine.
- ☐ 3. de la présence d'une protéine motrice, la kinésine.
- ☐ 4. de la présence simultanée de la kinésine et de la dynéine.
- ☐ 5. de la protéine Tau.

■ 6. Les MTOCs contrôlent :

- ☐ 1. le nombre de protofilaments constituant la paroi des MTs.
- ☐ 2. la polarité des MTs.
- ☐ 3. l'assemblage des MTs.
- ☐ 4. le lieu d'assemblage des MTs.
- ☐ 5. le moment de l'assemblage des MTs.

■ 7. Les cils vibratiles :

- ☐ 1. possèdent une plaque basale qui limite la zone de transition d'un cil vibratile et qui est traversée par les doublets périphériques.
- ☐ 2. ont, dans une bordure ciliaire, des mouvements pendulaires.

- ☐ 3. sont animés de mouvements en crochet qui comportent une phase efficace et une phase de retour.
- ☐ 4. ont des mouvements qui dépendent de la nexine.
- ☐ 5. peuvent avoir des mouvements efficaces dans les deux sens du battement.

■ 8. À propos des cils (et des flagelles des cellules eucaryotes) :

- ☐ 1. Au cours de la formation du cil, deux des trois MTs de chaque triplet du corpuscule basal s'allongent pour former chacun des doublets de l'axonème.
- ☐ 2. Les cils contiennent huit doublets disposés symétriquement par rapport à un plan vertical passant par l'axe de la tige ciliaire.
- ☐ 3. La dynéine ciliaire possède comme la dynéine cytoplasmique un domaine moteur qui hydrolyse l'ATP pour se déplacer le long d'un MT en direction de son extrémité négative.
- ☐ 4. La paire de microtubules centraux provoque la courbure des cils qui glissent par rapport aux doublets périphériques.
- ☐ 5. La plaque basale joue le rôle d'un MTOC.

■ 9. Les corpuscules basaux :

- ☐ 1. sont nécessaires aux mouvements ondulatoires des cils.
- ☐ 2. sont associés les uns aux autres par les racines ciliaires.
- ☐ 3. ne contiennent pas de dispositif en roue de charrette.
- ☐ 4. possèdent un axonème dont les microtubules C sont circulaires en coupe transversale.
- ☐ 5. sont des MTOCs.

■ 10. À propos des centrioles et des cils :

- ☐ 1. Les satellites péricentriolaires n'entrent jamais en contact avec les centrioles.
- ☐ 2. La thymidine tritiée est incorporée par les corpuscules basaux.
- ☐ 3. Les centrioles baignent dans un matériel péricentriolaire qui contient une protéine PCM 1 de 228 kDa dans la zone proximale de la membrane ciliaire.

- ☐ 4. La tige ciliaire s'interrompt au niveau de la membrane plasmique apicale de la cellule pour se transformer en une zone de transition.
- ☐ 5. Le collier ciliaire est caractérisé par la présence de granules intramembranaires dans la zone proximale de la membrane ciliaire.

■ 11. La tektine :

- ☐ 1. est une molécule fibrillaire localisée dans les bras unissant les microtubules A et B.
- ☐ 2. est une molécule globulaire de 2 à 3 nm de diamètre.
- ☐ 3. interviendrait dans la formation de la paroi commune entre le microtubule A et le microtubule B.
- ☐ 4. est une molécule apparentée aux IFs.
- ☐ 5. déterminerait la position sur le MT de structures périodiques.

■ 12. Les substances ayant une action chimiotactique positive sur les paramécies provoquent :

- ☐ 1. une dépolymérisation de la membrane plasmique.
- ☐ 2. une ouverture des canaux calciques.
- ☐ 3. l'activation de l'adénylcyase.
- ☐ 4. la production d'ATP.
- ☐ 5. la phosphorylation des protéines axonémiques.

■ 13. Dans les paramécies, le sens des battements ciliaires dépend :

- ☐ 1. de l'ouverture des canaux calcium-dépendants.
- ☐ 2. de l'ouverture des canaux potassiques.
- ☐ 3. du taux de calcium.
- ☐ 4. de l'association de la calmoduline avec le calcium.
- ☐ 5. de la concentration de l'AMPc.

■ 14. Les mouvements ciliaires :

- ☐ 1. peuvent être des mouvements en crochet.
- ☐ 2. sont parfois des mouvements pendulaires.
- ☐ 3. dépendent des corpuscules basaux.

- ☐ 4. sont la conséquence du glissement des doublets les uns par rapport aux autres.
- ☐ 5. dépendent de l'ATP et de la nexine.

■ 15. La dynéine :

- ☐ 1. est une GTPase.
- ☐ 2. est une ATPase.
- ☐ 3. possède un bras interne porteur de 2 têtes globulaires.
- ☐ 4. possède un bras externe porteur de 3 têtes globulaires.
- ☐ 5. se comporte vis-à-vis des doublets comme une molécule de myosine.

1.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	F

1. Les MTOCs ne possèdent pas toujours de centrioles ou un diplosome : par exemple les MTOCs des ovocytes de *Souris* ou les MTOCs des cellules végétales.

2. Dans un triplet, le MT le plus interne est le MT A.

3. C'est le MT A qui est constitué par 12 à 13 proto-filaments.

5. La partie distale d'un centriole est occupée par un cylindre central qui est réuni au MT A par des rayons.

2.

1	2	3	4	5
V	F	V	F	V

2. L'extrémité négative des MTs plonge dans le matériel péricentriolaire.

4. Les MTOCs se dupliquent pendant la phase S.

3.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	F

3. Les MTOCs contiennent de la tubuline γ et jamais de tubuline α ou β .

5. Leur localisation est variable : ils peuvent être situés au voisinage du cortex cellulaire (ovocyte de *Souris*) ou à chacun des pôles d'une cellule (cellule en mitose).

■ 16. Dans un épithélium cilié :

- ☐ 1. la coordination des battements ciliaires dépend des corpuscules basaux.
- ☐ 2. la vitesse de déplacement des particules placées à la surface de l'épithélium est de 6 à 35 mm/min.
- ☐ 3. la direction des battements de l'ensemble des cils de la bordure ciliaire dépend de la disposition des axonèmes les uns par rapport aux autres.
- ☐ 4. les mouvements sont toujours dirigés dans la même direction.
- ☐ 5. l'inversion de l'épithélium bronchique, dont les cils battent dans la direction de la trachée, modifie la direction du battement qui se fait alors en direction du poumon.

4.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. Les MTOCs ont une apparence extrêmement variable. Note : la localisation intranucléaire des MTOCs s'observe dans les champignons.

5.

1	2	3	4	5
F	V	F	F	F

1. 3. 4. 5. La séparation des chromosomes dépend uniquement de la dynéine qui est fixée sur les MTs au niveau de la zone de chevauchement.

6.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

7.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	F

1. Les doublets périphériques passent en dehors de la plaque basale.

4. Les mouvements de glissement des MTs dépendent de la dynéine.

5. Le mouvement efficace ne peut se faire que dans le sens doublet 1 $\rightarrow$ doublet 5-6.

8.

1	2	3	4	5
V	V	V	F	V

4. Les deux tubules centraux n'interviennent pas dans la courbure des cils.

9.

1	2	3	4	5
F	F	F	F	V

1. Un cil isolé de son corpuscule basal possède encore des mouvements ondulatoires.
2. Les corpuscules basaux ne sont pas associés par les racines ciliaires.
3. Ils contiennent un dispositif en roue de charrette dans leur partie distale.
4. Le tubule C a la forme d'un croissant en coupe transversale.

10.

1	2	3	4	5
F	F	F	V	V

1. Ce sont les MTs qui n'entrent jamais en rapport avec le centriole.
2. Il n'existe pas d'association entre les racines ciliaires.
3. La protéine PCM 1, protéine centrosomale de 228 kDa, est étroitement associée au centrosome pendant les phases G1, S et une partie de G2. Elle se disperse dans la cellule au cours de la mitose.

11.

1	2	3	4	5
F	F	V	V	V

1. 2. C'est une molécule fibrillaire de 2 à 3 nm de diamètre qui interviendrait dans la formation de la paroi commune entre les MTs A et B.

12.

1	2	3	4	5
F	V	V	F	V

1. Les substances qui attirent les paramécies provoquent une hyperpolarisation de la membrane plasmique.

4. Ces substances déclenchent la production d'AMPc.

13.

1	2	3	4	5
V	F	V	V	F

2. L'augmentation de la concentration en potassium augmente la fréquence des battements ciliaires en provoquant une cascade de réactions : l'hyperpolarisation de la membrane plasmique, l'activation de l'adénylcyclase, la production d'AMPc.
5. L'AMPc déclenche la phosphorylation des protéines de l'axonème et l'augmentation de la fréquence des battements ciliaires.

14.

1	2	3	4	5
V	V	F	V	V

3. Les corpuscules basaux sont sans action sur les mouvements ondulatoires. Une tige isolée, en présence d'ATP, est animée de mouvements. Les corpuscules basaux jouent un rôle dans la coordination des mouvements ciliaires.

15.

1	2	3	4	5
F	V	V	V	V

1. La dynéine a une activité ATPasique.

16.

1	2	3	4	5
V	V	V	V	V

ENTRAÎNEMENT

QROC

Questions

■ 1. Quels rôles jouent les centrosomes ?

■ 2. Quel système complexe renferme la portion distale d'un centriole ?

■ 3. Citez un exemple de cellules contenant des centrosomes acentriolaires.

■ 4. Quel nom donne-t-on aux polymères qui constituent la paroi des MTs centriolaires ?

■ 5. Comment sont constitués des protofilaments ?

■ 6. Qu'est-ce qu'un cytaster ?

■ 7. Quelle est la localisation de la centrine?

■ 8. Énumérez les fonctions de la centrine.

■ 9. Quelle molécule intervient dans le positionnement et l'orientation du centrosome?

■ 10. Quel est le composant habituel des centrosomes impliqués dans l'organisation initiale des microtubules?

■ 11. Énumérez les fonctions de la péricentrine.

■ 12. Énumérez les protéines contenues dans les centrosomes.

■ 13. Quel rôle joue la tubuline γ ?

■ 14. Décrire schématiquement l'expérience qui démontre le rôle de la tubuline γ .

■ 15. Dans quel sens s'effectue la croissance des microtubules?

■ 16. Quelle est l'extrémité des microtubules qui plonge dans le matériel péricentriolaire?

■ 17. À quel stade du cycle cellulaire les MTOCs se dupliquent-ils?

■ 18. Que provoque l'introduction d'un anticorps anti-tubuline γ dans une cellule de Mammifère?

■ 19. Quelle est la protéine intervenant dans la séparation des centrosomes au cours de la prophase?

■ 20. Quel est l'organite responsable de la ciliogenèse?

■ 21. Dans quel sens battent les cils par rapport à une ligne virtuelle passant par le centre des deux microtubules centraux?

■ 22. Quelle est la protéine fibrillaire qui longe la paroi des doublets périphériques entre les microtubules A et B?

■ 23. Quelle est la structure de la membrane plasmique qui limite la zone de transition?

■ 24. Quel est le rôle de la racine ciliaire?

■ 25. Quelle est la condition nécessaire pour que le mouvement de glissement des doublets d'un cil soit transformé en un mouvement de flexion?

■ 26. Citez deux molécules nécessaires au battement des cils.

■ 27. Dans quel sens les cils battent-ils?

■ 28. Quel dispositif ciliaire convertit le mouvement de glissement des MTs en mouvement de flexion?

■ 29. Qu'est ce qui provoque l'inversion des mouvements ciliaires chez la paramécie?

■ 30. De quel mécanisme dépend l'augmentation de la fréquence des battements ciliaires?

1. Les centrosomes interviennent dans la nucléation des microtubules, la formation du fuseau mitotique et des corpuscules basaux des cils et des flagelles.

2. Le système en roue de charrette qui n'existe que pendant la phase d'élongation du centriole.

3. Les ovocytes de *Souris* contiennent, au moment de la méiose, des centrosomes acentriolaires.

4. Protofilament.

5. Les protofilaments sont des polymères du dimère $\alpha\beta$.

6. Ce sont des foyers cytoplasmiques corticaux proches du cortex cellulaire (par exemple dans l'oocyte de *Souris*) qui contiennent un matériel analogue au matériel péricentriolaire sans centriole et qui sont susceptibles d'induire la polymérisation de microtubules.

7. La centrine est localisée dans les centrosomes, les centrioles, les corpuscules basaux et le fuseau mitotique.

8. La centrine intervient dans la duplication des centrosomes au cours du cycle cellulaire, le positionnement et l'orientation du centrosome, la ségrégation du fuseau mitotique.

9. La centrine.

10. La péricentrine.

11. La péricentrine est un composant habituel des centrosomes impliqués dans l'organisation initiale des microtubules. Elle contrôle donc la mitose et la méiose in vivo.

12. Une protéine fibreuse de 160 kDa, la centrine, la péricentrine, PCM1 (pericentriolar material 1), l'actine, la tubuline γ , une chaperonine Hsp70.

13. La tubuline γ présente dans les MTOCs de toutes les cellules animales ou végétales, assure la nucléation des microtubules en interagissant avec le dimère de tubuline $\alpha\beta$.

14. L'introduction, dans une cellule de Mammifères, d'un anticorps antitubuline γ bloque le cycle cellulaire en inhibant la formation du fuseau mitotique.

15. La croissance des microtubules se fait en direction de la périphérie cellulaire.

16. L'extrémité négative.

17. La duplication (sans migration) se produit au cours de la phase S par formation de 2 procen- trioles, un pour chaque centriole.

18. Le blocage du cycle cellulaire : l'anticorps anti- tubuline inhibe la formation du fuseau mitotique.

19. La dynéine : l'injection d'anticorps anti- dynéine pendant la prophase inhibe la séparation

des centrosomes.

20. Au moment de la ciliogenèse, les MTOCs donnent naissance à de nombreux corpuscules basaux qui se disposent sous la membrane plasmique apicale et assurent la différenciation des cils.

21. Ils battent perpendiculairement à cette ligne.

22. La tektine.

23. La membrane cellulaire est caractérisée par le regroupement de protéines membranaires qui constituent le collier. Les particules constituées par les molécules regroupées sont réunies aux doublets périphériques par des liens.

24. La racine ciliaire assure la propagation du stimulus qui déclenche le mouvement ciliaire respon- sable du rythme métachrone.

25. Les mouvements de glissement ne sont transformés en un mouvement de flexion que si les doublets sont maintenus dans les cils par des liaisons transversales, par les ponts de nexine et les fibres radiaires.

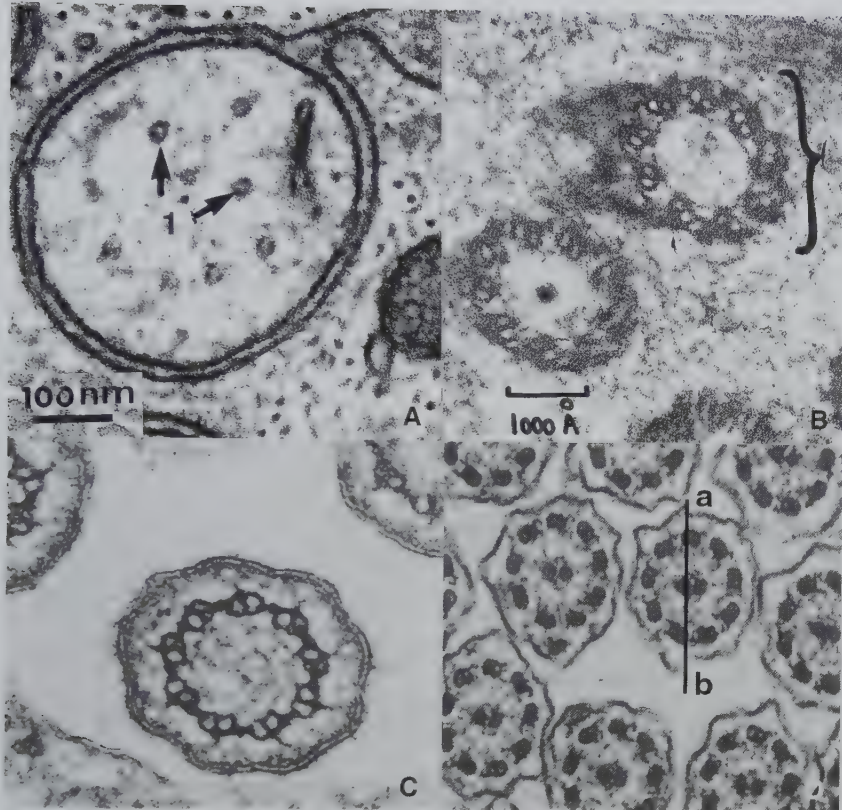
26. La dynéine et l'ATP.

27. Ils battent selon le plan de symétrie qui passe par l'axe du doublet 1 et entre les doublets 5 et 6 : le mouvement efficace se déroule dans le sens doublet 1 $\rightarrow$ doublets 5 et 6.

28. Les ponts de nexine et les fibres radiaires.

29. L'augmentation du calcium associé à sa protéine de liaison, la calmoduline.

30. De l'augmentation de la concentration de l'AMPc.



■ Cliché A. Les flèches 1 désignent :

1. des MFs en coupe transversale.

■ Cliché B. Les deux organites figurant sur le cliché :

1. constituent un diplosome.

2. sont des corpuscules basaux en coupe transversale.

■ Cliché C. La structure qui occupe le centre du cliché :

1. est une tige ciliaire coupée dans sa partie apicale.

2. est une tige ciliaire coupée dans sa partie moyenne.

3. est la zone de transition d'un cil en coupe transversale.

■ Cliché D. Un trait occupe le plan de symétrie d'un cil; dans quel sens se produit le battement efficace?

1. dans le sens AB.

2. dans le sens BA.

■ Cliché A :

1. *F. MTs en coupe transversale*

■ Cliché B :

1. *F.*

2. *V.*

■ Cliché C :

1. *F.*

2. *F.*

3. *V.*

■ Cliché D :

1. *V.*

2. *F.*

A

α -actinine, n. f. – Molécule appartenant à la famille des protéines de liaison de l'actine qui est capable d'ancrer non seulement les MFs les uns aux autres mais également à une très grande variété de structures intracellulaires. Le domaine de fixation de l' α -actinine est constitué par les 250 premiers résidus aminés de la protéine. Elle se fixe à l'extrémité positive des microfilaments d'actine. Elle est engagée dans la constitution de faisceaux larges de MFs des cellules non-musculaires. Elle participe à la constitution des disques Z des myocytes squelettiques et cardiaques.

Acétyl, n. m. – Élément tiré d'acétyle. Groupement chimique dérivé de l'acide acétique entrant dans la formation de mots composés en chimie et indiquant la présence du radical $\text{CH}_3\text{-CO}$ dérivant de l'acide acétique.

Acétyl CoA – V. acétyl coenzyme A.

Acétyl coenzyme A, n. m. – Molécule qui joue le rôle d'un intermédiaire-clé dans de multiples métabolismes, formé par l'association d'un radical acétyl et du coenzyme A. Le coenzyme A est formé de trois composants : la cystéamine, l'acide pantothénique et un ADP. Le coenzyme transporte les radicaux acétyl produits par le catabolisme du pyruvate résultant de la β -oxydation des acides gras dans la mitochondrie, de l'oxydation des acides gras à longue chaîne carbonée dans le peroxy-some. Syn. **acyl-CoA**, **acétyl CoA**.

Acétylation, n. f. – Transfert d'un radical acétyl à un sucre ou à une protéine (formation d'une liaison covalente).

