



Stage de Pré-Rentrée du Tutorat

26 Août – 7 Septembre 2019

Polycopié de Biologie Cellulaire

UE 2 : La cellule et les tissus

Fiches de cours

Énoncés des exercices

Ne peut être vendu ou utilisé dans un but commercial sous peine de poursuites

Chapitre I : Introduction à la biologie cellulaire.	2
Introduction au monde du vivant.	2
Outils d'études des structures et des fonctions cellulaires.	3
La microscopie	3
Techniques de marquage	6
La cytométrie en flux et trieur de cellules	7
Culture cellulaire	8
L'autoradiographie	8
L'expérience de pulse-chase	8
Exercices	9
Chapitre II : Le cytosquelette	14
Présentation du cytosquelette	14
Les filaments intermédiaires	15
Les microtubules	16
Les microfilaments d'actine	19
TABLEAU RÉCAPITULATIF	21
Exercices	22
Chapitre III : Noyau Interphasique	25
Présentation générale	25
Chromatine	28
Le nucléole	31
Les fonctions du noyau	31
Exercice	35
Chapitre n°4 : Jonctions cellule-cellule et cellule-matrice :	40
Interactions cellule-cellule	40
Interaction cellule-matrice	44
La matrice extra-cellulaire	47
TABLEAU RÉCAPITULATIF	49
Exercices	50
Chapitre BONUS V : Introduction à l'histologie	54
Introduction	55
La matrice extra-cellulaire	58
La membrane basale	61
Réaliser une coupe histologique	63
Exercices	65

Chapitre I : Introduction à la biologie cellulaire.

I. Introduction au monde du vivant.

On divise habituellement le corps humain en différents compartiments. Un être humain peut être décrit comme une somme de systèmes, chacun composé d'un assemblage d'organes, formés de tissus eux-mêmes composés de cellules qui contiennent de nombreux organites composés eux-mêmes de molécules. L'objet des UE1 et 2 est de comprendre comment, à partir de simple molécules inertes, on arrive à la vie.

L'objet de la biologie est de connaître :

- la forme, les propriétés et les fonctions des cellules et de leurs composants
- les interactions des cellules entre-elles et avec leur environnement
- la structure et les fonctions des biomolécules

La biologie cellulaire est donc le domaine de la biologie qui s'intéresse aux cellules.

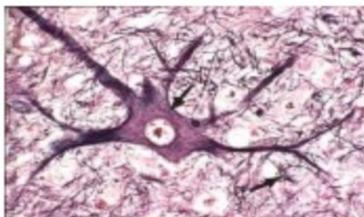
La cellule est la plus petite unité capable de manifester de manière autonome les propriétés du vivant (auto-réplication et auto-assemblage). Une cellule croît, se multiplie et meurt. Elle synthétise l'ensemble de ses constituants à partir du milieu extracellulaire.

Il existe deux grandes familles de cellules : les cellules procaryotes et les cellules eucaryotes, dans le cadre de la PACES vous serez uniquement confrontés aux eucaryotes. Les cellules eucaryotes possèdent des caractéristiques communes quant à leur plan d'organisation.

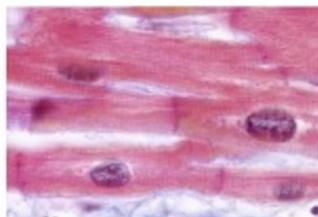
Organisation de la cellule eucaryote :

- Elle est limitée par une membrane plasmique qui la sépare du milieu extérieur
- L'ADN est contenu dans un noyau qui est limité par une double membrane, l'enveloppe nucléaire
- Elle possède un cytoplasme qui est composé de cytosol, dans lequel baignent les organites qui possèdent leur membrane propre.

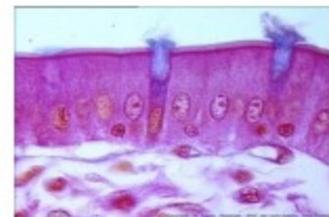
Cependant les cellules eucaryotes constituent une famille très diverse aussi bien de par leurs tailles, que leurs structures et leurs fonctions.



Cellule neuronale



Cellule myocardique (cœur)



Cellules intestinale

II. Outils d'études des structures et des fonctions cellulaires.

1) La microscopie

La microscopie permet d'augmenter la résolution de l'œil (capacité de distinguer deux points proches) qui est de **200 μm**. Il existe deux types de microscopie : **photonique et électronique**.