Acétylcholine, n. f. – Neurotransmetteur libéré par la membrane présynaptique de la plaque motrice. Elle assure la transmission de l'influx nerveux au muscle strié. Elle est également un neurotransmetteur dans le cerveau et le système nerveux périphérique.

Acide aminé – Sous-unité élémentaire (monomère) dont l'assemblage constitue les protéines. Il s'agit d'une classe de composés répondant à la formule générale $\text{R CH (NH}_2\text{)COOH}$ (R symbolise une chaîne latérale distincte). Il existe environ une vingtaine d'acides aminés (ils peuvent être désignés soit par un code à trois lettres, soit par un code international à une seule lettre : glycine (Gly, G), alanine (Ala, A), valine (Val, V), leucine (Leu, L), isoleucine (Ile, I), sérine (Ser, S), thréonine (Thr, T), lysine (Lys, K), arginine (Arg, R), histidine (His, H), acide aspartique (Asp, D), asparagine (Asn, N), acide glutamique (Glu, E), proline (Pro, P), tryptophane (Trp, W), phénylalanine (Phe, F), tyrosine (Tyr, Y), méthionine (Met, M), cystéine (Cys, C).

Acide arachidonique – Acide gras (20 atomes de carbone et 4 doubles liaisons) entrant dans la composition de phospholipides des membranes plasmiques. Un précurseur des prostaglandines, considéré comme essentiel dans l'alimentation animale. La phospholipase A2 activée par une protéine G trimérique le libère des phospholipides qu'il constitue. Il donne naissance par clivage aux eicosanoïdes.

Acide glycuronique ou glucuronique – Molécule de la famille des sucres. Il entre dans la constitution des glucosaminoglycanes et des protéoglycanes. Il intervient dans le mécanisme de détoxification en se combinant (glycuro-conjugaison) dans le RE à des molécules toxiques.

Acide sialique – Syn. acide neuraminique.

Acidification, n. f. – Mécanisme qui abaisse le pH d'un compartiment membranaire intracellulaire par entrée de protons sous l'action d'un transporteur actif, l' H^+ -ATPase (ATPase à protons), présent dans la membrane du compartiment.

Acini (pluriel de acinus), n. m. – Groupe de cellules à sécrétion exocrine, limitant une cavité en communication par un canal avec le milieu externe.

Aconitase, n. f. – Enzyme qui catalyse un intermédiaire du cycle de Krebs, le *cis*-aconitate en isocitrate.

Acrocentrique, adj. – Qualifie un chromosome dans lequel la position du centromère est subterminale.

Actinomycine D – Substance lytique produite par la culture d'un actinomycète *Streptomyces albus*. Elle inhibe l'ARN polymérase.

Acyle – Radical monovalent R-CO- des acides carboxyliques (le nom « acyle » s'emploie pour désigner le radical seul, le préfixe « acyl- » s'emploie dans les noms composés de molécules).

Adénine, n. f. – Base purique contenue dans l'ADN, l'ARN, l'ATP, NAD, NADP, FAD, FMN.

Adénovirus, n. m. – Groupe de virus à ADN. Les adénovirus humains sont responsables de pharyngites, de conjonctivites, d'adénites. Certains d'entre eux sont oncogènes.

Adipocyte, n. m. – Cellule conjonctive spécialisée dans le stockage des lipides.

ADN polymérase, n. f. – Enzyme qui catalyse la synthèse d'ADN, en ajoutant des désoxyribonucléotides à l'ADN. L'ARN polymérase ajoute des ribonucléotides à l'ARN.

ADN répétitif – Séquences de désoxyribonucléotides existant chez la majorité des Eucaryotes, longues de 10 à 1 000 bases et qui peuvent être répétées plusieurs milliers de fois, sinon plus. Ces séquences ne semblent coder aucune protéine.

ADN satellite – Courte séquence d'ADN répétitive dont la composition moyenne en bases est différente de celle de la majorité de l'ADN du génome. Il n'est pas transcrit. Il occupe la région centromérique des chromosomes des Eucaryotes.

Adrénodoxine, n. f. – Chromoprotéine (hétéroprotéine possédant un groupe prosthétique coloré) isolée du cortex surrénalien.

Adressage, n. m. – Procédé par lequel est définie l'adresse ce qui, en biologie cellulaire, correspond à la distribution d'un composé ou d'une structure particulière à un organe ou à la membrane plasmique.

Aérobic, adj. et n. m. – Qualifie les organismes ou les réactions chimiques qui ont besoin d'oxygène libre. Organisme qui ne peut se développer qu'en présence d'air ou d'oxygène libre.

Agoniste n. m. et adj. – Substance dont l'interaction avec un récepteur engendre un stimulus qui produit un effet correspondant à celui du ligand normal de ce récepteur. Ant. antagoniste.

Albinisme, n. m. – Maladie génétique, caractérisée par l'absence de pigments mélaniques dans la peau, le système pileux et les yeux.

Aldéhyde, n. m. – Substance organique possédant un groupement $-HO$.

Aldostérone, n. f. – Hormone antidiurétique qui favorise la rétention du $ClNa$ et de l'eau. Elle appartient à la famille des stéroïdes. Elle est synthétisée dans la cortico-surrénale à partir du cholestérol par les cytochromes P450 de la mitochondrie et du RE.

Aliphatique, adj. – Qualifie les corps chimiques dont la chaîne carbonée est linéaire.

Alkylant, n. m. et adj. – Composé intervenant dans la fixation d'un groupement alkyl sur une molécule organique. Les agents alkylants sont des agents extrêmement réactifs qui peuvent se fixer sur les bases de l'ADN, provoquant ainsi des erreurs dans la réplication. Il s'agit donc de molécules ayant des propriétés mutagènes (exemple : le gaz moutarde).

Allélomorphe, n. m. et adj. – Définit les deux chromosomes d'une même paire, l'un d'origine paternelle, l'autre maternelle.

Allostérique, adj. – Qualifie certaines protéines dont la structure spatiale subit un changement sous l'influence de petites molécules qui agissent en des endroits spécifiques de la molécule.

Alvéolaire, adj. – Qui se rapporte aux cavités pulmonaires (voir alvéole pulmonaire) où s'effectuent les échanges gazeux liés à la respiration.

Alvéoles pulmonaires – Cavités de petites dimensions, culs-de-sac terminaux des subdivisions bronchiques, limitées par un épithélium à travers lequel s'effectuent les échanges respiratoires.

Amino-terminal, e, adj. – Groupement aminé NH_2 situé en position terminale sur une molécule.

AMP cyclique (AMPC) – Adénosine monophosphate de structure cyclique : le groupement phosphate porté par le carbone 5 du ribose est lié de façon covalente au carbone 3.

Amphipathique, adj. – Se dit d'une substance ayant une affinité pour deux solvants non miscibles. Les substances amphipathiques (ou amphiphiles) ont une extrémité polaire (pôle hydrophile) et une extrémité apolaire (pôle lipophile ou hydrophobe).

Amphiphile, adj. – Qualifie une molécule possédant une extrémité polaire solvatée par l'eau et une longue chaîne carbonée qui ne l'est pas.

Amylase hépatique – Enzyme d'origine hépatique qui catalyse la dégradation de l'amidon en maltose et en dextrines.

Anabolisme, n. m. – Phase du métabolisme comprenant les phénomènes d'assimilation et la synthèse de nouvelles molécules à partir de précurseurs simples. Ant. catabolisme.

Anaérobic, adj. et n. m. – Qualifie des micro-organismes qui se développent normalement dans un milieu dépourvu d'oxygène. Les anaérobies facultatifs sont des organismes qui vivent en présence ou en absence d'oxygène. Les anaérobies stricts sont des organismes qui ne peuvent vivre en présence d'oxygène.

Analogue, n. m. – Composé chimique structurellement semblable à un autre, mais qui diffère légèrement dans la composition par la présence d'un groupe fonctionnel particulier. Les analogues ont des fonctions identiques ou semblables.

Androgène, adj. et n. m. – 1. Qualifie une substance qui induit l'apparition des caractères sexuels mâles. 2. Substances hormonales mâles de la famille des stéroïdes, synthétisées par les cytochromes P450 mitochondriale et du RE dans les cellules interstitielles (cellules de Leydig) du testicule et dans certaines cellules du cortex surrénalien.

Anion, n. m. – Ion possédant une ou plusieurs charges électriques négatives. Ant. cation.

Ankyrine, n. f. – Protéine permettant la liaison d'éléments du cytosquelette sur la membrane plasmique.

Anode, n. f. – Électrode positive.

Anoxie, n. f. – Diminution très importante de la quantité d'oxygène que le sang distribue aux tissus.

Anticodon, n. m. – Trois bases portées par une boucle des ARNt (boucle anticodon), complémentaires d'un triplet (ou codon) de l'ARNm.

Anticorps, n. m. – Glycoprotéine du groupe de globulines produites par les plasmocytes et pouvant se fixer spécifiquement sur un antigène. Sa formation est provoquée soit par des éléments exogènes introduits dans l'organisme, soit par des éléments endogènes. Il possède deux sites de surface identiques, complémentaires d'un site antigénique présent sur une molécule étrangère et pouvant s'y fixer. Il s'oppose ainsi à l'action de l'antigène.

Antigène, n. m. – Molécule (protéique ou non) ou fragment d'une molécule qui est considérée comme étrangère à un organisme vivant par le système immunitaire de cet organisme. Déclenche la réaction immunitaire et, dans certains cas, la production d'anticorps.

Antigènes de surface – Certains composants membranaires s'étendent hors de la membrane, dans le cell coat, et exposent leurs groupes chimiques dont une des activités est antigénique. Les antigènes peuvent être soit des enzymes, soit des récepteurs hormonaux, soit des composants structuraux.

Apical, e, adj. – Qui est proche du sommet d'une cellule. Dans une cellule polarisée la région apicale est en relation avec le milieu extérieur (par ex. : les entérocytes, dont le pôle apical est en contact avec la lumière intestinale et le pôle basal avec le milieu intérieur).

Apocytochrome, n. m. – Cytochrome dépourvu de son groupe prosthétique.

Apoptose, n. f. – Mort cellulaire génétiquement programmée.

Astrocyte, n. m. – Cellule névroglique du système nerveux central.

Ataxie, n. f. – Incoordination des mouvements volontaires musculaires, symptomatiques de certaines affections nerveuses. Ataxie cérébelleuse : ataxie due à une lésion du cervelet.

Autohisoradiographie, n. f. – Lors de la synthèse d'une substance dont on veut connaître le métabolisme, un isotope radioactif est introduit dans la molécule (soit le carbone, l'iode, le soufre, etc.). Si, par exemple, on désire connaître le chemin parcouru par la cystéine dans le cartilage, on introduit du soufre 35 dans la molécule de cystéine. Cet acide aminé est injecté à plusieurs rats qui seront sacrifiés à des intervalles réguliers, par exemple 4 h, 8 h, 12 h, 24 h après l'injection. On prélève le cartilage, on le coupe après inclusion à la paraffine. Sur les coupes étalées, on verse une émulsion photographique liquide qui, en séchant, forme une pellicule sur les cellules : les régions occupées par l'isotope réduisent l'argent à leur contact. La coupe est traitée ensuite comme une pellicule photographique (révélateur, puis fixateur), de telle sorte que les grains d'argent réduits apparaissent. Cette coupe est ensuite colorée. On peut ainsi localiser avec précision les régions où se situe l'isotope, donc la substance marquée. L'échelonnement des prélèvements dans le temps permet de suivre le devenir de cette substance. Dans le cas du cartilage, elle se localise d'abord dans les cellules, puis dans la substance fondamentale : la cellule incorpore donc cet acide aminé pour élaborer la substance fondamentale.

Autophagie, n. f. – Destruction, par la cellule, de ses propres structures dans une vacuole appelée autophagolysosome.

Autophagolysosome, n. m. – Il se forme à partir d'un autophagosome dont la paroi est constituée par du REL : des vésicules à hydrolases déversent leurs enzymes dans l'autophagosome qui se transforme ainsi en autophagolysosome.

Autosome, n. m. – Tout chromosome qui n'est pas un chromosome sexuel.

Autotrophe, adj. – Qualifie une cellule qui peut synthétiser toutes ses molécules organiques à partir d'éléments minéraux.

Axone, n. m. – Prolongement d'une cellule nerveuse dans lequel l'influx chemine en s'éloignant de la cellule.

B

Bactérie, n. f. – Cellule procaryote, dépourvue de noyau individualisé, c'est-à-dire sans enveloppe nucléaire, possédant un ADN circulaire.

Base, n. f. – 1. Substance qui, ajoutée dans une solution, fait décroître la concentration en ions H^+ de cette solution. 2. Abréviation utilisée pour les bases puriques (adénine : A, guanine : G) et pyrimidiques (cytosine : C, uracile : U, thymine : T) qui participent à la constitution des nucléotides.

Basophile, adj. – Se dit en général d'un colorant ayant une affinité tinctoriale pour les structures basiques.

Bâtonnet, n. m. – Structure en forme de bâton. Cellule neurosensorielle de la rétine, constituée de deux articles, un article externe et un article interne, et d'un corps cellulaire.

Béryll, n. m. – Silicate naturel d'aluminium et de béryllium, de couleur variable.

Bicaténaire, adj. – Se dit d'une molécule formée de deux chaînes.

Biogenèse, n. f. – Théorie biologique, opposée à celle de la génération spontanée et selon laquelle un être vivant ne peut provenir que d'un être vivant. Production, dans l'organisme, de substances biologiques ou d'organites cellulaires : biogenèse des hormones.

Biosynthèse, n. f. – Synthèse de molécules biologiques, formation d'une substance organique dans un être vivant.

Blastula, n. f. – Stade du développement embryonnaire, caractérisé par la formation d'une cavité, le blastocèle. Il survient immédiatement après le stade morula (premier stade du développement embryonnaire), représenté par la segmentation de l'œuf fécondé sous forme d'une petite sphère à surface mamelonnée.

Boîte CAAT – Séquence d'ADN appartenant à la séquence promoteur de nombreux gènes eucaryotes.

Boîte GC – Courte séquence d'ADN existant dans le promoteur de certains gènes eucaryotes.

Boîte Pribnow – Séquence d'ADN formée de six nucléotides, qui fait partie du promoteur des gènes bactériens.

Boîte TATA – Séquence d'ADN qui fait partie du promoteur de la plupart des Eucaryotes.

Bordure en brosse – Expression utilisée pour désigner la surface de l'épithélium rénal en contact avec la lumière intestinale, surface qui porte de nombreuses microvillosités. La même structure située au pôle apical des enté-

rocytes doit être qualifiée de plateau strié (les microvillosités sont plus régulières et moins longues).

Boucle anticodon – Boucle d'un ARNt formée de 7 nucléotides, porteuse de l'anticodon.

Bras accepteur – Extrémité 3'OH d'un ARNt qui se fixe à un acide aminé spécifique de cet ARNt et forme ainsi un aminoacyl-ARNt.

Bréfeldine A (BFA), n. f. – Antibiotique d'origine fongique qui bloque l'activation de l'ARF (facteur de ribosylation de l'adénine diphosphate), inhibe la sécrétion et favorise le flux dans le sens Golgi → REG. Elle bloque temporairement le flux membranaire vectoriel permanent, désorganisant ainsi les compartiments du système endomembranaire. Cette désorganisation est réversible. La bréfeldine empêche l'échange du GDP par le GTP au niveau des petites protéines G de type ARF. Elle inhibe la formation des coatomères, empêchant tout bourgeonnement de vésicules à partir du RE ou du Golgi. Elle agit de même, uniquement pour l'appareil de Golgi, en inhibant l'organisation du revêtement de clathrine.

C

C-terminal, e, adj. – V. carboxy-terminal.

Cadhérine, n. f. – Superfamille de glycoprotéines (appartenant aux CAMs) localisées dans la membrane plasmique. Les cadhérines sont responsables de l'adhérence intercellulaire en présence de Ca^{++} dans le milieu extracellulaire.

Cadre de lecture – Ordonnement des nucléotides en codon. Une succession de bases d'un ARNm pourrait théoriquement être lue de trois façons différentes. Le cadre de lecture définit quel ensemble de 3 nucléotides est lu comme un codon. L'ordre de départ de la traduction est spécifié par un codon, le codon AUG, lequel initie cette traduction. Une délétion d'une seule base dans le gène de l'ARNm modifie le cadre de lecture, de telle sorte que le gène ne peut plus coder pour une protéine normale.

Calcitonine, n. f. – Hormone hypocalcémisante, sécrétée par les cellules parafolliculaires de la glande thyroïde.

Canal ionique – Complexe moléculaire transmembranaire qui assure le transport passif et dont l'ouverture est soit potentiel-dépendant, soit ligand-dépendant. V. protéine porteuse perméase.

Canalicule biliaire – Formation canalaire dont les limites sont les membranes plasmiques de deux hépatocytes se faisant face : chacune de ces faces est déprimée par une hémi-gouttière. Ces canalicules se regroupent dans les passages de Boll qui déversent leur produit de sécrétion, la bile, dans les canaux biliaires intralobulaires.

Capping, n. m. – Anglicisme. Formation d'une coiffe. Il serait logique de remplacer ce terme par « redistribution polaire ». Le capping ou redistribution polaire est un phénomène actif de diffusion des glycoprotéines membranaires se déroulant dans le plan de la membrane plasmique. Il a été étudié sur des

lymphocytes mis en présence d'anticorps dirigés contre les glycoprotéines membranaires de cette cellule.

Carboxyle, n. m. – Radical COOH caractérisant la fonction acide en chimie organique.

Carboxy-terminal ou C-terminal, e, adj. – Radical COOH situé en position terminale d'une molécule.

Carcinogène, n. m. et adj. – Tout agent inducteur de cancer.

Carcinome, n. m. – Tumeur maligne d'origine épithéliale.

Cardiolipines, n. f. – Ce sont des lipides, des diphosphatidylglycérols formés de deux molécules d'acides phosphatiques liées entre elles par une molécule de glycérol. Les deux fonctions alcool primaire du glycérol entrent dans des liaisons esters formées avec une fonction acide des phosphates de chacun des acides phosphatidiques.

Cartilage, n. m. – Tissu d'origine conjonctive non vascularisé, possédant des cellules cartilagineuses baignant dans une matrice extracellulaire semi-solide.

Caryophile, adj. – Qui a une affinité pour le noyau.

Catabolisme, n. m. – Phase du métabolisme qui comprend la dégradation des macromolécules en constituants élémentaires avec dégagement d'énergie sous forme de chaleur ou stockage de l'énergie libérée sous forme en particulier d'ATP et élimination des déchets. Ant. anabolisme

Catalyse, n. f. – Augmentation de la vitesse d'une réaction chimique sous l'effet d'une substance (catalyseur) qui n'est pas modifiée par la réaction.

Cataracte, n. f. – Diminution de la transparence du cristallin qui empêche le passage de la lumière.

Catécholamine, n. f. – Groupe de molécules agissant comme des hormones ou des neurotransmetteurs qui sont des dérivés aminés du 2-hydroxyphénol (catéchol) qui comprend la dopamine, l'adrénaline et la noradrénaline. Ces composés peuvent servir d'hormones ou de neurotransmetteurs.

Cation, n. m. – Ion chargé positivement.

Cellule de Purkinje – Grands neurones multipolaires caractéristique du cervelet.

Cellule de Schwann – Cellule névroglie dont l'assemblage constitue une gaine pour les fibres nerveuses myélinisées (elles participent à l'élaboration des gaines de myéline) et amyéliniques du système nerveux périphérique.

Cellule hybride – Cellule provenant de la fusion de deux cellules d'origine différente; ex.: cellule hybride Homme-Souris. Le noyau des cellules hybrides est un hétérocaryon.