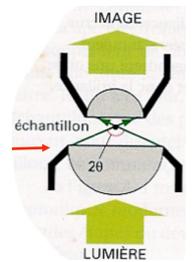
a) La microscopie photonique

La microscopie photonique **utilise le photon** pour éclairer l'objet à observer. Elle a une résolution de **200 nm**. La résolution correspond à la plus petite distance qu'un microscope permet de distinguer. Elle dépend de la **longueur d'onde**, de l'**indice de réfraction** et de l'**angle d'observation**.

La microscopie photonique permet d'étudier les cellules vivantes et donc d'étudier leur dynamique. Il existe trois types de microscopie photonique :

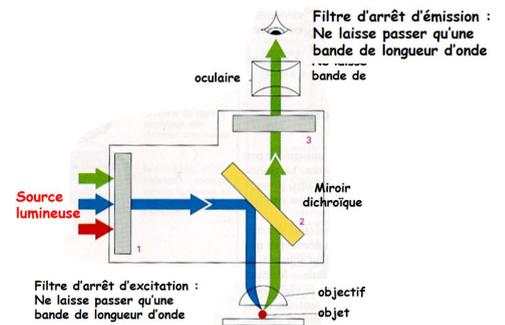
○ La microscopie à fond clair :

La lumière traverse un objet biologique et passe ensuite dans une lentille grossissante qui permet de former une image agrandie de l'objet observable dans les oculaires. Deux autres variantes de ce microscope sont capables de transformer les variations de densité ou d'épaisseur entre points voisins de la cellule en différences de contraste, sans recours à une coloration : ce sont le microscope à contraste de phase et le microscope à contraste d'interférence différentielle.



○ La microscopie à fluorescence :

Dans ce type de microscopie la lumière est filtrée pour obtenir une lumière monochromatique. Ce faisceau lumineux est ensuite renvoyé sur l'échantillon. Or l'échantillon contient des objets fluorescents qui ont comme propriétés d'absorber la lumière dans une longueur d'onde et d'émettre dans une autre. Le miroir dichroïque est un objet qui réfléchit la lumière dans une certaine longueur d'onde et qui la laisse passer dans une autre. L'intérêt de cette technique est qu'on peut cibler avec un fluorochrome certains éléments de la cellule. Il faut donc que l'échantillon à observer possède des molécules fluorescentes naturellement ou ajoutées par génie génétique ou fixées grâce à des anticorps.



Substance	Longueur d'onde d'excitation	Longueur d'onde d'émission
DAPI	UV	Bleu
Fluorescéine	Bleu	Vert
Rhodamine	Vert	Rouge

Fluorochromes que vous devez connaître

- La microscopie confocale à balayage laser :

Elle permet de réaliser des coupes à différents niveaux de la cellule et de visualiser l'échantillon en 3D après un traitement numérique.

b) La microscopie électronique

Elle utilise des électrons et est uniquement réalisée sur des cellules fixées c'est-à-dire mortes. Elle permet une résolution 1000 fois supérieure à la microscopie photonique, **0,2 nm**. Il y a deux types de microscopie électronique :

- Microscopie électronique à transmission (MET) :

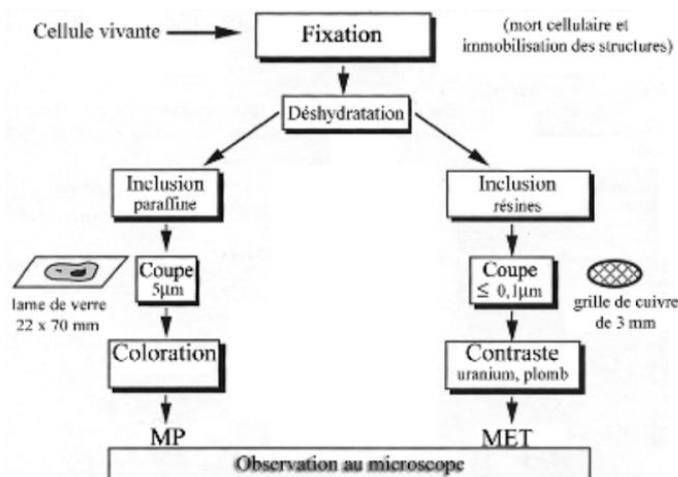
Le faisceau d'électrons traverse l'échantillon, dont l'épaisseur est inférieure à 0,1 μm . Les électrons heurtent des atomes lourds préalablement fixés sur l'échantillon et sont réfractés. Les autres traversent et impressionnent un écran où se forme l'image finale des structures cellulaires. Les échantillons sont contrastés soit positivement (sels de métaux accumulés sur les structures cellulaires) soit négativement. Les cellules et les tissus peuvent aussi être traités par cryofracture pour être observés au MET.

- Microscopie électronique à balayage (MEB) :

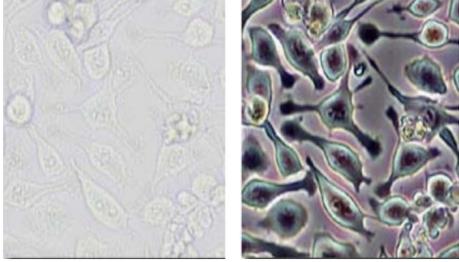
Le faisceau d'électrons ne traverse pas l'échantillon mais balaie sa surface préalablement recouverte de métal. Les électrons diffractés sont capturés pour donner une image tridimensionnelle de la surface cellulaire.

c) Préparation des échantillons

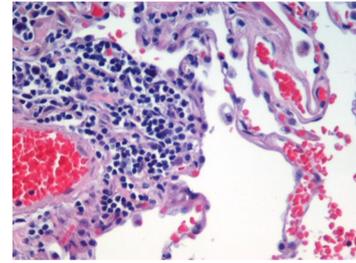
En microscopie classique, qu'elle soit photonique ou électronique les tissus sont généralement **fixés**, **coupés**, puis **contrastés**



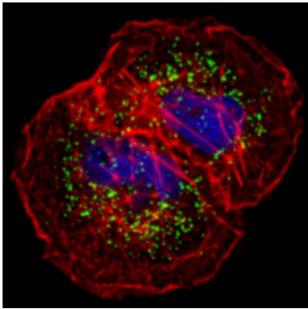
d) Exemples d'images de microscopie



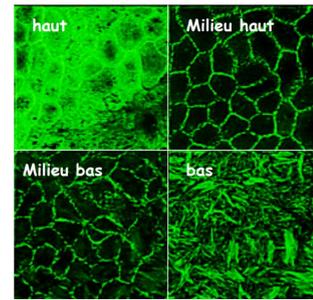
Cellules vivantes en culture observées au microscope à fond clair (gauche) et à contraste de phase (à droite)



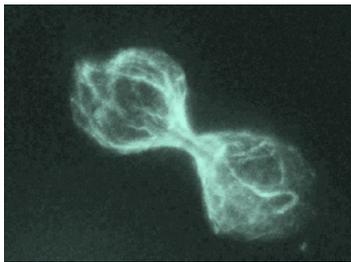
Cellules fixés, colorés par marqueur vitaux et observés au microscope à fond clair



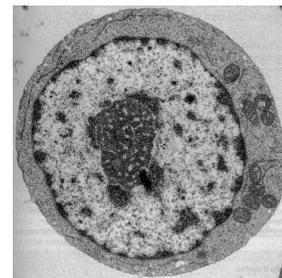
Cellules observées au microscope à fluorescence



Cellules observées au microscope confocale à balayage laser. Ce sont les mêmes cellules observées selon différents plans de coupe



Cellule observée au microscope confocale à balayage laser, cette image est obtenue après reconstitution 3D



Cellule observée au MET

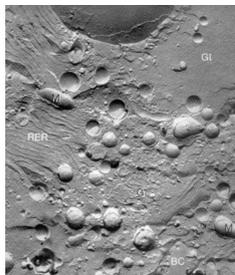
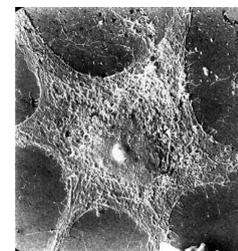


Image au MET après cryofracture



Surface d'une cellule observé au MEB

Remarques :

- ★ Si on vous parle d'observation de cellules vivantes, ou de vidéomicroscopie il s'agit forcément de microscopie photonique, car pour la microscopie électronique les échantillons nécessitent d'être fixés (c'est à dire morts).
- ★ Aidez-vous des échelles pour analyser le type de microscopie et notamment des organites intracellulaires qui sont visibles, ou non, sur l'image. Comme vous le verrez par la suite certains organites ne sont pas visibles en microscopie photonique.