Cellule réticulaire – Cellule des organes hématopoïétiques ayant une fonction de défense; elle phagocyte soit des germes, soit des hématies à la fin de leur existence.

Cellule souche – Cellule indifférenciée qui, par multiplication, assure le renouvellement de cellules différenciées.

Cellules 3T3 – Type de cellules de Souris en culture, dont les propriétés sont superposables à celles des cellules normales, à l'exception du vieillissement car elles sont immortelles.

Centre actif – Région d'une enzyme sur laquelle se fixe un substrat; il est le siège de la catalyse enzymatique.

Centrifugation différentielle – Centrifugations successives à vitesse croissante qui permet, à partir d'un homogénat cellulaire, des fractions cellulaires de plus en plus légères qui sont récupérées dans différents culots.

Centrifuge, adj. – Qualifie un mouvement en direction de la périphérie de la cellule. Ant. centripète.

Centriole, n. m. – Structure constituée de 9 triplets de microtubules et de MAPs. Le corpuscule basal d'un cil ou d'un flagelle contient une structure identique. V. centre cellulaire.

Centripète, adj. – Qualifie un mouvement en direction du centre cellulaire. Ant. centrifuge.

Centromère, n. m. – Région d'un chromosome eucaryote occupant la constriction primaire au niveau de laquelle les chromatides restent associées pendant la métaphase. Son emplacement permet de classer les chromosomes en médiocentrique, subtélocentrique, acrocentrique. V. kinétochore.

Céramide, n. m. – Amide formé par la combinaison d'un acide gras avec une molécule de sphingosine.

Chaperon, n. m. – Les molécules chaperons ou chaperonines furent découvertes grâce à celles des protéines de choc thermique. L'élévation de la température cellulaire induit la synthèse de protéines (d'où le nom de protéines de choc thermique). Les biologistes ont très vite constaté que ces molécules existaient dans les cellules de toutes les espèces, que leur constitution était très voisine et qu'enfin, elles jouaient un rôle essentiel dans le repliement des protéines.

Chaperonine, n. f. – V. chaperon.

Chaperonne, n. f. et adj. – Nom générique de protéines jouant un rôle dans le contrôle de la conformation spatiale d'autres protéines.

Chloroplaste, n. m. – Organite semi-autonome des cellules végétales, contenant des molécules d'ADN circulaire : il est responsable de la production d'énergie par photosynthèse chez les Algues et les plantes.

Choc hypotonique – Ce type de choc concerne les cellules placées dans un milieu dont la pression osmotique est inférieure à celle du cytoplasme.

Cholestérol; n. m. – Molécule lipidique de la famille des stérols, précurseur des hormones stéroïdes qui entre dans la constitution de la membrane plasmique : il influence sa fluidité. Il est absent chez les Végétaux supérieurs et la plupart des Bactéries.

Chondrocyte, n. m. – Cellule présente dans les différents types de cartilages.

Chorion, n. m. – Tissu de soutien sous-épithélial.

Chromatide, n. f. – Chacune des deux parties d'un chromosome résultant de sa duplication pendant la phase S. Le chromosome prophasique ou métaphasique est constitué de deux chromatides : chacune d'elle devient un chromosome dès le début de l'anaphase, au moment où les deux chromatides se séparent.

Chromatine, n. f. – Complexe formé d'ADN et de protéines, présent dans le nucléoplasme : il se présente soit sous la forme d'euchromatine, soit sous la forme d'hétérochromatine.

Cis – Préfixe latin signifiant « en deçà ».

Clone, n. m. – Population de cellules toutes identiques qui dérivent, par division cellulaire, d'une seule et même cellule.

Coenzyme, n. m. – Molécule organique (ATP, NAD, Coenzyme A, biotine), indispensable au fonctionnement d'une protéine enzymatique avec laquelle elle s'associe (apoenzyme). Ces molécules transportent soit un groupement chimique, soit des électrons dans une réaction catalysée enzymatiquement.

Coenzyme A (CoA - A pour acétylation) – Cofacteur nécessaire à de nombreuses réactions d'acétylation. Voir acyl-CoA.

Colchicine, n. f. – Substance antimitotique extraite du colchique (*Colchicum autumnale*), utilisée dans le traitement de la goutte.

Collagène, adj. et n. m. – Protéines ou glycoprotéines intervenant dans la constitution de la matrice conjonctive extracellulaire. Il s'agit de molécules trimériques spécifiques des tissus conjonctifs et caractérisées par un très long segment en hélice α .

Coloration négative, n. f. – Les structures perméables au rayonnement électronique ne sont visibles que si elles sont, sur le support placé dans le microscope électronique, entourées par un produit opaque, comme l'acide phosphotungstique.

Complément, n. m. – Système protéique complexe du sérum humain, indispensable pour la production de certains effets de la réaction antigène-anticorps. Chacune des protéines qui le compose est capable de s'activer séquentiellement, donnant ainsi naissance à toute une série d'actions métaboliques spécifiques.

Complémentarité stérique – Ajustement stéréospécifique de deux molécules.

Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). – Complexe moléculaire qui permet aux cellules de présenter les antigènes aux lymphocytes. Le CMH appartient à la superfamille des immunoglobulines. Il comprend 2 groupes de molécules de la membrane plasmique (types I et II). Dans le réticulum endoplasmique, les complexes I s'associent aux peptides antigéniques qui se forment par hydrolyse de protéines dans les protéasomes. Le complexe de type II, localisé dans les endosomes, s'associe aux peptides antigéniques (ils proviennent de protéines hydrolysées après l'endocytose).

Cône, n. m. – Cellule neurosensorielle de la rétine, responsable de la vision des couleurs.

Core, n. m. – Terme anglais pour désigner le noyau, l'âme (d'un câble par ex.), le core.

Cortex cellulaire – Région du cytosol située sous la membrane plasmique. Comporte un cytosquelette cortical constitué de microfilaments d'actine et de protéines associées.

Cortisol, n. m. – Hormone stéroïdienne (17-hydroxycorticostérone) élaborée dans le cortex surrénalien, dont la synthèse se déroule dans les mitochondries et le réticulum endoplasmique grâce au cytochrome P450. Le cortisol régule le métabolisme glucidique et hydrominéral.

Cryodécapage, n. m. – Technique de préparation des cellules pour la microscopie électronique. Les cellules congelées rapidement sont fracturées. L'eau est alors évaporée. Les plans de fracture sont recouverts, par ionisation, d'une fine pellicule de métal (par ex. platine). L'ionisation dirigée obliquement par rapport aux plans leur donne du relief. La réplique obtenue est observée en microscopie électronique.

Cryofracture, n. f. – Voir cryodécapage.

Curare, n. m. – Substance extraite de plantes amazoniennes (*Strychnos toxifera* de la famille Loganiaceae ou *Chondodendron tomentosum* de la famille Menispermaceae) qui produit, en fonction de la dose administrée, soit une relaxation musculaire, soit une paralysie musculaire.

Cycloheximide, n. m. – Antibiotique fongicide utilisé en agriculture, extrait de *Streptomyces griseus*. Ce composé inhibe la protéosynthèse en bloquant la peptidyl-transférase des cellules eucaryotes. A été utilisé en chimiothérapie dans le traitement des cancers.

Cytochalasine, n. f. – Métabolites en provenance de moisissures, extraites d'*Helminthosporium* et de *Metarrhizium* désignés par les lettres A, B, C, D, E, F, la cytochalasine B étant la plus couramment employée. Les cytochalasines peuvent induire une dépolymérisation des filaments d'actine et bloquent ainsi la croissance des microfilaments.

Cytochrome, n. m. – Les cytochromes constituent une famille de molécules contenant du fer, responsables de transfert d'électrons dans divers systèmes membranaires (réticulum, membrane mitochondriale interne). Ils interviennent dans la chaîne respiratoire (cytochrome C qui fait partie de la chaîne des transporteurs d'électrons dans les mitochondries).

Cytodiérèse, n. f. – Dernière étape de la mitose, au cours de laquelle les deux cellules filles se séparent : un anneau contractile sous-membranaire (chez les cellules animales), situé dans la partie moyenne de la cellule en mitose, en se contractant, la divise en deux cellules filles.

Cytokine, n. f. – Substance immunomodulatrice sécrétée par les cellules du système immunitaire. Il existe de très nombreuses cytokines. Découvertes en immunologie, il apparaît maintenant que « les cytokines représentent un langage universel dans le dialogue mené entre les

différentes cellules de l'organisme. » (J.-M. Cavaillon, *Les Cytokines*, Masson).

Cytophile, adj. – Qui possède une affinité pour les cellules ou plus précisément pour le cytoplasme.

D

Dalton, n. m. – Unité de masse atomique égale au 1/16 de la masse d'un atome d'oxygène, soit $1,65 \times 10^{-24}$ gramme.

Daunomycine, n. f. – Antibiotique isolé à partir de cultures de *Streptomyces peuceitii* : il a été utilisé dans le traitement des leucémies.

Dendrite, n. f. – Prolongement d'une cellule nerveuse dans lequel l'influx nerveux chemine en direction du corps cellulaire (courte extension cytoplasmique afférente souvent très ramifiée).

Dépolarisation, n. f. – Diminution de la différence de potentiel (de la tension électrique) entre deux points d'un tissu ou entre les deux faces (interne et externe) d'une membrane.

Dépolymérisation, n. f. – Désassemblage d'une macromolécule en ses unités élémentaires. Une macromolécule est en effet composée, par exemple, par l'association de monomères : la dépolymérisation, en détruisant la macromolécule, libère les monomères.

Déshydrogénase, n. f. – Enzyme, classée parmi les oxydoréductases, qui transfère un atome d'hydrogène d'un donneur sur un accepteur.

Différenciation, n. f. – Modification morphologique et moléculaire permettant à une cellule d'assurer une fonction spécifique ou structure provenant de ces modifications.

Dysmorphie, n. f. – Différence, malformation anatomique.

Drosophile, n. f. – Insecte diptère au corps généralement rouge, communément appelé mouche du vinaigre, utilisé dans les recherches de génétique et en biologie du développement.

Dysplasie, n. f. – Altération plus ou moins profonde de la morphologie normale d'un tissu.

Dystrophie, n. f. – Anomalie de développement ou dégénérescence d'un organe. Ex. : la dystrophie musculaire est une maladie musculaire caractérisée par des malformations de l'organisation des myofibrilles des fibres musculaires, perturbant souvent gravement la fonction de contraction.

E

E. coli. – *V. Escherichia coli*.

Électrophorèse, n. f. – Migration de molécules ou de particules ayant une charge électrique (par ex. micelles d'une suspension colloïdale) sous l'effet d'un champ électrique créé en plaçant deux électrodes dans la solution.

Enclave, n. f. – Structure inerte de la cellule n'appartenant pas à la machinerie de synthèse. Les enclaves

étaient regroupées sous le terme très général de paraplasm (terme qui n'est plus utilisé).

Endogène, adj. – Qui prend naissance ou qui existe à l'intérieur de la cellule.

Endothélial, e, aux, adj. – Relatif au tissu constitué par une seule couche de cellules pavimenteuses (cellules aplaties), tissu qui porte le nom d'endothélium. Les cellules endothéliales forment le revêtement interne de tout l'appareil cardiovasculaire.

Endothélium, n. m. – Revêtement formé par une couche de cellules pavimenteuses, qui limite la lumière des vaisseaux.

Endotoxine, n. f. – Toxine contenue dans un germe (bactérie), qui reste à l'intérieur du cytoplasme au lieu de diffuser à l'extérieur et qui n'est libérée qu'à la destruction de ce dernier.

Entérocyte, n. m. – Cellule absorbante à plateau strié de l'épithélium intestinal.

Épiderme, n. m. – Épithélium pavimenteux stratifié qui constitue la couche la plus superficielle de la peau.

Épidermolyse bulleuse – Groupe de maladies cutanées dont la principale lésion est un décollement qui se produit soit entre l'épithélium et la lamina lucida de la lame basale, soit sous la lame basale (entre la lame basale et le tissu conjonctif du derme).

Épithélium, n. m. – Ensemble de cellules limitant la périphérie ou certaines cavités de l'organisme (cavité buccale, intestinale, trachéale, bronchique...).

Érythroblaste, n. m. – Cellule souche de la lignée érythroblastique (lignée des globules rouges) présente dans la moelle osseuse hématopoïétique : sa différenciation aboutit à la formation des globules rouges.

Érythrocyte (hématie), n. m. – Cellule anucléée chez l'Homme, responsable du transport de l'oxygène et du CO_2 (4 500 000/mm³ de sang). Syn. hématie, globule rouge.

Érythropoïétine, n. f. – Protéine synthétisée par les hépatocytes, qui stimule la multiplication des précurseurs des globules rouges dans la moelle osseuse.

Escherichia coli – Bacille Gram négatif (qui n'est pas coloré par la coloration de Gram) commensal du gros intestin chez l'Homme. Cette eubactérie, parfaitement connue, est très utilisée expérimentalement.

Espaceur, n. m. – Séquence de l'ADN située au niveau de chacun des gènes d'ADNr. Il existe deux types d'espaceurs : les espaceurs intragéniques (contenus dans chaque gène) qui séparent les régions d'ADN codant pour l'ARNr 18S, 5,8S et 28S et qui sont transcrits et les espaceurs intergéniques qui séparent deux gènes d'ADNr et ne sont pas transcrits.

Ester, n. m. – Corps résultant de la réaction d'un acide et d'un alcool avec élimination d'eau.

Exocrine, adj. – Qualifie l'excrétion dans le milieu extérieur soit directement, soit le plus fréquemment par l'intermédiaire d'un canal excréteur, de substances synthétisées par la cellule.

Exogène, adj. – Qui provient de l'extérieur donc d'origine extracellulaire.

Exonucléolytique, adj. – Qualifie une enzyme qui hydrolyse les nucléotides présents à l'extrémité d'une molécule d'acide nucléique.

Extrémité C-terminale (extrémité carboxy-terminale) – La lettre C indique la fonction acide carboxylique -COOH du dernier acide aminé d'une chaîne polypeptidique.

Extrémité N-terminale (extrémité amino-terminale) – Conventionnellement une séquence d'acides aminés (une chaîne polypeptidique) s'écrit de gauche à droite. La lettre N indique la fonction amine NH_2 du premier aminoacide de la séquence (extrémité gauche). Donc l'extrémité N-terminale est l'extrémité d'une chaîne polypeptidique qui porte un groupement aminé libre.

F

Famille (de protéines) – Ensemble de protéines de structure et de fonctions très proches. Plusieurs familles de protéines peuvent être regroupées en une superfamille.

Farnésyl, n. m. – Reste d'acide gras composé de quinze atomes de carbone et de trois doubles liaisons.

Fascia, n. m. – Domaine limité de la membrane plasmique, responsable de l'adhésion à une autre cellule ou à la matrice extracellulaire, d'organisation et de composition ressemblant à la jonction intermédiaire. Ex. : fascia adherens. Voir zonula.

Ferreux, adj. – Qualifie les oxydes dans lesquels le fer est bivalent.

Ferrique, adj. – Qualifie les oxydes dans lesquels le fer est trivalent.

Ferritine, n. f. – Hétéroprotéine formée de 24 chaînes polypeptidiques identiques et de 2 000 atomes de fer environ. La ferritine joue donc un rôle essentiel dans le stockage du fer dans l'organisme et en particulier dans la rate, le foie, la moelle osseuse.

Fibroblaste, n. m. – Cellule d'origine mésoblastique, de 30 μm sur 10 μm (elle dérive du troisième feuillet embryonnaire) appartenant au tissu conjonctif, responsable de la synthèse des fibres conjonctives et de la substance interstitielle.

Filipine, n. m. – Antibiotique antifongique produit par une bactérie du genre *Streptomyces* (*S. filipinensis*)

Fixation, n. f. – Les cellules ou les tissus sont plongés dans un mélange de substance chimique en solution, qui les maintiennent sous une forme inaltérable sans modifications essentielles de leur structure, en vue d'un examen au microscope.

Flagelle, n. m. – Structure spécialisée dans la propulsion cellulaire, formée par une expansion de la membrane plasmique (beaucoup plus longue qu'un cil) possédant un axonème. Les flagelles sont responsables des déplacements de nombreuses cellules eucaryotes et des spermatozoïdes. Les flagelles des bactéries possèdent une organisation interne et un mécanisme de fonctionnement différent.

Flavoprotéine, n. f. – Toute protéine qui possède un groupement prosthétique flavine (pigment jaune contenant une base azotée).

Fluorescence, n. f. – Propriété d'une molécule de transformer une lumière reçue en radiations visibles de longueur d'onde plus grande. V. immunofluorescence.

Flux axonal – Circulation dans l'axoplasme de molécules ou d'organites, qui dépend du cytosquelette (MFs, microtubules et protéines associées aux microtubules) et qui consomme de l'énergie. Le déplacement peut se faire en direction de l'extrémité distale (flux antérograde) ou du corps cellulaire (flux rétrograde).

Flux membranaire – Les membranes intracellulaires, sous forme de vacuoles ou de canalicules avec leur contenu, se déplacent dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Les flux membranaires centrifuges se font en direction de la membrane plasmique; les flux membranaires centripètes se font de la membrane plasmique vers les autres compartiments membranaires intracellulaires.

Forces de van der Waals – Forces d'attraction entre deux atomes.

Freezing-etching, n. m. – V. cryodécapage.

Fuseau mitotique – Structure formée de microtubules et de protéines associées qui se différencie dès le début de la prophase et qui assure la migration des chromosomes au cours de la division cellulaire.

G

Gamète, n. m. – Cellule responsable de la reproduction sexuée (ovule ou spermatozoïde), possédant la moitié des chromosomes des cellules du soma provenant de la différenciation de cellules germinales.

Ganglioside, n. m. – Sphingoglycolipide (un ou plusieurs oses liés au carbone 1 d'une céramide). Les gangliosides regroupent des molécules de glucosylcéramide sur lesquelles sont fixées une ou plusieurs molécules de galactose comme le N-acétyl-galactosamine, le N-acétyl-glucosamine. Mais le sucre le plus caractéristique est l'acide neuraminidique (acide sialique).

Gel, n. m. – État semi-solide du cytosol qui peut passer à l'état de sol et inversement. Ant. sol.

Gélation, n. f. – Transformation réversible d'une solution colloïdale en gel.

Génome, n. m. – L'ensemble des gènes, c'est-à-dire de l'information génétique contenue dans un acide nucléique (ADN pour les Procaryotes, les Eucaryotes et les virus; ARN chez les rétrovirus).

Génotype, n. m. – Patrimoine génétique d'un individu dépendant des gènes. Ensemble des potentialités d'un individu représentées par la combinaison des différents allèles.

Glande, n. f. – Organe constitué par un ensemble de cellules dont la fonction essentielle est de sécréter des produits : l'excrétion peut se faire soit dans le milieu extérieur (exocrine), soit dans le milieu intérieur (endocrine).

Glie (neuroglie, névroglie), n. f. – Ensemble des cellules (situées dans les tissu nerveux) autres que les neurones, mais qui leur sont associées, c'est-à-dire les astrocytes, les microglies, les oligodendrocytes, les épendymocytes.

Glycérol, n. m. – Triool, liquide incolore, sirupeux, de saveur sucrée, soluble dans l'alcool, de formule $C_3H_5(OH)_3$, de densité 1,26, existant sous forme d'esters dans de nombreux lipides.

Glycogène, n. m. – Polysaccharide constitué de molécules de glucose reliées par des liaisons glycosidiques.

Glycolyse, n. f. – Ensemble des réactions enzymatiques anaérobies assurant la dégradation d'une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate, permettant un gain net de deux molécules d'ATP.

Glycosylé, e, adj. – Combiné à des glucides.