2) Techniques de marquages

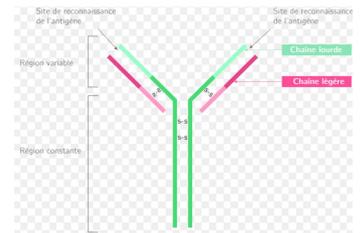
a) Cytochimie et immunocytochimie

Cytochimie : Utilisation de marqueurs vitaux (molécules colorées permettant de visualiser certaines parties de la cellule).

Immunocytochimie : Utilisation d'anticorps (Ac) spécifiques d'un antigène (Ag) et dirigés contre les constituants cellulaires.

Un anticorps comporte :

- 4 chaînes polypeptidiques, (2 chaînes lourdes, 2 chaînes légères)
- 2 sites de liaison à l'antigène au niveau de la région variable
- de nombreux sites caractéristiques de l'espèce qui a produit l'Ac au niveau de la région constante.



La méthode de détection peut être :

- **directe** si le marqueur est fixé directement sur l'Ac utilisé pour détecter l'Ag.
- **indirecte** quand l'Ac (dit Ac primaire) qui se lie à l'Ag n'est pas marqué, mais est détecté par un autre Ac (Ac secondaire) auquel on a lié un marqueur.

L'avantage de la méthode indirecte est qu'elle permet l'amplification du marquage, en effet une seule molécule d'Ac primaire est reconnue par de nombreuses molécules d'Ac secondaire marquées.

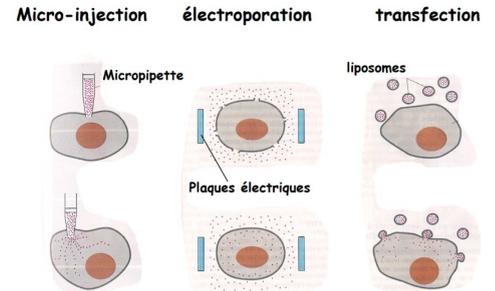
Dans la méthode indirecte les **Ac primaires** doivent être préparés dans une **espèce A différente de l'espèce étudiée** et les **Ac secondaires** doivent être produit par une **espèce B différente de l'espèce A**.

b) Sondes couplées à une protéines fluorescente

Il est possible de faire exprimer par la cellule elle-même une protéine fluorescente. On prépare par génie génétique un fragment d'ADN circulaire où le gène de la protéine à étudier a été combiné à un gène qui code pour une protéine fluorescente.

On fait ensuite rentrer l'ADN recombinant dans la cellule, on peut pour cela utiliser 3 méthodes :

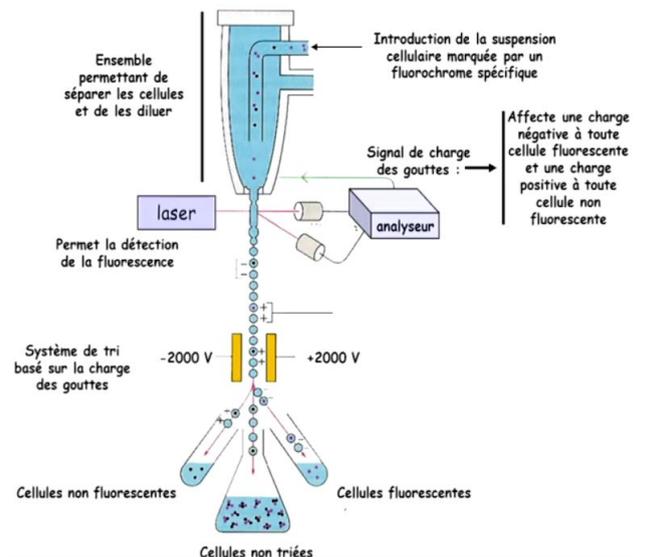
- **Micro-injection** : on injecte l'ADN recombinant à l'aide d'une micropipette.
- **Electroporation** : on perméabilise transitoirement la membrane de la cellule par un choc électrique pour que l'ADN recombinant puisse y pénétrer.
- **Transfection** : on encapsule l'ADN recombinant dans un liposome qui fusionne avec la membrane plasmique de la cellule et y relargue l'ADN.



Une protéine de fusion, qu'on peut suivre par microscopie à fluorescence, est alors produite par la cellule.

3) La cytométrie en flux et trieur de cellules

La cytométrie en flux est une technique permettant de reconnaître et trier les cellules fluorescentes et de **compter le nombre total de cellules exprimant la protéine**. Pour cela des anticorps couplés à des fluorochromes spécifiques sont mis au contact d'une suspension de cellules. Ces cellules passent ensuite une par une devant un laser ce qui permet la détection de la fluorescence. Puis l'analyseur affecte une charge positive aux cellules non fluorescentes et une charge négative aux cellules fluorescentes ce qui permet le tri de celles-ci par un électro-aimant.



Remarque : il est important de comprendre que la cytométrie en flux permet de compter le **nombre** de cellules exprimant une certaine protéine et non de quantifier l'expression de cette protéine dans une cellule.

4) Culture cellulaire

Le principe de la culture cellulaire est d'isoler des cellules à partir d'un organe et de les mettre dans un milieu de culture leur permettant de continuer à vivre. Il existe deux types de culture :

- les cultures primaires qui ont une courte durée de vie et qui perdent rapidement leurs caractéristiques de différenciation.
- les cultures en lignée qui utilisent des cellules transformées, notamment cancéreuses, qui gardent la capacité à se multiplier.
- les cultures de "cellules souches", qui sont prélevées sur un blastocyste (très jeune embryon) et qui sont totipotentes (capable de donner n'importe quel type cellulaire). Ces cellules peuvent ensuite être induites en différents types cellulaires (cellules nerveuses, musculaire, sanguine...).

5) L'autoradiographie

Le principe de l'autoradiographie est de fournir à des cellules **vivantes** des précurseurs radioactifs dans lesquels un atome est remplacé par son isotope radioactif. Les cellules incorporent ces précurseurs radioactifs dans les molécules en cours de synthèse qui deviennent ainsi radioactivement marquées.

Les cellules sont ensuite **fixées** (mortes) et recouvertes d'une émulsion photographique qui permet de révéler l'emplacement des molécules radioactives. On les observe ensuite au microscope électronique ou photonique.

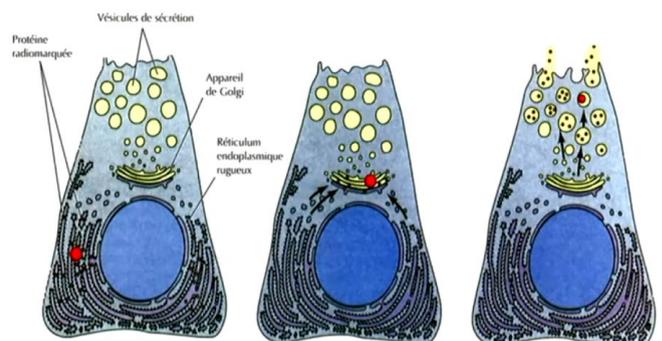
6) L'expérience de pulse-chase

C'est une expérience qui permet de mettre en évidence la voie de biosynthèse et de sécrétion des protéines, le but est donc de suivre la localisation d'une molécule au cours du temps dans une cellule.

Pour cela, on fournit à la cellule un précurseur marqué (radioactif ou fluorescent par ex) pendant un temps court "**pulse**" puis immédiatement après le pulse on fournit à la cellule une grande quantité du même précurseur non marqué "**chase**".

Les molécules synthétisées pendant le chase ne sont pas marquées ce qui permet de suivre les déplacements dans la cellule du faible nombre de molécule synthétisées pendant le pulse.

Ce schéma est le résultat d'une expérience de pulse-chase. On donne un marqueur radioactif à la cellule puis on suit sa voie de biosynthèse et de sécrétion. Sur la première image on remarque que la radioactivité se trouve dans un organite appelé le réticulum endoplasmique rugueux (RER) c.à.d. que cette molécule est synthétisée dans le RER. Puis sur la 2ème image, qui est réalisée après la première, on retrouve la radioactivité dans le Golgi. Enfin la radioactivité est retrouvée dans les vésicules de sécrétion. La voie de biosynthèse de la molécule qu'on a marquée est donc RER-Golgi-Vésicule de sécrétion.