Glyoxysome – Peroxysome des cellules végétales, qui intervient dans la transformation des lipides en glucides grâce au cycle glyoxylique dont il est le siège.

Goutte, n. f. – Affection due à un trouble du métabolisme de l'acide urique, qui se traduit par une atteinte articulaire.

Gradient, n. m. – 1. Le gradient chimique est une différence de concentration d'une molécule ou d'un ion de part et d'autre d'une membrane. 2. Le gradient électrochimique est la différence interdépendante de charge électrique et de concentration chimique existant de part et d'autre d'une membrane. Le sens du gradient de concentration a pour origine la région la plus concentrée.

Granulocyte, n. m. – Cellule sanguine, de 10 à 14 μm , caractérisée par un noyau polylobé (d'où le nom parfois encore utilisé de polynucléaire) et des granulations dont les affinités tinctoriales permettent de définir des granulocytes neutrophiles, basophiles et éosinophiles.

Groupe de haute mobilité – Protéines HMG (high mobility group) : ces protéines interviennent dans le déroulement des fibres nucléosomiques afin de rendre les gènes accessibles.

Groupe prosthétique – Partie d'une protéine conjuguée (hétéroprotéine) composée des éléments non protidiques qui donne à cette molécule des propriétés particulières.

H

Haploïde, adj. – Qualifie un noyau, une cellule qui ne contient que la moitié des chromosomes des cellules du soma. Il n'existe pas de chromosomes homologues dans une cellule haploïde.

Haploïdie, n. f. – État d'un génome qui n'est constitué que par une seule copie de chaque chromosome.

Hélice α , n. f. – Structure secondaire hélicoïdale d'une chaîne polypeptidique dont la spirale est dextrogyre, stabilisée par des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Hémagglutinine, n. f. – Glycoprotéine entraînant l'agglutination des hématies.

Hème, n. m. – Groupe prosthétique de l'hémoglobine.

Héminique (non -), adj. – Qui ne possède pas d'hème (une molécule constituée par une partie organique et un atome de fer).

Héparane sulfate. – Glycosaminoglycane sulfaté qui s'accumule dans les tissus et qui est excrété dans l'urine au cours de certaines mucopolysaccharidoses, par exemple la maladie de Hurler, une maladie génétique.

Hépatocyte, n. m. – Cellule principale et caractéristique du parenchyme hépatique (foie), spécialisée dans la synthèse, la dégradation et le stockage d'un très grand nombre de substances et qui sécrète la bile.

Hétérocaryon, n. m. – Cellule contenant deux noyaux, provenant de la fusion des cytoplasmes de deux cellules différentes.

Hépatomégalie, n. f. – Hypertrophie (augmentation de volume) du foie.

Hexokinase, n. f. – Enzyme qui catalyse la phosphorylation du glucose et de quelques autres hexoses.

Histamine, n. f. – Amine dérivée de l'histidine par décarboxylation, présente dans la plupart des tissus animaux. Elle est sécrétée par les mastocytes et les polynucléaires basophiles en même temps que l'héparine et la sérotonine : elle est responsable, chez l'Homme, d'urticaire, d'hypotension et d'œdèmes allergiques.

Homéostase ou homéostasie, n. f. – Maintien de conditions physiologiques stables soit dans une cellule, soit dans le milieu interne d'organismes vivants, permettant un accomplissement normal des différentes fonctions.

Homologue, adj. – Qualifie chacun des chromosomes d'une paire dans une cellule diploïde. Qualifie des molécules ayant une fonction identique dans des espèces animales ou végétales différentes.

Hormone, n. f. – Messager chimique qui est produit par un type cellulaire et qui modifie le fonctionnement d'un autre type cellulaire.

Hydrolyse, n. f. – Section d'une molécule par addition d'eau, section contrôlée par une enzyme appartenant à la famille des hydrolases.

Hydrophile, adj. – Qui possède une affinité pour l'eau. Les molécules hydrophiles sont solubles dans l'eau.

Hydrophobe, adj. – Que l'eau ne mouille pas, ne modifie pas. Les substances hydrophobes sont insolubles dans l'eau.

Hydroxylation, n. f. – Introduction d'un groupe hydroxyle OH à la place d'un hydrogène.

Hyperoxalurie, n. f. – Excès d'acide oxalique dans les urines.

Hypoglycémiant, adj. – Qui fait baisser le taux de glucose sanguin.

Hypotonie, n. f. – Baisse du tonus musculaire.

Hypomyélinisation, n. f. – Quantité insuffisante de myéline autour des fibres nerveuses myélinisées.

Hypotonique, adj. – Dont la pression osmotique est inférieure à une autre (notamment à celle du sang), prise comme référence.

Hypoxie, n. f. – Diminution de la quantité d'oxygène que le sang distribue aux tissus.

I

Ichtyose, n. f. – Maladie congénitale caractérisée par une peau épaisse, rugueuse qui desquamé par larges plaques ressemblant à des écailles.

Îlots de Langerhans – Groupe de plusieurs types cellulaires situés dans le parenchyme pancréatique exocrine et sécrétant différentes hormones régulant le métabolisme glucidique (principalement l'insuline et le glucagon).

Immunofluorescence, n. f. – Technique consistant à marquer des anticorps par des substances fluorescentes ce qui permet de localiser, en microscopie à UV, les molécules antigéniques correspondant aux anticorps utilisés.

Immunoglobuline (Ig), n. f. – Glycoprotéines circulant dans le sang, sécrétée par les plasmocytes et exerçant les fonctions d'anticorps, dont l'ensemble constitue une famille de globulines du plasma. La molécule est constituée de deux chaînes polypeptidiques légères L identiques et de deux chaînes lourdes H identiques. Les immunoglobulines (Ig) se classent en IgG, IgM, IgA, IgD et IgE en fonction de la constitution de la chaîne lourde.

Infusoires, n. m. pl. – Sous-embranchement des Protozoaires qui regroupe des animaux unicellulaires ciliés.

In vitro, (loc. latine) – Qui se déroule dans un tube à essai. Ant. *in vivo*.

In vivo, (loc. latine) – Qui se déroule dans un organisme vivant.

Inhibition compétitive – Arrêt de l'activité d'une enzyme par un inhibiteur qui se fixe réversiblement sur le centre actif de l'enzyme.

Inhibition de contact – Mécanisme observé en cultures cellulaires, au cours duquel des cellules normales perdent leurs propriétés de division et de déplacement lorsqu'elles sont au contact les unes des autres. Elle n'existe pas pour les cellules cancéreuses.

Inhibition irréversible – Inhibition de l'activité d'une enzyme par une substance qui se fixe définitivement au niveau du centre actif de cette enzyme.

Inhibition non compétitive – Arrêt de l'activité d'une enzyme par fixation d'un inhibiteur sur un site enzymatique différent du centre actif.

Inhibition réversible – Inhibition d'une enzyme dans laquelle l'inhibiteur est lié de façon transitoire au niveau du centre actif ou d'un autre site.

Inositol, n. m. – Famille d'alcool cyclique en C6 qui regroupe 9 isomères, présente dans les fruits, la viande, le lait, les noix..., entrant dans la composition des phosphoinositides et du groupement GPI.

Insaturation, n. f. – État d'une molécule qui comporte une ou plusieurs liaisons multiples (pour les acides gras une ou plusieurs doubles liaisons).

Internalisation, n. f. – Pénétration de la membrane plasmique dans le cytoplasme au cours de la formation des vésicules d'endocytose.

Intragénique, adj. – Définit des segments d'ADN situés dans les gènes.

Isomérisation, n. f. – Interconversion d'un isomère en un autre (les isomères sont des molécules possédant les mêmes formules brutes mais existant sous plusieurs formes chimiques).

Isoprénoïde, n. m. – Groupe important de composés organiques constitués à partir de l'isoprène (hydrocarbure insaturé à cinq atomes de carbone). Ce groupe comprend des caroténoïdes, les terpènes, le caoutchouc naturel, la chaîne latérale de la chlorophylle et la vitamine K.

K

kDa – Abréviation de kiloDalton soit 1 000 Dalton.

Kératinocyte, n. m. – Principale cellule de la peau. Les kératinocytes sont disposés en plusieurs couches superposées depuis la couche basale, qui repose sur une lame basale, jusqu'à la couche la plus superficielle où les cellules ne contiennent plus que des fibres de kératine.

Kinase, n. f. – Famille d'enzymes qui transfèrent des groupements phosphates de l'ATP sur certains résidus d'acides aminés (tyrosine...). Certains récepteurs membranaires des facteurs de croissance, de l'insuline possèdent une activité tyrosine kinase localisée dans leur domaine cytosolique. V. protéine kinase.

L

Lame basale – Lamelle de nature conjonctive située sous la face interne de l'épithélium de revêtement, autour des groupes de cellules glandulaires, sous les cellules endothéliales du système vasculaire.

Lamellipode, n. m. – Expansion cellulaire en forme de lamelle, qui intervient dans la migration des cellules qui se déplacent par mouvement amiboïde.

Lectine, n. f. – Molécule d'origine végétale, appartenant à une famille de glycoprotéines, capable d'agglutiner des cellules animales *in vitro*. Les lectines reconnaissent une séquence spécifique de résidus glucidiques de glycoprotéines de la membrane plasmique. Certaines lectines sont maintenant connues chez les animaux où elles jouent un rôle dans la reconnaissance entre cellules.

Leucocyte, n. m. – Terme regroupant l'ensemble des globules blancs (polynucléaires ou granulocytes neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes et monocytes). Ces cellules du sang circulant peuvent traverser la paroi des vaisseaux et migrer dans la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs.

Leuco-dérivé, adj. – Substance incolore qui provient de la réduction de colorants.

Leucotriène, n. m. – Molécule appartenant à la famille des acides gras contenant 20 atomes de carbones dérivés de l'acide arachidonique. Ce sont des médiateurs chimiques locaux élaborés en réponse à un signal chimique extracellulaire.

Liaison disulfure – Liaison formée entre deux groupements SH.

Liaison hydrogène – Liaison entre un atome d'hydrogène ayant une faible charge positive et un atome, comme l'oxygène ou l'azote, portant une faible charge négative. Cette liaison intermoléculaire ou intramoléculaire est faible.

Liaison ionique – Liaison formée par les attractions électrostatiques entre des atomes ayant des charges opposées.

Liaison peptidique – Liaison covalente entre l'atome de carbone du groupement carboxylique d'un acide aminé et l'atome d'azote d'un autre acide aminé (CO-NH). Elle permet l'enchaînement des acides aminés les uns aux autres.

Liaison phosphodiester – Liaison covalente entre les nucléotides successifs d'une chaîne d'ADN ou d'ARN par l'intermédiaire du groupement phosphate d'un nucléotide et du sucre (désoxyribose ou ribose) du nucléotide voisin.

Liaison riche en énergie – Liaison qui libère une quantité d'énergie particulièrement importante lorsqu'elle est rompue.

Ligand, n. m. – Mot d'origine américaine (1959) qui désigne une molécule capable de reconnaître une autre molécule (un récepteur) et de se fixer sur cette molécule. La fixation du ligand provoque la formation d'un stimulus et une réponse physiologique. Le ligand se fixe sur le récepteur d'une manière stéréospécifique. Cette fixation se fait par le biais de liaisons faibles.

Lipase, n. f. – Famille d'enzymes largement distribuées qui hydrolysent les triacylglycérols en glycérol et acide gras.

Lithiase, n. f. – Formation de concrétions solides (calculs) dans des conduits ou cavités de l'organisme.

Lumière, n. f. – La cavité intracellulaire délimitée par une membrane (lumière des saccules golgiens, du réticulum, des vacuoles...) ou cavité extracellulaire délimitée par une couche cellulaire épithéliale (la lumière d'une glande, d'un canal excréteur).

Luminal, e, aux, adj. – Qui est tournée vers la cavité (lumière) d'une structure. Face luminale.

Lymphocyte, n. m. – Cellule sanguine à noyau arrondi, à cytoplasme basophile, se différenciant à partir de cellules souches de la moelle osseuse hématopoïétique et dans les organes lymphoïdes. Ils se classent très schématiquement en lymphocytes T (pour thymus – ces cellules cytotoxiques tuent par contact direct les cellules étrangères ou les cellules infectées par les virus) et les lymphocytes B (ces cellules sécrètent des anticorps).

Lymphome, n. m. – Terme imprécis servant à désigner des affections malignes du tissu lymphatique.

Lyse, n. f. – Destruction d'une structure organique produite en général par une enzyme ou une substance toxique : lyse cellulaire.

M

Macroglossie, n. f. – Hypertrophie de la langue.

Macromolécule, n. f. – Molécule volumineuse (par ex. l'ADN), comprenant un ou plusieurs types d'unités élémentaires souvent répétées.

Macrophage, n. m. – Cellule du système immunitaire se différenciant à partir des monocytes du sang circulant : elle est douée de propriétés de phagocytose très développées et joue un rôle de premier plan dans la défense de l'organisme. Elle contient de très nombreux lysosomes.

Macroscopique, adj. – Structure visible à l'œil nu.

Macula, n. m. – (du latin : tache, marque, point). Toute jonction intercellulaire de forme circulaire ou ovale.

Malpighien, ne, adj. – De Malpighi (1628-1694), médecin italien et histologiste. Définit un type d'épithélium pluristratifié (constitué de plusieurs couches), dont les cellules superficielles sont pavimenteuses (aplaties) kératinisées ou non, et les cellules basales en général prismatiques basses.

Marquage radioactif, n. m. – Substitution, dans une molécule, d'un élément par un élément radioactif facilement détectable par étalement de la coupe sur un support constitué par un film photographique sensible aux radiations.

Marqueur, n. m. – Molécule susceptible de se combiner avec une molécule du métabolisme, dont il est nécessaire de suivre l'évolution. Le marqueur est évidemment facilement repérable en microscopie optique (par ex. les marqueurs fluorescents) ou en microscopie électronique (ferritine, éléments radioactifs comme le tritium...). Molécule qui entre spécifiquement et constamment dans la constitution d'un organite. Ceci permet d'identifier, dans les divers culots d'ultracentrifugation, la présence et la concentration d'un organite défini.

Mastocyte, n. m. – cellule résidente du tissu conjonctif, possédant un volumineux noyau et de très nombreux granules qui contiennent de l'héparine, de la sérotonine et de la 5-hydroxytryptamine. Les mastocytes dérivent de précurseurs situés dans la moelle osseuse. Ils sont impliqués dans des phénomènes allergiques graves. La sécrétion est déclenchée par des réaction d'hypersensibilité aux allergènes.

Matrice, n. f. – 1. Matrice extracellulaire : réseau de protéines et polysaccharides du milieu extracellulaire. 2. Matrice mitochondriale : chambre interne délimitée par la membrane interne des mitochondries. La matrice est le siège de nombreuses réactions enzymatiques (cycle de Krebs, hydroxylation par les cytochrome P450...). 3. Matrice nucléaire : structure du nucléoplasme qui reste après extraction des acides nucléiques, des protéines enzymatiques et structurales.

Mégacaryocyte, n. m. – Cellule de la lignée thrombocytaire, c'est-à-dire de la lignée cellulaire responsable de la formation des thrombocytes ou plaquettes sanguines. Il représente un des stades d'évolution de cette lignée dont la cellule souche est le mégacaryoblaste.

Méiose, n. f. – Ensemble de deux divisions cellulaires successives, caractéristique des cellules germinales, qui forment quatre cellules à noyaux haploïdes à partir d'une seule cellule diploïde.

Membrane semi-perméable – Membrane perméable aux molécules d'eau mais imperméable aux ions et aux molécules.

Mésothélium, n. m. – Revêtement d'aspect épithélial formé par des cellules d'origine mésenchymateuse (mésenchyme : forme jeune du tissu conjonctif).

Messenger, n. m. – Molécule qui transporte une information.

Métabolisme, n. m. – Ensemble des transformations chimiques et physico-chimiques qui s'accomplissent dans les cellules (dépenses énergétiques, échanges, nutrition...).

Métabolite, n. m. – Molécule produite ou modifiée par le métabolisme.

Métaphyte, n. m. – Organisme végétal pluricellulaire.

Métastase, n. f. – Foyer de cellules cancéreuses, en rapport avec un cancer préexistant dit primitif, mais développé à distance de ce dernier et sans continuité avec lui.

Micelle, n. f. – Structure sphérique, ordonnée, constituée par des molécules lipidiques qui s'associent de façon à favoriser au maximum les interactions entre leurs parties hydrophiles et les molécules d'eau, et à réduire au maximum les interactions entre leurs parties hydrophobes et l'eau environnante.

Micron, n. m. – Millième partie du millimètre.

Microscopique, adj. – Qualifie ce qui ne peut être observé qu'au microscope. Ant. macroscopique.

Microsome, n. m. – Fragment de réticulum endoplasmique granulaire qui forme des vésicules au cours de l'homogénéisation cellulaire et de l'ultracentrifugation.

Monocaténaire, adj. – Formé d'une seule chaîne.

Monomère, n. m. – Molécule capable d'entrer comme unité constituante d'un polymère. Sous-unité structurale de base des macromolécules.

Morphogenèse, n. f. – Développement des formes et des structures d'une cellule ou d'un organisme.

Mosaïque fluide – Structure de la membrane cellulaire caractérisé par des molécules protéiques insérées dans une bicouche lipidique.

Mutation, n. f. – Tout changement dans la séquence de l'ADN.

Mycoplasme, n. m. – Groupe de microorganismes unicellulaires pathogènes, immobiles, sans parois cellulaires, intermédiaires par certains aspects entre les virus et les bactéries.

Myéline, n. f. – Substance lipoprotéique complexe, qui provient de l'enroulement, en une multitude de couches, d'un prolongement lamelliforme appartenant à une cellule névroglique (cellule appartenant au tissu de soutien du tissu nerveux). La myéline forme un manchon autour de certaines fibres nerveuses.

Myélinisation, n. f. – Formation, par les cellules de Schwann, d'une gaine isolante de myéline autour d'un axone.

Myocyte, n. m. – Terme utilisé parfois pour définir les fibres musculaires striées et cardiaques.

Myopathie, n. f. – Affection primitive des muscles se caractérisant par des altérations structurales profondes de la fibre musculaire striée. Syn. dystrophie musculaire progressive.

N

Nano- – Élément du grec *nanos* « petit ».

Nanogramme, n. m. – 10^{-9} gramme (un milliardième de gramme).

Nanomètre, n. m. – 10^{-9} mètre (un milliardième de mètre, un millième de micron, soit 10 Ångström).

Nématode, n. m. – Ordre de vers cylindriques, parasites des Vertébrés et des Invertébrés.

Néoglucogenèse, n. m. – Transformation de composés non glucidiques en glucose.

Néphrite, n. f. – Inflammation aiguë ou chronique des reins.

Néphrocalcinose, n. f. – Calcification des tubules rénaux.

Neuraminidase, n. f. – Enzyme qui enlève les radicaux sialyl sur des glycoprotéines.

Neurone, n. m. – Cellule nerveuse possédant un corps cellulaire ou péricaryon et de nombreux prolongements cytoplasmiques : un axone et une ou plusieurs dendrites.

Neurotransmetteur, n. m. – Molécule libérée à l'extrémité axonale, qui stimule la membrane post-synaptique par fixation sur des récepteurs membranaires spécifiques.

Neutrophile, n. m. – Leucocyte polynucléaire du sang, dont les granulations ne sont colorées ni par les colorants basiques, ni par les colorants acides. Syn. polynucléaire neutrophile, granulocyte neutrophile.

Névroglie, n. f. – Ensemble des cellules non nerveuses du système nerveux central ou périphérique. Les astrocytes, les oligodendrocytes, les cellules épendymaires, la microglie, les cellules de Schwann constituent cette névroglie.

Nitrate de lanthane – Molécule opaque au rayonnement électronique utilisée pour visualiser les espaces intercellulaires et étudier la perméabilité des jonctions intercellulaires.

nm – Abréviation de nanomètre.

Noradrénaline, n. f. – Hormone sécrétée par certaines cellules de la médullosurrénale.

Nutriments, n. m. – Aliment qui n'a pas besoin de digestion pour être assimilé.

O

Œstrogène, adj. et n. m. – Qui provoque l'œstrus chez les femelles des Mammifères. Hormones sexuelles femelles dont la synthèse se fait dans le RE et les mitochondries grâce aux cytochromes P450.

Oligodendrocyte, n. m. – Cellule appartenant à la névroglie, responsable de la myélinisation des axones du système nerveux central.

Oligomère, n. m. – Polymère dont la molécule est formée d'un nombre de molécules composantes (dites monomères) relativement peu élevé (2 à 12).

Oligonucléotide, n. m. – Molécule formée par un nombre limité de nucléotides.

Oncogène-c, n. m. – Oncogène provenant d'un proto-oncogène cellulaire.

Oncogène-v, n. m. – Gène présent dans un chromosome viral, pouvant transformer une cellule normale en une cellule cancéreuse.

Oocyte, n. m. – Un œuf avant qu'il ait subi sa maturation : un gamétocyte féminin, appelé aussi ovocyte.

Organite, n. m. – Élément cellulaire différencié assurant une ou plusieurs fonctions. Ex. : les mitochondries.

Osmiophile, adj. – Définit une structure qui possède une affinité pour le tétraoxyde d'osmium (acide osmique).

Osmiophobe, adj. – Définit une structure qui ne possède aucune affinité pour le tétraoxyde d'osmium.

Osmium, n. m. – Métal (symb. Os; dens. 22,48; p. at. 190,2) en cristaux blancs, fusible à 2 700°C, qu'on trouve dans la nature, associé à l'iridium (osmiridium) et au platine.

Ostéoclaste, n. m. – Cellule multinucléée de type macrophagique qui résorbe le tissu osseux en libérant dans le milieu extérieur les hydrolases lysosomales.

Ovule, n. m. – Gamète femelle élaboré par l'ovaire.

Oxydase, n. f. – Enzyme qui catalyse les réactions d'oxydo-réduction en utilisant l'oxygène comme accepteur.

Oxygène hyperbare – Oxygène à une pression supérieure à la pression qu'il a au niveau du sol.

P

Paracrine, adj. – Qualifie un signal chimique à action locale.

Paramécie, n. f. – Protozoaire de grande taille (Infusoïre) porteur de cils vibratiles.

Parenchyme, n. m. – Tissu d'un organe, d'une glande, qui assure son fonctionnement (par opposition au tissu conjonctif de soutien).

Passif, ve, adj. – Qualifie un phénomène biologique qui ne consomme pas d'énergie.

Pentose, n. m. – Tout monosaccharide répondant à la formule $C_5H_{10}O_5$, par exemple l'arabinose, le xylose, le ribose... Sucre à cinq atomes de carbone.

Peptidase, n. f. – Enzyme qui hydrolyse des peptides. Terme utilisé actuellement uniquement pour les exopeptidases qui enlèvent par hydrolyse une ou deux unités à l'extrémité de la chaîne peptidique.

Peptide, n. m. – Substance protéique formée d'un nombre restreint d'acides aminés.

Peptidyl-transférase, n. f. – Enzyme intervenant au cours de la synthèse des protéines et qui catalyse la formation des liaisons peptidiques.

Perméase, n. f. – Terme utilisé par un certain nombre d'auteurs pour désigner les protéines porteuses responsables du transport de molécules ou d'ions au travers de ces membranes, avec ou sans dépense d'énergie.

pH – (potentiel hydrogène). pH désigne la concentration en ions hydrogène d'une solution dont la valeur numérique varie entre 0 et 14. Au lieu de dire la concentration d'ion hydrogène de l'eau pure est 1.00×10^{-7} , il est usuel de dire que le pH de l'eau pure est 7. Un pH 7 est celui d'une solution neutre : au-dessous de 7, le pH est acide, au-dessus, il est alcalin.

Phalloïdine, n. f. – Protéine toxique extraite de l'Amanite phalloïde. Elle se lie aux microfilaments et empêche leur dissociation.

Phases du cycle cellulaire – Les phases sont la phase M (mitose), la phase G1 (gap 1), la phase S (synthèse : duplication de l'ADN) et la phase G2 (gap 2).

Phénobarbital, n. m. – Barbiturique, sédatif et antiépileptique.

Phénotype, n. m. – Traduction morphologique dans un organisme d'un caractère codé génétiquement (c'est-à-dire du génotype d'un individu) : par exemple la couleur des yeux ou la couleur des fleurs.

Phosphatase, n. f. – Enzyme qui enlève le groupement phosphate. En fonction du pH qui autorise leur fonctionnement, on distingue les phosphatases alcalines et les phosphatases acides.

Phosphodiesterase, n. f. – Toute enzyme qui hydrolyse les liaisons phosphodiester y compris l'AMP phosphodiesterase qui convertit l'AMPc en adénosine monophosphate.

Phosphoinositide, n. m. – Phospholipide dérivé de l'inositol, intervenant dans la constitution de la membrane plasmique.

Phospholipase, n. f. – Groupe d'enzymes provoquant l'hydrolyse des phospholipides et en particulier ceux de la membrane plasmique. Par exemple : la phospholipase A2, par hydrolyse d'un phospholipide de la membrane plasmique, donne de l'acide arachidonique.

Phospholipide, n. m. – Molécule amphipathique formée de deux chaînes d'acide gras, d'une molécule de glycérol, d'un groupement phosphate et en général d'un quatrième composant tel qu'une molécule de choline ou d'éthanolamine.

Phosphorylation, n. f. – Réaction enzymatique responsable de l'addition de un ou de plusieurs radicaux phosphate. La phosphorylation de l'ADP aboutit à la formation de l'ATP. La phosphorylation des protéines par les protéines kinases, au niveau de certains acides aminés spécifiques, modifie les propriétés de ces protéines.

Phosphorylation oxydative, n. f. – Mécanisme qui se déroule dans les organismes aérobies, au cours duquel des molécules d'ATP sont formées à partir de molécules d'ADP et de phosphates inorganiques : ce mécanisme dépend d'un flux d'électrons provenant de l'oxydation des molécules dérivant des nutriments. Ce flux se déroule dans une chaîne de transporteurs d'électrons (chaîne respiratoire ou unité d'oxydation). L'oxygène est l'accepteur final des électrons.

Phosphoryle, n. m. – Groupe dérivé de l'acide phosphorique.

Photolyase, n. f. – Enzyme qui intervient dans la réparation de l'ADN : l'énergie est fournie par les photons.

Photophobie, n. f. – Crainte anormale de la lumière.

Phytohémagglutinine, n. f. – Agglutinine (ou lectine) d'origine végétale provoquant l'agglutination des cellules sanguines.

Pigment, n. m. – Inclusion naturellement colorée, dont la diversité chimique, morphologique, fonctionnelle, est très grande. On distingue les pigments exogènes provenant de l'alimentation, chlorophylle, caroténoïdes et les pigments endogènes, soit dissous, soit granulaires. Ainsi, l'hémoglobine est le pigment respiratoire contenu des hématies qui transporte de l'O₂ et du CO₂, la mélanine est un pigment noir ou brun contenu principalement dans la peau et qui lui confère sa coloration.

Pilocarpine, n. f. – Alcaloïde extrait de *Pilocarpus jaborandi*.

Placode, n. f. – Épaississement ectoblastique donnant naissance à des ganglions nerveux, à des organes des sens.

Planorbis, n. m. – Gastéropode pulmoné des eaux douces, à spirale plane (présent dans tous les étangs). Dans les régions chaudes ils hébergent les larves des platodes responsables de la bilharziose humaine.

Plaqué équatoriale – Plan situé au centre du fuseau mitotique où se disposent les chromosomes métaphasiques.

Plaquette, n. f. – Cellule sanguine anucléée, circulant dans le sang, intervenant dans la coagulation sanguine. Elles dérivent du mégacaryocyte, une cellule géante polyploïde située dans la moelle osseuse hématogène. Syn. thrombocyte.

Plasmalogène, n. m. – Groupe de phospholipides trouvés principalement dans le cerveau et le muscle. Les plasmalogènes représentent 10 % des phospholipides. Ce sont des alkénylphosphatides, qui diffèrent des diacylphosphatides par la fixation sur la position 1 du glycérophosphate non pas d'un acide gras, mais d'un aldéhyde gras.

Plasmocyte, n. m. – Cellule de forme ovale, à noyau dont la chromatine a une disposition radiaire, qui sécrète et excrète des anticorps. C'est un lymphocyte B activé.

Pléomorphe, adj. – Susceptible de prendre des formes différentes sous l'action de divers facteurs.

PM – Abréviation de poids moléculaire. Voir Dalton.

Polarisé, ée, adj. – Voir polarité.

Polarité, n. f. – Particularité d'une cellule, d'une structure vivante, de posséder deux pôles qui diffèrent du point de vue de leurs potentialités ou de leurs fonctions.

Pôle apical – Qualifie la zone d'une cellule épithéliale qui est en rapport avec la cavité qu'elle limite.

Pôle basal – Qualifie la région de la cellule située à l'opposé du pôle apical et qui est la plus proche de la lame basale.

Pôle muqueux – Pôle cellulaire occupé par des grains de mucigène.

Polymérisation, n. f. – Association de plusieurs monomères (unités élémentaires) qui constitue une molécule. Ant. dépolymérisation.

Polyoside, n. m. – Molécule formée par la combinaison de plusieurs sucres. Syn. polysaccharide.

Polypeptide, n. m. – Polymère formé d'acides aminés reliés par des liaisons peptidiques.

Polypnée, n. f. – Respiration rapide.

Polysaccharide, n. m. – Polymère de disaccharides. V. polyoside.

Potentiel de membrane ou potentiel transmembranaire. – Différence de potentiel entre la face externe et la face interne de la membrane plasmique qui dépend des ions positifs situés sur la face extracellulaire de la membrane plasmique et des ions négatifs de la face cytosolique : sa valeur est de 60 millivolts.

Polyglutamylatation, n. f. – Addition à une molécule de nombreux résidus dérivés de l'acide glutamique.

Prégnénolone, n. f. – Dérivé du cholestérol, précurseur de toutes les hormones stéroïdes. Sa synthèse est stimulée par l'ACTH, l'hormone adrénocorticotrope.

Préprotéine, n. f. – Précurseur protéique portant des séquences terminales, qui sont rapidement clivées pour produire une protéine stable ou une protéine fonctionnelle (par exemple la pro-insuline provient de la prépro-insuline).

Primase, n. f. – Molécule d'ARN polymérase qui catalyse la synthèse des amorces d'ARN au début de la réplication de l'ADN.

Progestérone, n. f. – Hormone stéroïdienne sécrétée par le corps jaune. Sa synthèse, contrôlée par l'hormone lutéotrope d'origine hypophysaire (LH), se fait dans la mitochondrie et dans le RE grâce aux molécules de cytochrome P450.

Promoteur, n. m. – Séquence d'ADN nécessaire à la transcription.

Pronucleus, n. m. – Noyau haploïde de chacun des deux gamètes (celui de l'oocyte et du spermatozoïde) juste après la fusion des gamètes mâle et femelle au cours de la fécondation.

Prostaglandine, n. f. – Molécule, contenant 20 atomes de carbone avec un noyau cyclopentane, qui appartient à une famille d'hormones lipidiques synthétisées à partir de l'acide arachidonique contenu dans la membrane plasmique (l'acide arachidonique provient de l'hydrolyse de phospholipides membranaires).

Protéasome, n. m. – Complexe enzymatique contenant des protéases, localisé dans le cytosol. Le protéasome a la possibilité de lyser, en milieu à pH 7, les protéines associées à l'ubiquitine. Les peptides provenant de la lyse pénètrent dans le RE grâce à des protéines spécifiques, les TAPs (transporter associated antigen processing) protéine associée au transport des antigènes.

Protéine, n. f. – Polymère constitué d'acides aminés reliés par des liaisons peptidiques et replié dans une configuration tridimensionnelle.

Protéine de choc thermique – On avait constaté qu'une élévation de température de 12 à 13 °C provoque l'apparition de protéines, qui entraînent un arrêt de la traduction de presque toutes les protéines, un arrêt de la transcription de la majorité des gènes et qui déclenchent la transcription de certains gènes, les gènes *hs*. Ces protéines (Hsp : heat shock protein) protègent les gènes contre la dénaturation et s'opposent à l'agrégation des molécules protéiques. Ces protéines interviennent également dans des conditions physiologiques normales.

Protéine G – Famille de protéines fixant GTP et GDP (guanosine tri- et di-phosphate). Les membres de cette famille hydrolyse GTP en GDP. Les protéines G trimériques interviennent dans la transduction des signaux résultant de la fixation d'un ligand sur son récepteur. Les molécules G monomériques (ARF, Rab, Ran, Ras, Rho, dynamine...) interviennent dans les échanges nucléocytoplasmiques par l'intermédiaire des pores, dans les flux membranaires, dans l'organisation du cytosquelette.

Protéine kinase, n. f. – Protéine qui a la propriété de phosphoryler, c'est-à-dire de transférer un groupement phosphate, appartenant par exemple à l'ATPs, sur une protéine. Elle peut aussi effectuer la réaction inverse, c'est-à-dire enlever un phosphate d'un substrat spécifique.

Protéoglycane (parfois écrit avec deux n), n. m. – Macromolécule formée par l'association covalente de glycosaminoglycane et de protéines présentes dans la membrane plasmique et dans la matrice extracellulaire. Les protéoglycanes interviennent dans la constitution de la membrane plasmique et de la matrice intercellulaire.

Protéolyse, n. f. – Destruction des protéines au cours des processus métaboliques sous l'influence d'enzymes.

Proton, n. m. – Particule constitutive du noyau atomique de charge électrique positive, égale numériquement à celle de l'électron mais de masse 1 840 fois plus grande (voisine de celle du neutron).

Proto-oncogène (oncogène cellulaire), n. m. – Gène normalement présent dans le génome des cellules eucaryotes. Il est identique à un gène viral. Il peut être converti en oncogène et induire le développement de tumeur. Les proto-oncogènes codent de nombreuses protéines (protéines qui contrôlent le cycle cellulaire, protéines G et protéines kinases, récepteurs membranaires).

Protozoaires – Groupe d'organismes unicellulaires animaux comprenant des dizaines de milliers d'espèces. Ils peuvent se déplacer soit grâce à des cils, des flagelles, soit grâce à des mouvements amiboïdes.

Pseudopode, n. m. – Projection cytoplasmique (expansion du cytoplasme) à la surface d'une cellule, qui migre sur un support (mouvements amiboïdes) ou qui phagocyte.

Puromycine, n. f. – Antibiotique extrait de *Streptomyces alboniger*.

Pyrophosphate, n. m. – Molécule constituée de deux groupes phosphate liés de façon covalente.

Pyruvate, n. m. – Molécule à 3 atomes de carbone qui résulte de la glycolyse. Le pyruvate est un sel ou un ester de l'acide pyruvique (CH_3COCOOH) : c'est un métabolite intermédiaire essentiel dans de nombreuses voies métaboliques. Lorsqu'il est converti en acétyl CoA, il est le point de départ du cycle de Krebs (cycle tricarboxylique de la respiration cellulaire).

Q

Queue polyadénylique (queue polyA) – Séquence de résidus d'acide adénylique qui occupe l'extrémité 3' des molécules d'ARNm chez les Eucaryotes.

R

Radical, n. m. – Groupement d'atomes présent dans une série de molécules qui conserve son identité malgré les modifications qui peuvent se produire dans le reste de la molécule : par exemple le groupement ou radical hydroxyle (OH), méthyle (CH_3), ammonium (NH_4)... Ces composés, extrêmement réactifs, doivent être immédiatement neutralisés.

Radical libre – Atome ou molécule dont des orbitales contiennent un électron non apparié. Les radicaux libres sont des structures particulièrement instables qui se forment lorsqu'une liaison covalente est rompue. Le superoxyde est un radical libre. Les radicaux libres sont responsables d'altérations moléculaires qui intéressent les acides nucléiques, les protéines et les lipides. Ainsi, dans l'artériosclérose, les plaques lipidiques situées sur la face interne des vaisseaux se déposeraient sur des régions où l'endothélium vasculaire aurait été altéré par des radicaux libres.

Radioactivité, n. f. – Propriété que possèdent certains éléments de se transformer en un autre élément tout en émettant des rayonnements corpusculaires, particuliers ou électromagnétiques.

Réaction de Gomori. – Réaction utilisée en histoenzymologie (localisation des enzymes dans les tissus) qui met

en évidence les structures ayant une activité phosphatase acide. On verse sur les coupes de tissu une solution de glycérophosphate de sodium en présence de nitrate de plomb : l'enzyme sépare le glycérol du phosphate qui déplace le nitrate, se combine au plomb et précipite.

Récepteur, n. m. – Édifice moléculaire situé dans les membranes plasmiques ou intracellulaire, mais aussi dans le cytosol ou le nucléoplasme, qui se combine spécifiquement avec un ligand. Un récepteur a donc pour fonction de recevoir des ligands et de les traduire en messages qui sont transmis à une autre partie de la cellule et de déclencher ainsi une action spécifique. 1. Les récepteurs intracellulaires reçoivent des signaux chimiques liposolubles comme les hormones stéroïdes ou thyroïdiennes. Ils forment des complexes hormones – récepteurs qui agissent comme des facteurs de régulation de la transcription. 2. Les récepteurs de la membrane plasmique reçoivent des ligands hydrosolubles. 3. Les récepteurs muscariniques sont des récepteurs de l'acétylcholine qui ont comme agent agoniste la muscarine (un alcaloïde extrait de champignons vénéneux comme l'amanite panthère). Il est bloqué par action d'un antagoniste, l'atropine. 4. Les récepteurs nicotiniques sont des récepteurs de l'acétylcholine et de la nicotine. Ils sont bloqués par l'action des curares.

Récessif, **ive**, adj. – Qualifie un gène qui ne produit le caractère qui lui est lié que s'il est le même sur les deux chromosomes appariés hérités des parents.

Recombinaison, n. f. – Mécanisme d'échange, entre deux molécules d'ADN intactes, de segments plus ou moins longs.

Résidu, n. m. – Désigne chacune des unités de base (les acides aminés) d'un polymère lorsque ces sous-unités font partie du polymère : par exemple résidu sérine, résidu thréonine... d'une chaîne polypeptidique.

Rétinoblastome, n. m. – Tumeur de la rétine déterminée par l'absence d'élaboration d'une protéine désignée par Rb (rétinoblastome), qui provient de la délétion d'un segment du chromosome 13.

Rétinopathie, n. f. – Ensemble des maladies non inflammatoires de la rétine.

Rétrovirus, n. m. – Virus à ARN. L'ARN monocaténaire de ces virus est transcrit en un ADN par une transcriptase inverse. L'ADN ainsi obtenu s'intègre dans l'ADN cellulaire et pourra ainsi se répliquer. Le virus du sida est un rétrovirus.

Rhodamine, n. f. – Colorant rouge obtenu par combinaison d'une amine dérivée du phénol avec un anhydride phtalique (diméthylbenzène) et employé comme colorant biologique.

Rhodopsine, n. f. – Pigment rouge absorbant la lumière, existant dans les halobactéries (bactéries qui se développent dans un environnement salé) et dans la membrane plasmique des bâtonnets.

Ribonucléase, n. f. – Enzyme qui catalyse la rupture des liaisons phosphodiester de l'ARN.

Ribonucléotide, n. m. – Nucléotide des ARN qui est constitué par une molécule de phosphate, un sucre, le ribose et une base qui est soit l'adénine, soit l'uracile, soit la cytosine, soit la guanine.

Ribose, n. m. – Sucre à 5 atomes de carbone qui entre dans la constitution de l'ARN.

Ribulose diphosphate carboxylase, n. f. – Enzyme abondante dans les chloroplastes, qui catalyse la fixation du dioxyde de carbone au cours de la photosynthèse.

Rifamycine, n. f. – Antibiotique extrait de cultures de *Streptomyces mediterranei*.

Ryanodine, n. f. – Alcaloïde végétal qui a des propriétés insecticides. Il se fixe électivement sur les canaux calciques du réticulum sarcoplasmique et inhibe la libération du Ca^{++} .

S

S – Abréviation de Svedberg. V. unité Svedberg.

Saccharomyces cerevisiae – Levure de bière.

Sarcolemme, n. m. – Membrane plasmique des myocytes cardiaques ou des fibres musculaires striées.

Sarcosine, n. f. – Agent alkylant qui substitue un radical alcoyle (alkyle) à un atome d'hydrogène. Cette molécule, un dérivé de la moutarde à l'azote (le gaz moutarde de la guerre de 1914), est utilisée dans le traitement du myélome multiple. Le myélome est une tumeur de la moelle osseuse qui se développe à partir des myélocytes, les cellules souches des polynucléaires.

Sarcome, n. m. – Tumeur maligne envahissante se développant à partir d'éléments cellulaires mésenchymateux.

Schwann (cellule de) – Cellule de la névroglie du système nerveux périphérique. Les cellules de Schwann peuvent élaborer une gaine de myéline autour des axones.

Séquence, n. f. – Suite ordonnée d'éléments. 1. Séquence activatrice (enhancer) : séquence d'ADN formée par 50 à 200 paires de bases. Une telle séquence contrôle la transcription de nombreux gènes des cellules eucaryotes. 2. Séquence d'adressage : séquence constituée par des acides aminés d'une protéine qui définit l'adresse du compartiment vers lequel la protéine doit être transportée. 3. Séquence cistronique : séquence de base codant une protéine. 4. Séquence consensus : séquence constituée par des acides aminés ; une telle séquence est le lieu de réactions enzymatiques. 5. Séquence intercistronique : séquence de bases non codante (ou codant les ARNt dans le cas de l'ADN mitochondrial). 6. Séquence leader : séquence d'adressage de 20 à 30 acides aminés, située le plus souvent à l'extrémité amino-terminale des chaînes polypeptidiques destinées aux mitochondries. 7. Séquence peptidique : disposition des acides aminés. 8. Séquence à réplication autonome (ARS) : séquence d'ADN dont la réplication est autonome ; origine de la réplication de l'ADN. 9. Séquence signal : séquence d'acides aminés d'une protéine qui indique que ce polypeptide doit être trans-

porté vers une région cellulaire donnée, par exemple vers le RE. 10. Séquence unique : séquence n'existant qu'à un seul exemplaire dans un génome.

Sérotonine, n. f. (5-hydroxytryptamine) – Un neurotransmetteur dérivé du tryptophane qui est un puissant vasoconstricteur. Il existe en plus grande quantité dans le cerveau, le sérum sanguin et la muqueuse gastrique des Mammifères.

Sialidase, n. f. – Nom parfois utilisé pour désigner la neuraminidase, une enzyme qui lyse l'acide acétyl-neuraminique (ou acide sialique).

Site AP – Site de l'ADN dépourvu de bases puriques et de bases pyrimidiques.

Sol, n. m. – État semi-liquide du cytosol. Ant. gel.

Somatique, adj. – Qui concerne le soma (le corps) par opposition à germinal (qui concerne le germe, c'est-à-dire les cellules sexuelles).

Sphingomyéline, n. f. – Molécule phospholipidique entrant dans la constitution des membranes cellulaires et en particulier de la membrane plasmique, constituée par l'association d'une molécule de céramide liée par sa fonction alcool primaire à une phosphorylcholine.

Spinal, e, aux, adj. – Relatif ou qui appartient à la colonne vertébrale ou à la moelle épinière.

Spirochétose ictéro-hémorragique – Ictère fébrile pouvant s'accompagner de signes méningés, rénaux et d'hémorragies.

Splénomégalie, n. f. – Hypertrophie splénique (de la rate).

Stérique, adj. – Relatif à la configuration d'un composé chimique dans les trois dimensions de l'espace.

Stéroïde, n. m. et adj. – Corps insoluble dans l'eau, soluble dans les solvants organiques et non saponifiable, caractérisé par un squelette tétracyclique (noyau stéroïdique ou stérolique), formé de 17 atomes de carbone répartis en trois cycles hexagonaux et un cycle pentagonal (les stéroïdes dérivent du noyau du cholestérol). Les stéroïdes constituent une famille de composés hormonaux synthétisés dans le réticulum endoplasmique et la mitochondrie.

Stimulus, n. m. – Agent externe ou interne capable de provoquer la réaction d'un système excitable.

Structure, n. f. – Agencement des molécules (par exemple, pour les protéines, disposition des acides aminés). La structure primaire désigne l'organisation linéaire, la structure secondaire et tertiaire, l'organisation spatiale de la molécule. La structure quaternaire est la structure d'une protéine formée par l'association de plusieurs chaînes polypeptidiques.

Substrat, n. m. – Support. Désigne habituellement la molécule en cours de modification par une enzyme.

Subterminal, e, adj. – Placé un peu avant l'extrémité.

Superfamille, n. f. – Terme qui regroupe plusieurs familles de protéines homologues ayant des fonctions identiques ou voisines.

Superoxyde (n. m.) : oxygène ayant un électron supplémentaire O_2^- . Cette forme d'oxygène est produite en faible quantité au cours du métabolisme cellulaire : elle est extrêmement toxique car elle est responsable d'oxydation anarchique de molécules jouant un rôle essentiel dans le fonctionnement cellulaire. Chez les organismes anaérobies, une superoxyde dismutase inactive le superoxyde en catalysant à partir de deux ions O_2^- et de $2 H^+$ la formation de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui est à son tour détruite par la catalase contenue dans les peroxysomes.

Surnageant, n. m. – v. Ultracentrifugation.

Svedberg – V. Unité Svedberg.

Symbiose, n. f. – Association entre deux ou plusieurs organismes, qui leur est réciproquement profitable.

Symptomatologie, n. f. – Étude des symptômes des maladies.

Synchronisation, n. f. – Traitement d'une population cellulaire afin que toutes les cellules se trouvent en même temps à la même phase du cycle cellulaire.

Synthase, n. f. – Enzyme catalysant une synthèse par association de deux molécules (sous-unités) sans participation directe de l'ATP. Par exemple l'ATP-synthase de la membrane interne de la mitochondrie.

Système endomembranaire – Ce système qui n'existe que dans les cellules eucaryotes regroupe toutes les cavités (canalicules, tubules, vacuoles, lysosomes, peroxysomes, appareil de Golgi, endosomes précoces et tardifs) limitées par une membrane, à l'exception des mitochondries et des peroxysomes.

T

Taxol, n. m. – Molécule diterpénoïde élaborée par les cellules de *Taxus cuspidata*, qui est utilisée dans le traitement des cancers de l'ovaire et du poulmon.

Télomère, n. m. – Extrémité des bras d'un chromosome, constituée par une molécule d'ADN dont les séquences sont répétitives et inversées. Le mécanisme de la réplication de cet ADN diffère de celui qui intervient pour la réplication de l'ADN non télomérique : il fait intervenir une enzyme particulière, la télomérase. Cette enzyme n'existe que dans les cellules eucaryotes : elle est particulièrement active dans de nombreux cancers.

Testostérone, n. f. – Hormone stéroïde mâle sécrétée par les cellules de Leydig du testicule. Les cellules de Leydig sont situées entre les tubes séminifères où se déroule la spermatogenèse (ensemble des processus qui aboutit à la formation des spermatozoïdes).

Tétramère, n. m. – Molécule constituée par quatre unités élémentaires.

Thrombocyte, n. m. – Cellule peu colorable, anucléée, qui provient de la fragmentation du mégacaryocyte. Les thrombocytes interviennent dans la coagulation sanguine en formant des agrégats avec d'autres plaquettes sanguines. Ces agrégats plaquettaires adhèrent à l'épithélium endommagé. Syn. plaquette sanguine.

Thromboxane, n. m. – Molécule de nature lipidique appartenant à la famille des eicosanoïdes, qui dérivent de l'acide arachidonique. Elle provoque la contraction des muscles lisses des vaisseaux sanguins (action vasoconstrictrice) et des bronches (action bronchoconstrictrice) et intervient dans la coagulation sanguine.

Thymosine, n. f. – 1. Classe de polypeptides produits par le thymus et impliqués dans la maturation des lymphocytes T. 2. Molécule faisant partie de la famille des protéines associées à l'actine qui, en se fixant sur un monomère d'actine, inhibe sa polymérisation.

Thyroïde, n. f. – Glande endocrine constituée par un ensemble de follicules thyroïdiens. La thyroïde sécrète la thyroxine et la calcitonine.

Tissu, n. m. – Ensemble de cellules non différenciées ou différenciées ayant une morphologie, des potentialités voisines. Les tissus non différenciés sont des tissus embryonnaires. Lorsque le tissu est différencié, les cellules qui le constituent accomplissent la ou les mêmes fonctions (tissu de soutien, tissu musculaire, tissu conjonctif...).

Totipotence, n. f. – Capacité d'une cellule ou d'un noyau unique de se différencier au cours du développement embryonnaire pour produire tous les types cellulaires d'un organisme adulte.

Trans, adj, adv. – Par-delà. S'oppose à *cis* qui signifie en deçà.

Transcriptase inverse, n. f. – Une polymérase des rétrovirus qui catalyse la formation d'ADN en employant l'ARN comme matrice. L'ADN ainsi formé s'incorpore dans le génome de la cellule-hôte. Cette enzyme existe chez de nombreux Eucaryotes.

Transfection, n. f. – Incorporation d'ADN exogène (étranger) dans une cellule. Intégration *in vitro* dans une cellule eucaryote d'un ADN étranger. Infection par un virus qui apporte son propre ADN.

Transférase, n. f. – Famille d'enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe d'acide aminé, habituellement d'un α -amino acide à un acide α -cétonique.

Transformation cellulaire – Modification fonctionnelle de cellules animales normales cultivées. Ces modifications peuvent être produites par apport de virus oncogènes, par traitement avec des substances carcinogènes. Les cellules transformées se divisent indéfiniment, perdent l'inhibition de contact et présentent des caractères superposables à ceux des cellules cancéreuses.

Translocase, n. f. – Enzyme qui facilite le passage d'une molécule à travers une membrane.

Translocation, n. f. – Passage d'une molécule d'un endroit à un autre.

Transport axonal – Déplacement de molécules et de vésicules dans les axones des cellules nerveuses.

Triacylglycérol, n. m. – Famille de lipides communs dans les organismes vivants, désignés également par les termes de triglycérides ou de graisses neutres. Ce sont des esters non chargés de glycérol.

Trypsine, n. f. – Enzyme catalysant la digestion des protéines : elle se forme dans l'intestin par l'action de l'entérokinase sur le trypsinogène sécrété par le pancréas.

U

Ubiquinone, n. f. – Groupe de quinones solubles dans les lipides, qui possède une longue chaîne latérale isoprénolide (relatif à l'isoprène qui est un hydrocarbure inflammable liquide insaturé, C_5H_8 , employé particulièrement dans le caoutchouc synthétique). Ces quinones interviennent dans la phosphorylation oxydative en qualité de coenzyme assurant le transport d'électrons entre les flavoprotéines et les cytochromes de la chaîne respiratoire.

Ubiquitine, n. f. – Petite protéine globulaire appartenant à la famille des molécules chaperons, qui se combine aux protéines cytosoliques destinées à être dégradées par les protéasomes.

Ubiquitination, n. f. – Fixation de molécules d'ubiquitine sur une protéine.

Ubiquitinylé, e, adj. – Qui est lié à des molécules d'ubiquitine (les molécules ubiquitinylées sont reconnues par les protéasomes et dégradées).

Ultracentrifugation, n. f. – Ce terme désigne la centrifugation à une vitesse supérieure à 20 000 tours/min, obtenue grâce à des ultracentrifugeuses. On distingue : – des ultracentrifugeuses de préparation, utilisées pour concentrer les suspensions sous l'action de champs centrifuges parfois supérieurs à 100 000 g ou pour séparer des particules (organites par exemple) qui possèdent des densités différentes,

– des ultracentrifugeuses analytiques qui enregistrent, à l'aide d'un dispositif optique, le comportement des macromolécules. Dans les conditions normales, les forces de diffusion maintiennent les molécules en suspension. Si la force de centrifugation est supérieure aux forces de diffusion, les molécules protéiques sédimentent à partir de la surface du solvant, en laissant derrière elles le solvant pur. La « cellule » en quartz, où s'effectue la sédimentation par ultracentrifugation, permet d'observer 3 régions distinctes : le surnageant (solvant pur compris entre le ménisque et la couche sous-jacente),

la frontière ou zone de transition étroite (quasi interface) et une zone de concentration uniforme. La vitesse de déplacement de cette zone de transition indique la vitesse de déplacement des molécules, exprimée par le coefficient de sédimentation S (unité Svedberg). Les mouvements de cette zone de transition sont enregistrés par une caméra qui capte des rayons provenant d'une source lumineuse (UV pour les acides nucléiques).

Unité Svedberg (S) – Le coefficient de sédimentation S est obtenu en tenant compte, dans une ultracentrifugeuse, de la distance à l'axe de rotation, de la vitesse angulaire en radians par seconde, du temps en seconde. « S a les dimensions d'un temps variant entre $0,25 \times 10^{-13}$ et 500×10^{-13} S. Pour cette raison, on utilise une unité de mesure appropriée, le Svedberg : $S = 10^{-13}$ secondes » (EIST). Un coefficient de sédimentation de 30×10^{-13} secondes est désigné par 30 S.

V - Z

Vasopressine, n. f. – Hormone antidiurétique ou ADH. Cette petite hormone constituée par neuf acides aminés est synthétisée dans le péricaryon de certains neurones hypothalamiques, migre dans l'axone et est stockée dans la post-hypophyse. Elle contracte les artères, augmente la pression sanguine. Elle est déversée, sous contrôle, dans le sang.

Virus Sendai – Virus de la famille des Paramyxoviridae entouré d'une enveloppe. Il provoque chez l'enfant des infections respiratoires. Il pénètre dans la cellule par fusion de son enveloppe avec la membrane plasmique. Il peut provoquer des fusions cellulaires. Il est utilisé au laboratoire sous sa forme inactivée pour produire des hybrides de cellules somatiques.

Zonula, n. f. – Mot latin signifiant petite ceinture, utilisé pour désigner les jonctions intercellulaires qui ont la forme d'une bande continue autour des cellules épithéliales prismatiques.

Zymogène, adj. et n. m. – Précurseur fonctionnellement inactif d'une enzyme, la forme active étant produite par le clivage d'une courte chaîne polypeptidique. Grains de zymogène des cellules des acini pancréatiques. Syn. proenzyme.

A

- α -actinine, 135, 136
- α -oxydation, 480
- Acétylcholine, 55
- Acide arachidonique, 80, 81, 82
 - glutamique, 153
 - lysobisphosphatidique, 359, 442
 - lysophosphatidique, 136
 - okadaïque, 65
 - orthophosphorique, 186
 - phosphatidique, 390
- Académie hyperpipécholique, 485
- Acrosome, 452
- Actichrome, 233
- Actine F, 128
- Actine G, 128
- Activité peroxydasique, 467
- Adénine, 185
- Adénovirus, 390
- Adénylcyclase, 82
- Adhérence, 44, 78, **84-88**
 - cellule/matrice, 87
 - des cellules tumorales, 104
- Adhésivité intercellulaire, 104
- Adipocytes, 180
- ADN, 185, 268
 - alphoïde, 264, 268
 - antiparallèle, 188
 - centromérique, 269
 - circulaire, 8
 - d'origine maternelle, 299
 - double hélice, 187
 - espaceur, 207
 - gyrase, 193
 - mitochondrial, 313
 - nucléaire, 3, 185-200
 - polymérase, 195
 - — I, 192, 194
 - — III, 192-194
 - renaturé, 26
 - surenroulé, 3
 - télomérique, 195
- Adrénodoxine, 308
 - réductase, 308
- Adrénoleucodystrophie, 485
 - néonatale, 484
- Adressine, 86
- Agents antimittotiques, 273-274
- AKAP, 450, 505
- Aldostérone, 291
- Aminoacides hydrophobes, 41
- Aminopeptidases, 438
- Amorce d'ARN, 191
- AMP cyclique, 82, 89
- Amphipathie, 35, 40
- Amphiphile, 35
- Amplificateur, 207, 209
- Anaphase, 263, 264
- Ankyrine, 50, 140
- Anneau contractile, 135, 136, 265
 - cytoplasmique, 222
 - nucléoplasmique, 223
- Annexine, 1, 359
 - II, 39, 353
- Anticorps fluorescents anti-actine, 127
 - poly- ou monoclonaux, 22
 - secondaires, 23
- Antigènes d'histocompatibilité, 42
 - de la pemphigoïde bulleuse, 102
 - M, 42
 - N, 42
- Antigénicité, 36
 - des cellules tumorales, 105
- Antiport, 58
 - ATP/ADP, 308
 - malate/Pi, 308
- AP-endonucléase, 198
- Apo-B-protéine, 63
- Apocrine, 69
- Apoptose, **280-288**, 322
 - et cancer, 286
 - et sida, 287
 - et transplantation d'organes, 287
- Appareil de Golgi, 4, 358, **403-426**
 - et autophagie, 420
- Appariement, 187
- Appendices distaux, 502
- Aquaporines, 54
- Archæobactéries, 7
- ARN, 201-214, 226
 - polymérase, 202, 219
 - — I, 204 230
 - — II, 204, 227
 - — III, 204
 - ribosomal, 230, 373
- ARNm, 201, 374
- ARNmt, 315
- ARNr, 201
- ARNt, 201
 - initiateur, 374, 375
- Arthrite rhumatoïde, 281
- Assemblage des protéines ribosomales, 231-232
- Aster, 262
- Asymétrie de la bicouche lipidique, 36
- Ataxie de Friedreich, 338
 - spino-cérébelleuse, 339
- ATP, 4 56, 57, 65, 71, 129, 134, 139, 146

ATP synthase, 309
 ATPase, 56
 — de déshabillage, 63
 — mitochondriale, 332
 Atteintes fusoriales, 274
 Autophagie, 420, 446, 448
 Autophagolysosome, 446
 Autophagosome, 447
 Axonème, 511, 513

B

β -adaptine, 62
 β -oxydation, 478, 479
 Bactérie, 8
 — entéropathogène, 75
 — photosynthétique, 7
 Bande 3, 58
 — 41, 50, 140
 Battement ciliaire, 515
 Bicouche lipidique, 36
 Biosynthèse des lipides, 390
 Bordure ciliaire, 517
 — en brosse, 73, 74
 Bréfeldine A, 64, 65
 Brévine, 135
 Brin avancé, 191, 192
 — direct, 191
 — matrice, 188
 — retardé, 191, 193
 Bulle de transcription, 203

C

Cadhérine, 85, 92, 93, 94, 95 B
 — E, 90, 91
 Cadre de lecture, 201
Cænorhabditis elegans, 280
 Calcitonine, 452
 Calcium, 393, 419
 — cytosolique, 336
 Caldesmone, 134
 Calmoduline, 99, 353
 Calnexine, 388
 Calréticuline, 388
 CAMs, 84
 Canal calcique, 54
 — — transmembranaire, 221
 — chlore, 410
 — ionique, 41, 54, 309
 — à ouverture mécanique, 56, 76
 — CNG-dépendant, 55
 — dépendant des nucléotides cycliques, 55
 — ligand dépendant, 55
 — voltage dépendant, 54
 — périphérique, 223
 Cancérogenèse épithéliale, 95
 Capping, 48, 50
 Capsule, 8
 Carboxypeptidase, 438
 Cardiolipine, 45
 Carnitine, 324

Carnitine-acyltransférase, 309
 Caryodière, 262
 Caryophérine, 224
 Caspase, 280, 283, 285
 Catalase, 472
 Caténine, 91, 92, 95
 Cathepsine, 436
 Cavéole, 64, 65
 Cavéoline/VIP21, 64
 cdk, 275, 276, 277, 278, 279
 Ceinture d'adhérence, 137
 Cell coat, 2, 43-46
 Cellule, 1-31
 — anucléée, 180
 — auditive, 76
 — β des îlots de Langerhans, 70
 — de Leydig, 306
 — diploïde, 180
 — eucaryote, 1, 2-7
 — MDCK, 68
 — muqueuse, 179
 — phagocytaire, 66
 — présentatrice d'antigènes, 356
 — procaryote, 1, 7-10
 — tétraploïde, 180
 — tumorale, 103
 Cénexine, 505
 Centre cellulaire, 6
 — fibrillaire, 229
 — organisateur nucléolaire, 229
 Centrifugation isopycnique, 30
 — zonale, 29
 Centrine, 502, 505
 Centriole, 499-505
 — fils, 504, 508
 — père, 505
 Centromère, 184, 263, 264, 267
 Centrosome, 6, 505-507
 — acentriolaire, 506
 — mitotique, 509, 510
 Centrosomine, 503, 506
 Cérébroside, 17
 CGN, 406, 409, 410, 413, 414, 420
 Chaîne respiratoire, 7, 328-334
 Chambre de résorption, 452
 Chaperonine, 321
 Chaperonne, 155, 319
 — Hsp10, 319, 321
 — Hsp60, 155, 319, 321
 — TCP-1, 155
 Charge de surface, 45
 — des cellules tumorales, 104
 Chimiotactisme, 163
 Cholestérol, 36, 38, 39, 482
 — intramembranaire, 47
 Choline, 35
 Chondrodysplasie, 485
 — rhizomélisque ponctuée, 485
 Chromatide, 184, 263
 Chromatine, 181-184
 — périnucléolaire, 228

- sexuelle, 181
- Chromatophore, 8
- Chromosome, 3, 262, 263, 264, 265, 266-273
- acrocentrique, 229
- bi-orienté, 271
- métacentrique, 268
- métaphasique, 267
- subtélocentrique, 268
- télocentrique, 268
- Cils vibratiles, 162, **510-518**
- Cinguline, 90
- Clathrine, 61
- Clone, 28
- Coatomère, 412, 413
- Code génétique, 374
- Codon, 201
- Coefficient de partition, 52
- Cohésine, 264, 268
- Coiffe, 156
- de tubuline β -GTP, 158
- Colchicine, 75, 156
- Coloration négative, 16
- Compartiment de la membrane plasmique, 48
- Complexe, 328
- central, 223
- d'actomyosine, 146
- d'importation, 305, 310, 319
- d'initiation, 376
- de jonctions, 96
- du pore nucléaire, 221
- F_0 - F_1 , 333
- majeur d'histocompatibilité, 356
- rayonné, 223
- Composant fibrillaire, 229
- granulaire, 229
- Concentration ionique intracellulaire, 26
- Condensation des chromosomes, 262
- Connexine, 97, 98, 99
- Connexon, 98
- Constriction primaire, 263, 268
- secondaire, 263
- Contactine/F1, 85
- Contrôle de l'apoptose par la mitochondrie, 322
- du cycle cellulaire, **274-279**
- négatif de la traduction, 213
- COP, 412, 413
- Corps apoptotique, 280, 283
- intermédiaire, 266, 504
- multivésiculaire, 446
- muqueux de Malpighi, 102
- nucléaire, 214
- résiduel, 449, 451
- spirale, 215
- Corpuscule basal, 514
- de Barr, 181
- Correction sur épreuves, 197, 198
- Cortex cellulaire, 132
- Cortisol, 391
- Cotransport, 56, 58
- Crêtes mitochondriales, **306-308**
- Crinopectine, 104

- Crinophagie, 449
- Critispire, 8
- Cryodécapage, 20, 52
- Cryofracture, 19
- Cultures cellulaires, 28
- Cyanobactéries, 8
- Cyanophycées, 9
- Cycle cellulaire, **257-288**, 507
- de Krebs, 323, 326-327
- de l'urée, 327-328
- glyoxylique, 483
- rétrocontrôle, 279
- tricarboxylique, 326
- Cyclines, 276, 505
- Cyclo-oxygénase, 80, 81
- Cycloheximide, 233
- Cyclosome, 264
- Cytaster, 507
- Cytochalasine, 65, 67, 130
- Cytochrome b_5 , 471
- P450, 308, 391, 392, 471
- Cytochrome- b_5 -réductase, 381
- Cytochrome-oxydase, 316, 328
- Cytochrome-P450-réductase, 381
- Cytodiérèse, 265-266
- Cytokératine, 95, 102, 149, 150
- Cytokine, 80, 81
- Cytomégalovirus, 390
- Cytométrie à flux continu, 28
- Cytosine, 185
- Cytosol, 6
- Cytosquelette, 6, **127-164**

D

- 2-désoxy-D-ribose, 186
- D-amino-oxydase, 5, 472
- Dégradation apoptotique de l'ADN, 286
- des ARNm, 213
- Degrés de spiralisation de l'ADN, 183
- Dénaturation de l'ADN, 26
- Déplacement des organites, 138
- Dépolymérisation des microtubules, 158
- Dermatose bulleuse, 95
- Désamination, 323
- Desmine, 95, 148, 151
- Desmocolline, 90, 93
- Desmoglérine, 90, 93
- Desmoplakine, 94, 95
- Desmosome, 93-96
- ceinturant, 91
- monocellulaire, 101
- Désoxyribonucléotides, 185, 186
- Détoxification, 392
- Diacylgcérol, 82
- Diaçytose, 445
- Diaminobenzidine, 467
- Diapédèse, 73
- Dictyosome, 4, **405-407**
- Diffusion canalisée, 50
- latérale, 46

- limitée, 48
- simple, 51
- DIG, 39, 64
- Digitaline, 57
- Dimères $\alpha\beta$, 154
- Diplosome, 163, 262, 263, 507
- Division des mitochondries, 312
- du centrosome, 262
- Dolichol, 385
- Domaine centromérique, 268
- FYVE, 353
- RBD, 211
- Double couche lipidique, 2
- Doublet, 511, 516, 517, 518
- Duplication de l'ADN, 189, 262
- Dynamine, 62, 161
- Dynéine, 159, 162, 269, 271, 506, 511, 516
- Dysfonctionnements mitochondriaux, 338, 339
- Dystrophine, 135, 147

E

- Échangeur Na⁺/glucose, 58
- Échanges d'informations, 79-84
- Édition d'ARN, 212
- Effet tunnel, 13
- Effets de position, 200
- EGF, 258
- Eicosanoïde, 79, 80, 81, 82
- Élongation, 376
- Endocytose, 59-68
- Endopeptidase, 438
- Endoprotéase, 419
- Endosome, 5, 63, 351-361
- de recyclage, 354
- de tri, 353, 355
- précoce, 5, 63
- tardif, 5, 357-359
- Engrènements, 77, 78, 79
- Enhancer, v. Amplificateur
- Entérocyte, 44, 51, 97
- Enveloppe nucléaire, 3, 177, 219-221
- Enzymes lysosomales, 439
- membranaires, 471
- peroxysomales, 477
- Épidermolyse bulleuse, 103
- Épiligrine, 102
- Épissage, 210
- ERGIC, 412
- Érythroblaste, 180
- Érythrocyte, 34, 53
- Escherichia coli, 187
- Espaces interchromatiniens, 177, 181, 214-216
- périnucléaire, 177
- Espaceurs intergéniques, 229
- intragéniques, 229
- — non transcrits, 232
- transcrits, 233
- Ester de phorbol, 65
- Étiquetage des protéines lysosomales, 421
- Eubactéries, 7

- Euchromatine, 3, 177, 181, 185
- Excision-réparation, 198, 199
- Excrétion constitutive, 70
- contrôlée, 70
- Exocytose, 69-72, 139, 355
- continue, 70
- discontinue, 70
- Exon, 199
- Exonucléase, 192
- Exopeptidase, 438
- Exportation de l'ARNm, 227
- Exportine, 225, 226

F

- Face cis, 405
- trans, 405
- Facteur de croissance, 258
- de transcription, 207
- MPF, 277
- promoteur de la mitose, 277
- FAD, 327, 329, 330, 331
- Faisceaux contractiles, 135-137
- de microfilaments, 127
- serrés, 137
- Famille GPCR, 81
- Farnétylation, 259
- Ferritine, 337, 338
- Feuillet osmophile, 34
- FGF, 258
- Fibres d'interconnexions du centriole, 502
- de collagène, 102
- de Purkinje, 99
- de tension, 135
- nucléosomiques, 181-184
- rayonnantes, 512
- Fibrillarine, 215, 229, 232, 234
- Fibrilles périchromatiniennes, 211, 214
- Fibronectine, 43, 45, 87, 136
- Figure myélinique, 450
- Filaments A, 89, 90
- de myosine, 144
- hémi-nucléosomiques, 207
- I, 89
- intermédiaires, 6, 94, 95, 101, 127, 148-152
- — de cytotératine, 148
- — de lamine, 148
- — hétéropolymère, 149
- — homopolymère, 148
- Filamine, 139
- Filipine, 65
- Filopode, 130
- Fimbriæ, 75
- Fimbrine, 74, 137
- Flexibilité des lipides, 47
- Flip-flop, 47, 49
- Flippase, 47, 391
- Fluidité membranaire, 38
- des cellules tumorales, 103
- Fluorescence primaire, 12
- secondaire, 12

Fluorophore, 47
 Flux centripète, 414
 — membranaire, 414
 — vectoriel, 414, 415
 Force d'attraction astrale, 273
 — de van der Waals, 39
 Formation de la cape, 164
 — du nucléole, 233, 234
 Formyl-méthionyl-ARNt, 374
 Fourche de réplication, 189
 Fragment d'Okazaki, 156, 191
 Frataxine, 338
 Fuseau mitotique, 157, 503

G

Gaine centrale, 513
 — de Schwann, 100
 Gammosome, 155
 Ganglioside GM1, 65
 Gap junction, 97
 GDP, 82
 Gélation, 139
 Gelsoline, 135, 139
 Gènes, **199-200**, 206, 314
 — de classe I, 206
 — de classe II, 207, 232
 — de classe III, 207
 — de la β -globine, 207
 — ICE, 280
 — mitochondriaux, 314
 — PEX, 472
 Génome mitochondrial, 313
 Géphyrine, 161
 Ghost, 35
 Glucagon, 99
 Glucose, 53
 Glucose-6-phosphatase, 381
 Glycérol, 35
 Glycogénose II cardiomyoculaire, 454
 Glycolipides, 36, 43
 Glycolyse, 323
 Glycophorine, 44
 Glycophosphatidylinositol, 42, 64
 Glycoprotéine, 43, 44, 48, 417, 442
 — bande 3, 50
 — extrinsèque, 43, 44
 — gp120, 42
 — N-CAM, 42
 — transmembranaire, 44
 Glycosylation, **384**
 Glycosylphosphatidylinositol, 39, 386
 Goutte, 163
 GPI, 42
 Gradient de concentration, 52, 53, 58
 — de protons, 331, 332
 Grains de sécrétion, 140, 405, 411
 — interchromatiniens, 215
 — périchromatiniens, 215
 Graisse brune, 336
 Granulocyte, 66

GTP, 62
 GTP-gS, 62
 Guanine, 185
 Guanylate kinase, 90

H

Hélicase, 193
 Hélice α , 41, 42, 44
 — de Lynen, 325-326
 Hématie, 34-35, 44, 180
 Hémidesmosome, 101-103
 Hémolyse, 34
 Hépatocyte, 178
 Hérité maternelle cytoplasmique, 314
 Hétérocaryon, 49
 Hétérochromatine, 177, 181, 184-185
 — constitutive, 184
 — facultative, 184
 — périphérique, 178
 Hétérodimères $\alpha\beta$, 156
 Hétéroduplex, 26
 Hétérolysosome, 446
 Hétérophagie, 443
 Histamine, 79, 86
 Histochemie, 20
 Histone, 181, 182, 183, 231, 261
 HIV, 224
 hnRNP, 211
 Hormone parathyroïdienne, 452
 — stéroïde, 335
 — thyroïdienne, 360
 Hyaloplasme, 6
 Hydrolase lysosomale, 438
 Hyperoxalurie, 486
 Hypertrophie nucléolaire, 236
 Hypolipémiant, 473

I

I-CAM-1, 85
 IF1, 224
 IF2, 224
 IF3, 224
 IFAP 300, 102
 Ig CD4, 31
 IGF, 258
 Immunofluorescence directe, 23
 — indirecte, 23
 Immunoglobulines, 48, 66, 84B
 IMP70, 281
 Importation des protéines, 475
 Importine, 224
 Inactivation nucléolaire, 234
 Infection virale, 361
 Inhibiteur compétitif, 53
 — de la polymérisation, 156
 — non compétitif, 53
 Inhibition de contact, 28, 43, 86, 100
 — des cellules tumorales, 105
 Inositol triphosphate, 82
 Instabilité dynamique des microtubules, 157

Insuline, 360
Intégrines, 45, 86, 87, 102, 103, 136 B
Interdigitation, 78
Interphase, 258-260
Intimine, 75
Intron, 199

J

Jonctions communicantes, 92, **97-101**, 162
— étanches, 88
— intercellulaires, 3, 88-103
— intermédiaires, 91, 92, 96, 135
— lacunaires, 97
— serrées, 51, 88-90, 92, 96
— type fascia, 88
— type macula, 88
— type zonula, 88

K

Katanine, 506
KDEL, 234, 238
Kendrine, 502
Kératine, 149
Kératinocyte, 180
Kinase, 161
Kinesine, 71, 159, 162, 408
Kinétochore, 184, 263, 264, 267, **269-273**

L

L- α -hydroxy-oxydase, 472
L-sélectine, 73
Lame basale, 77
Lamellipode, 137
Lamina, 3
— lucida, 102
Lamine, 152, 216-218, 220, 259
Laminine, 43, 45, 87, 147
Lamp, 437, 441, 442
LDL, 63
LEC-CAM, 85
Lectine, 105
Lésions de l'ADN, 273
Leucocyte, 73
Leucotriène, 79, 80
LFA-1, 61
Liaison covalente, 42
— électrostatique, 42
— non covalente, 41
Ligase, 191, 194, 198
Lipides, 35, 46, 47, 408
Lipofuscine, 450
Liposome, 37, 52, 101
Lipoxygénase, 80
Listeria monocytogenes, 142
Lupus érythémateux, 281
Lymphocyte T cytotoxique, 281
Lysosome, 5, 361, **437-455**

Macrophage, 66
Macropinocytose, 65
Macroségrégation, 235, 236
Macula adhærens, 93
MAG, 85
MAGUK, 90
Maladie acantholytique, 95
— auto-immune, 281
— d'Alzheimer, 159
— de Chadiak-Streinbrink-Higashi, 453
— de Charcot-Marie-Tooth, 100
— de Duchenne, 148
— de Fabry, 454
— de Gaucher, 454
— de Huntington, 339
— de Hurler, 454
— de Kennedy, 339
— de Niemann-Pick, 454
— de Pompe, 454
— de Refsum, 480, 486
— de Refsum infantile, 485
— de surcharge, 454
— de Tay-Sachs, 454
— de Wolman, 454
— de Zellweger, 484
— génétique, 100
— lysosomales, 453
— mitochondriale, 338
— neurodégénérative, 339
— peroxysomale, 484
Mannose-6-phosphate, 422
Mannosidases, 409
Marche forcée, 271
Marquage des molécules, 21
Marqueur des microtubules, 154, 159
— Lamp, 362
Matrice extracellulaire, 45, 50
— mitochondriale, 311
— nucléaire, 216-219
Maturation du transcrit primaire, 210-211
Maturation de l'ARNr, 232
— des grains de sécrétion, 424
— des phagosomes, 445
Mégacanaux, 309, 336
Membrana tectoria, 76
Membrane plasmique, 2, **33-105**
— — apicale, 73-77
— — basale, 77-79
— — des cellules tumorales, 103
Méromyosine, 145
Mérotomie, 177
Mésosome, 9
Métabolisme de l'alanine, 482
— de la lysine, 482
— de la tri-iodothyronine, 483
— des acides aminés, 482
— des purines, 481
Métaphase, 263, 268
Micelle, 37

- Microdissection, 29
 - Microfibrilles de laminine, 102
 - Microfilament d'actine, 6, **127-148**, 145
 - Microscope à balayage confocal, 12
 - à contraste de phase, 10
 - à fluorescence, 11
 - à balayage, 12
 - à force atomique, 13
 - électronique à balayage, 12
 - à haut voltage, 13
 - à transmission, 12
 - optique en lumière transmise, 10
 - polarisant, 11
 - Microségrégation, 235, 236
 - Microsome, 380
 - Microtubules, 6, 62, 74, 127, 153-164, 356, 407, 504
 - astériens, 262
 - kinétochoriens, 263
 - labiles, 157
 - polaires, 263
 - stables, 157, 158
 - Microvillosité, 3, 73-75, 137
 - groupées, 73
 - isolées, 73
 - Migration cellulaire, 140
 - Minichaine respiratoire, 484
 - Mitochondrie, 4, **299-339**
 - condensée, 311
 - orthodoxe, 311
 - et aminoacides, 323
 - Mitochondriodierèse, 312
 - Mitoribosome, 315
 - Mitose, 261-266
 - Modèle en mosaïque, 38
 - Molécule d'adhésivité, 84
 - hétérophile, 84
 - homophile, 84
 - Mononucléotides, 185, 186
 - Mottes de chromatine, 3
 - de tapis roulant, 131
 - en crochet, 515
 - pendulaire, 515
 - Mort et renouvellement des mitochondries, 312-321
 - Mouvement des mitochondries, 302-303
 - MTOC, 6, 153, 155, 505, 506
 - Mycoplasme, 7, 9
 - Myocyte strié, 142
 - Myofibrille, 144
 - Myopathies familiales, 151
 - Myosine, 444
 - I, 74, 137, 138, 139, 140
 - II, 135, 136, 144, 265
 - V, 74
- N**
- N-CAMs, 84
 - N-glycosylation, 5, 384, 417, 439
 - Na⁺/K⁺-adénosine triphosphate, 56
 - NAD cytosolique, 327
 - NADH cytosolique, 330
 - matriciel, 330
 - NADPases, 409
 - Navette glycérol-phosphate, 309 324, 330
 - malate aspartate, 308, 323, 330
 - Nébuline, 143, 144, 147
 - Nécrose, 280
 - Neuroblaste, 150
 - Neurofibromine, 161
 - Neurofilament, 151, 152
 - Nexine, 160
 - Ng-CAM/LI, 85
 - NGF, 151, 258
 - Nicotinamide adénine dinucléotide, 326
 - Ninéine, 505
 - Nitrate de lanthane, 97
 - Nocodazole, 68, 156
 - Normoblaste, 180
 - NOR, 229
 - Noyau, 3, **177-237**
 - Nucléase, 214, 438
 - de réparation de l'ADN, 198
 - Nucléation des MFs, 129, 137
 - des MTs, 504, 505
 - Nucléotide, 8, 467, 468
 - Nucléole, 3, 4, 177, 227-237
 - Nucléoline, 230, 232
 - Nucléophosmine, 505
 - Nucléoplasme, 3, 177
 - Nucléoside, 185
 - Nucléosome, 181, 182, 207
 - Nucléosquelette, 148
 - Nucléotide, 185-186
- O**
- O-glycosylation, 5, 416
 - Objet d'amplitude, 10
 - de phase, 10
 - Occludine, 90
 - Œil de réplication, 189, 190
 - Oligosaccharides, 438
 - Opsonisation, 66
 - Organisateur nucléolaire, 265
 - Origines de réplication, 184
 - Ostéoclaste, 178, 451
 - Ouabaïne, 57
 - Oxydation, 480
 - des acides gras, 325
- P**
- PACAP, 81
 - Pancréas, 411
 - Papaïne, 145
 - Paracoccus denitrificans, 321
 - Paroi centriolaire, 500
 - mitochondriale, 304
 - Pars amorpha, 235
 - Patch-clamp, 27
 - PC, 237
 - PCM-1, 506
 - PDGF, 258

- PE, 237
- Pemphigus, 103
 - vulgaire, 95
- Péricentrine, 155
- Périphérine, 148, 151
- Perméase, 53, 54
- Peroxine, 471
- Peroxydase-catalase, 472
- Peroxisome, 5, **467-486**
- Phagocytose, 66, 67, 163
- Phagolysosome, 67
- Phagosome, 66, 67, 161, 443, 445
- Phalloïdine, 130
- Phase d'élongation des MTs, 155
 - de nucléation des MTs, 155
 - G0, 259, 260
 - G1, 218, 258, 259-260, 266
 - G1-pm, 259
 - G1-ps, 259
 - G2, 258, 260-261
 - M, 261, 266
 - rhéologique, 67
 - S, 258, 260, 266
- Phosphatases, 438, 409
- Phosphatidylcholine, 36, 390
- Phosphatidyléthanolamine, 37, 390
- Phosphatidylinositol, 390
- Phosphatidylsérine, 37, 390
- Phospholipase, 80
- Phospholipides, 35, 335
- Phosphorylation, 329, 332
- Phosphotransférases, 409
- Photolyase, 198
- Phylogénèse des mitochondrie, 321
- Pili, 9, 75
- Pinces laser, 48
 - optiques, 48
- Pinocytose, 59-65, 163
 - à vésicules à manteau de clathrine, 60
 - — lisses, 60
- Pixels, 27
- Placode, 163
- Plakoglobine, 91, 92, 94, 95
- Plaque basale, 513
 - desmosomale, 93, 94, 102
 - marginale, 467, 469
- Plasmode, 178
- Plasmodièrèse, 265
- Plateau strié, 73
- Pleckstrine, 130
- Plectine, 102
- Pneumoconiose, 453
- Podophylline, 156
- Point de contact focal, 104, 135, 136
 - de contrôle, 275, 277-278
 - de restriction, 259, 274
 - initiateur de la réplication, 189
 - S, 277
- Polarisation des microfilaments, 130 B
- Polarité cellulaire, 163 B
 - du dictyosome, 405 B
- Polycaryon, 266
- Polymérisation de l'actine F, 129-131
 - des MTs, 155, 156
- Polysaccharidase, 438
- Polysome, 377
- Pompe à protons, 65, 410, 420, 441, 442, 446, 452
 - à sodium, 56
- Pont de nexine, 513
- Pool de tubulines, 156
- Pores, 3, 52, 177, 336
 - anioniques voltage-dépendants, 304
 - d'hémolyse, 34
 - de fission, 62
 - de fusion, 71, 72
 - modèles de proximité, 71
 - nucléaires, 221-227
 - de transition de perméabilité, 336
- Porine, 304, 320, 442
- Potocytose, 64
- Pré-ARNm, 213
- Prégnénolone, 391
- Prélysosome, 445
- Premier messenger, 81
- Préproinsuline, 424
- Préprophase, 157
- Préprotéines, 319
- Primase, 192, 193, 194
- Primosome, 192
- Procaspase 8, 285
- Procentriole, 507, 508, 509
- Profiline, 133
- Prohormone convertase, 419
- Proinsuline, 424
- Prométaphase, 263
- Promoteur, 183, 199, 202, 204
- Prophase, 262
- Proprotéine, 424
- Prostacycline, 79, 80
- Prostaglandine, 79, 80
- Protéases, 438
- Protéasome, 388, 390
- Protéines, 46, 383
 - à domaine M9, 226
 - à Leu zipper, 188, 209
 - à NES, 224
 - à passage multiple, 54
 - à traversée unique, 40, 383
 - multiples, 40, 383
 - ABC, 471
 - ABP, 133
 - Apaf-1, 283
 - ARF, 413
 - associée, 158, 188
 - bactérienne ActA, 142
 - bande 3, 41
 - bande 41, 50, 140
 - Bap 90, 502
 - bcl-2, 283, 305
 - BiP, 388
 - bitopique, 40
 - caryophiles, 224

- cdc42, 130
- Cdk, 275, 276
- CENP, 270
- chaperonnes, 63
- CKI, 275, 277
- CLIP170, 161, 357
- d'ancrage, 41
- d'échafaudage, 271
- d'emballage, 134
- d'inhibition de la formation d'actomyosine, 134
- de blocage des extrémités, 134
- de coiffe, 134
- de découplage, 311
- de fragmentation, 135
- de fusion, 72
- de liaison aux membranes, 135
- de l'actine, 132-135
- de réticulation, 134
- de séquestration, 133
- de stabilisation, 134
- — latérale, 135
- de transfert des phospholipides, 391
- dnaA, 190
- dnaB, 190
- dnaC, 190
- dnaG, 192
- DPI, 387
- EEA, 352
- en doigts de zinc, 188, 209
- extrinsèques, 42
- fibrillaire, 216
- fusogène, 71
- G, 408,
- — hétérotrimérique, 22
- — Ras, 42
- GFAP, 151
- hélice-tour-hélice, 208
- hémidesmosomale, 103
- HMG, 183
- HMW, 158
- Hsp70, 475
- IcsA, 142
- inhibitrices CHIs
- kinase, 37 83
- kinétochorienne, 269, 270
- MAP, 158-161
- membranaires, 40-43, 409
- mitochondriale, 315
- monotopique, 41
- motrice, 271
- Nef, 281
- NLS, 224
- non histone, 188
- non MAP associée aux microtubules, 160
- NPC, 362
- NSF, 424
- nucléaire, 224
- NuMA, 218
- p16, 279
- p21, 279
- p53, 279, 281

- périphérique, 42
- PEX, 471
- polytopique, 40
- porteuses, 53, 442
- Rab, 352, 359, 425
- Rb, 277
- régulant la dépolymérisation, 133
- résidente, 393
- Rev, 225
- Rho, 136
- ribosomale, 231, 373
- SAM, 50, 67
- single pass, 40
- SMC, 260
- SNAP, 424
- SNARE, 425
- SR, 211
- SSB, 191, 193
- TAP, 68, 227
- Tau, 158, 159
- Tim, 305, 319
- Tir, 75
- Tom, 305, 319
- transmembranaire, 40
- t-SNARE, 425
- type I, 40
- — II, 40
- UCP, 336
- v-SNARE, 425
- WAS, 130
- Protéogénèse, 373
- Protéoglycane, 43, 418
- Proton H⁺, 329
- Protofilaments, 154
- Protoplasme, 2
- Pseudopode, 67
- PTP, 309
- Puit recouvert, 61, 62

R

- Rabaptine, 352
- Racine ciliaire, 514
- Rapport nucléoplasmatique, 180
- Récepteur-enzyme, 83
- Récepteur à activité guanylate cyclase, 83
- — tyrosine kinase, 83
- adaptine-dépendant, 60
- β -adrénergique, 81
- cytoplasmiques, 207
- d'importation des protéines, 305, 319
- de l'épinéphrine, 41
- de la fibronectine, 86
- de la laminine, 86
- de la vitronectine, 86
- des glycolipides, 36
- des stéroïdes cardiotoniques, 57
- du glutamate, 81
- du mannose-6-phosphate, 359
- InsP3R, 393
- LDL, 63

- membranaire, 81-84, 208, 284
- RyR, 393
- Reconnaissance des molécules, 3
- Recyclage de la membrane plasmique, 415
- REG, 439
- Régions cis, 406
- de régulation, 183
- du calcium cytosolique, 336-337
- flanquantes, 199
- médianes, 406
- nucléolaires, 229
- régulatrices distales, 200
- trans, 407
- Régulation de la transcription, 207
- de SPF, 278
- globale du transfert des ARNm, 213
- post-transcriptionnelle, 212
- Réparation de l'ADN, 196-199
- Réplication, 188
- bidirectionnelle, 190
- dans les cellules eucaryotes, 194
- dans les cellules procaryotes, 190
- des télomères, 195, 196
- orientée, 189
- semi-conservatrice, 188
- Repliement des protéines, 387
- Replis de la membrane, 77
- Répresseur, 207, 209
- Réseau canaliculaire, 470
- fibreux, 216
- Respiration cellulaire, 328-334
- Réticulation des microfilaments, 139
- Réticulocyte, 180
- Réticulum endoplasmique, 4, 371, 379
- sarcoplasmique, 146
- Rétinoblastome, 277
- Rhodospseudomonas sphéroïdes, 321
- Ribosome, 8, 371-379-393
- Rickettsies, 8
- Rythme isochrone, 517
- métachrone, 518

S

- Sacculles, 405, 410
- SAMs, 86, 87
- Sarcomère, 144
- Sarcoplasme, 144
- Satellites centriolaires, 501, 502
- Scissiparité, 7
- Sclérodermie, 155
- Sclérose latérale amyotrophique, 152, 339
- Second messenger, 82
- Sécrétion constitutive, 413
- contrôlée, 413, 421
- Sécurine, 264
- Ségrégation nucléolaire, 235
- Sélectines, 85
- Séparase, 264
- Séquence CAAT, 199
- d'adressage, 443
- TATA, 199

- télomérique, 184
- Sérotonine, 79
- Shigella flexneri, 142
- Sialylation, 410
- Signal autocrine, 79
- d'adressage nucléaire, 224
- d'exportation, 225
- d'inhibition de la vésiculation, 421
- d'initiation de transfert, 383
- de rétention, 420, 421
- de tri, 423
- endocrine, 79
- mitogène, 260
- NLS, 224
- paracrine, 79
- peroxysomal, 475
- Sos, 199
- Silencer, 207
- Sillon de division, 265
- Site A, 371
- AP, 198
- CRE, 208
- d'initiation, 199
- de fixation, 220, 372
- de liaison, 372
- de sortie, 373
- GTPasique, 373
- oriC, 190
- P, 371
- peptidyl-transférase, 373
- SnRNP, 211
- Solénoïde, 183
- Sonde à ADN, 24
- Spécialisations de la membrane plasmique, 73-79
- Spectrine, 140
- Sphingoglycolipides, 36
- Sphingolipides, 36, 39, 418
- Sphingosine, 36
- Spirochètes, 9
- Spliceosome, 211, 215
- Stabilité membranaire, 38
- Stérocils, 76
- Stéroïdogenèse, 391
- Streptococcies, 453
- Structure en triple feuillet, 34
- Sulfatases, 409
- Sulfatation, 410, 418
- Superoxyde dismutase, 152, 339
- Superspiralisation de l'ADN, 183
- Symport, 58
- métabolite/H⁺, 309
- Synapses, 97
- Syncytium, 178
- Synthèse de l'ARNmt, 316
- des glycérolipides, 480
- des hormones thyroïdiennes, 360
- des protéines, 316
- des ARNr, 230-231
- Système en roue de charrette, 499, 501
- endomembranaire, 33
- histocytaire, 356

T

3-méthyl-histidine, 128
 Taline, 87, 136
 TATA box, 204
 Taxol, 156
 Techniques d'étude, 1, **10-31**
 — d'ultracentrifugation, 29
 — de coloration, 16
 — de fixation, 16
 — de préparation, 15
 — — en microscopie électronique, 16
 — — —optique, 15
 — de récupération de la fluorescence, 47
 — histochimiques, 20
 — immunoenzymatiques, 23
 — SPT, 47
 Tektine, 512
 Télomérase, 196
 Télomère, 184, 267
 Télophase, 265
 Tension superficielle, 40
 TF, 141, 144
 TF3A, 124
 TGF- β , 178
 TGN, 244, 248, 254
 Théorie endosymbiotique, 321
 Thermogenèse, 336
 Thermogénine, 336
 Thésaurismose acquise, 455
 — d'origine génétique, 454
 Thioacétamide, 231
 Thrombine, 86
 Thromboxane, 79, 80, 81
 Thymidine kinase, 99
 Thymine, 185
 Thymosine β , 133
 Tige, 291, 297, 298, 299, 300
 Tight junction, 88
 Titine, 143, 144, 147
 TNG, 264
 Tomographie photonique, 12
 Topoisomérase, 264
 Toxine cholérique, 65
 Traduction, 374
 Transaminase, 323
 Transcriptase, 206
 Transcription de l'ADN, 183, 202, 204, 230
 — chez les Eucaryotes, 204
 — chez les Procaryotes, 202
 Transcrit, 115
 — primitif, 142, 145
 Transcytose, 67, 68, 356, 445
 — induite, 68
 Transducteur, 82
 Transférase, 195, 409
 Transfert du pyruvate dans la mitochondrie, 322
 Transformation lymphoblastique, 139
 Transit des protéines, 410
 Translocase, 34

Translocation des protéines, 381, 388
 Translocon, 382, 388
 Transpeptidation, 37
 Transport actif, 56-59, 224
 — axonal, 152, 162
 — cytotique, 59-72
 — de RNPs, 164
 — des électrons, 329
 — dirigé, 50
 — du cholestérol, 63
 — passif, 51-56, 223
 — perméatif, 51-59
 Transporteur, 53
 — d'électrons et de protons, 310
 — de glucose, 53
 Transportine, 226
 Triacylglycérols, 324
 Trieur de cellules par fluorescence, 28
 Triplet, 289, 290, 291, 299
 Triskélion, 61
 Tropomoduline, 134
 Tropomyosine, 134, 145
 Troponine, 146
 Trypsinogène, 424
 t-SNAP, 422
 t-SNARE, 353
 Ts, 225
 TSH, 20
 Tu, 225
 Tubuline, 156, 505
 Tuméfaction trouble, 215, 216, 218
 Tumorigenèse, 100
 Turn over, 269
 Tyrosine kinase, 90
 — — Src, 42

U

UAA, 126
 UAG, 126
 Ubiquinone, 200
 Ubiquitinylation, 420
 UGA, 126
 Ultracentrifugation, 29
 Ultrastructure des mitochondries, **303-312**
 Uniport, 53
 Unités d'oxydation, 328
 — tripartites, 195, 196
 Uracile, 125
 Urate oxydase, 472, 482
 Uricase, 5, 468, 472
 UTP, 145
 Uvomoruline, 90

V

Vacuoles autophagiques, 420
 — d'endocytose, 445
 — de pinocytose, 161
 — hétérophagiques, 446
 Vasopressine, 54

Vésicules à clathrine, 60, 407
— à hydrolases, 439
— cristalliniennes, 163
— d'endocytose, 59, 352
— de recyclage, 355
— de transition, 244, 255
— de transport des hydrolases, 422
— ECV, 5
— endosomales, 357
— synaptiques, 355
Villine, 74, 137, 139
Vimentine, 148, 150
Vinblastine, 75, 156
Vincristine, 156
Vinculine, 87, 136
Virion, 6
Virus, 1
— d'Epstein Barr, 390
— de l'encéphalite, 361
— de l'Herpes simplex, 390
— de la grippe, 72
Vitesse de polymérisation des MTs, 156
VLA-5, 61

Voie constitutive, 49
— endosomale, 440
— induite, 49
— lysosomale, 441
— sécrétoire, 441
Volume nucléolaire, 234
V-SNAP, 422
V-SNARE, 353

W

Wiskott-Aldrich syndrome, 130
Wortmannine, 439

Z

ZO1, 69
ZO2, 69
Zone de transition, 513
Zonula adhærens, 91
— occludens, 90
Zooglie, 5
Zymogène, 424

Imprimé en Belgique

583549 - (I) - (6) - CSB-G90° - SNEL

MASSON Éditeur
120, boulevard Saint-Germain
75280 Paris Cedex 06
Dépôt légal : octobre 2002

Achevé d'imprimer sur les presses de la
SNEL S.A.
rue Saint-Vincent 12 – B-4020 Liège
tél. 32(0)4 344 65 60 - fax 32(0)4 3437750
septembre 2002 - 23512

ABRÉGÉS

Cours + exos

Biologie cellulaire

L'ouvrage

- Correspond aux orientations thématiques des enseignements : la cellule eucaryote est présentée dans sa globalité à la lumière des plus récentes découvertes. Cette nouvelle édition intègre, pour chaque chapitre, les avancées scientifiques les plus significatives dans le domaine de la biologie cellulaire.
- Comprend l'essentiel du cours pour acquérir les connaissances, s'informer, réviser, 700 QCM et QROC et des exercices à partir de photos à légender pour s'évaluer et s'entraîner aux concours.
- Comporte :
 - Chaque chapitre est consacré à l'étude concise, claire et approfondie d'un organe.
 - Les conséquences pathologiques du dysfonctionnement de chaque organe concluent chacun des chapitres.
 - Un glossaire de plus de 1 000 termes permet de se familiariser avec la terminologie de la matière.
 - Des QCM, des QROC et des photomicrographies en microscopie électronique (avec les réponses commentées) à légender illustrent chacun des chapitres et permettent un entraînement pour les concours.

Le public

- Les étudiants du 1^{er} cycle des études médicales.
- Les étudiants de pharmacie, sciences de la vie, en prépa vétérinaire ou agro.
- Les étudiants en maîtrise de sciences biologiques et médicales.
- Les professeurs de SVT du secondaire pour lesquels il constitue un ouvrage de référence.

L'auteur

Marc Maillet est docteur en médecine, docteur ès sciences d'état, ex-professeur titulaire de la Chaire d'histologie, d'embryologie et de cytogénétique, ancien pasteur, fondateur du département de microscopie électronique de la faculté de Tours, Président honoraire de l'université François-Rabelais de Tours.

En complément chez Masson :

- Anatomie générale
par Jean-Paul Chevrel
ISBN 2-294-00004-8

- Biophysique
par Pierre Galle
et Raymond Paulin
ISBN 2-225-85636-2

- Chimie générale
par Gérard Germain et coll.
ISBN 2-294-00005-6

- Biochimie génétique
Biologie moléculaire
par Jacqueline Etienne
et Éric Clauser
ISBN 2-294-00447-7

- Biomathématiques
par Simone Bénazeth et coll.
ISBN 2-225-83465-2

- Chimie organique
par Hervé Galons
ISBN 2-225-83466-0

- Embryologie
par Martin Catala
ISBN 2-225-83547-0

- Évolution de l'organisation
animale
par Jean Bailenger
ISBN 2-294-00445-0

- Histologie, les tissus
par Jacques Poirier et coll.
ISBN 2-294-00814-6

- Initiation à la connaissance
du médicament
par Jean-Marc Aiache,
Simone Aiache, Robert Ren
ISBN 2-294-00547-3

- Probabilités et statistique
par Alain-Jacques Valleron
ISBN 2-225-85701-6