Exercices

Avant-propos : *En biologie cellulaire, vous serez interrogés sur des questions de cours, mais également sur des exercices mettant en application vos connaissances et nécessitant une bonne réflexion. Ce sont deux façons différentes d'évaluer vos connaissances et il vous faudra savoir manier les deux. Concernant les exercices, les énoncés sont souvent très longs, noyant ainsi les informations importantes. Dans ce cas, n'hésitez pas à vous armer d'un stabilo ou d'un brouillon pour faire le tri ;)*

QCM 1 : Parmi ces propositions sur la spécificité du vivant, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte ?

- A. Les cellules eucaryotes sont la version primitive des cellules.
- B. Le vivant possède un haut degré de complexité et d'organisation.
- C. Les virus sont des cellules qui se développent dans leurs hôtes.
- D. La cellule vit rarement seule.
- E. Chez un être humain on trouve plus de cellules eucaryotes que de bactéries.

QCM 2 : Parmi ces propositions sur la cellule et l'origine du vivant, laquelle (lesquelles) est (sont) exactes ?

- A. Une cellule animale mesure en moyenne entre 0,01 et 0,03 mm.
- B. La cellule est la plus vaste unité capable de manifester de manière autonome les propriétés du vivant.
- C. La cellule croît, se multiplie et meurt.
- D. Robert Hooke observe le premier les cellules au microscope.
- E. La compartimentation représente un grand désavantage pour les réactions enzymatiques : les enzymes sont plus dispersées.

QCM 3 : Parmi ces propositions sur les outils d'étude cellulaire, laquelle (lesquelles) est (sont) exactes ?

- A. La résolution de la microscopie photonique est de 0,2 μ m.
- B. En microscopie photonique à fluorescence, l'utilisation de la fluorescéine permet d'obtenir des images de couleur bleue.
- C. L'introduction de molécules fluorescentes ou marquées dans les cellules peut se faire par micro-injection, électroporation ou migration.
- D. La microscopie électronique à transmission (MET) permet de reconstituer une image en 3D.
- E. Lors d'une cytométrie en flux et trieur de cellules, les cellules fluorescentes sont affectées d'une charge négative.

Exercice 1 :

Les infections à rotavirus sont la première cause de diarrhée aiguë sévère du jeune enfant dans le monde. Ces virus infectent les entérocytes matures de l'intestin grêle et causent des dommages structuraux et fonctionnels. Un modèle proposait l'hypothèse suivante : la diminution de l'activité des disaccharidases résulte de la destruction des entérocytes infectés au niveau de l'extrémité des villosités. Cependant ce modèle physiopathologique ne peut pas expliquer les situations dans lesquelles une diminution de l'activité des disaccharidases est observée lorsque l'intestin infecté par le rotavirus présente seulement des modifications histo-pathologiques. En effet, en fonction de la sévérité des modifications histo-pathologiques, il a été démontré que l'activité des disaccharidases (sucrase-isomaltase, lactase et maltase-glucoamylase) est plus ou moins réduite.

Nous allons nous intéresser aux cellules Caco-2-enterocyte-like, où la souche de rotavirus RRV se multiplie et est relâchée sans destruction cellulaire. Dans cet exercice nous allons essayer de trouver la cause de la diminution de l'activité de la sucrase-isomaltase à la surface des cellules Caco-2-enterocyte-like. On peut considérer que l'activité de la sucrase-isomaltase est proportionnelle à sa quantité à la membrane des cellules Caco-2.

Les cellules Caco-2 ont été prélevées à partir d'un adénocarcinome de côlon humain, puis mises en culture en présence de DMEM (Dulbecco/Vogt modified Eagle's minimal essential medium, un milieu de culture propice aux cellules Caco-2), d'acides aminés, de glucose et de pénicilline. Après 24 heures de culture, on analyse l'activité de la sucrase-isomaltase, du γ -Glu, du DPP IV, de l'APN et de l'AP. Les résultats sont présentés sur les graphes ci-dessous. La barre hachurée représente l'activité des enzymes étudiés dans les cellules Caco-2 contrôles, la barre blanche dans les cellules infectées par RRV. On a également fait une immunofluorescence d'un antigène spécifique présent à la surface des virus RRV, les résultats sont présentés sur l'image de gauche.

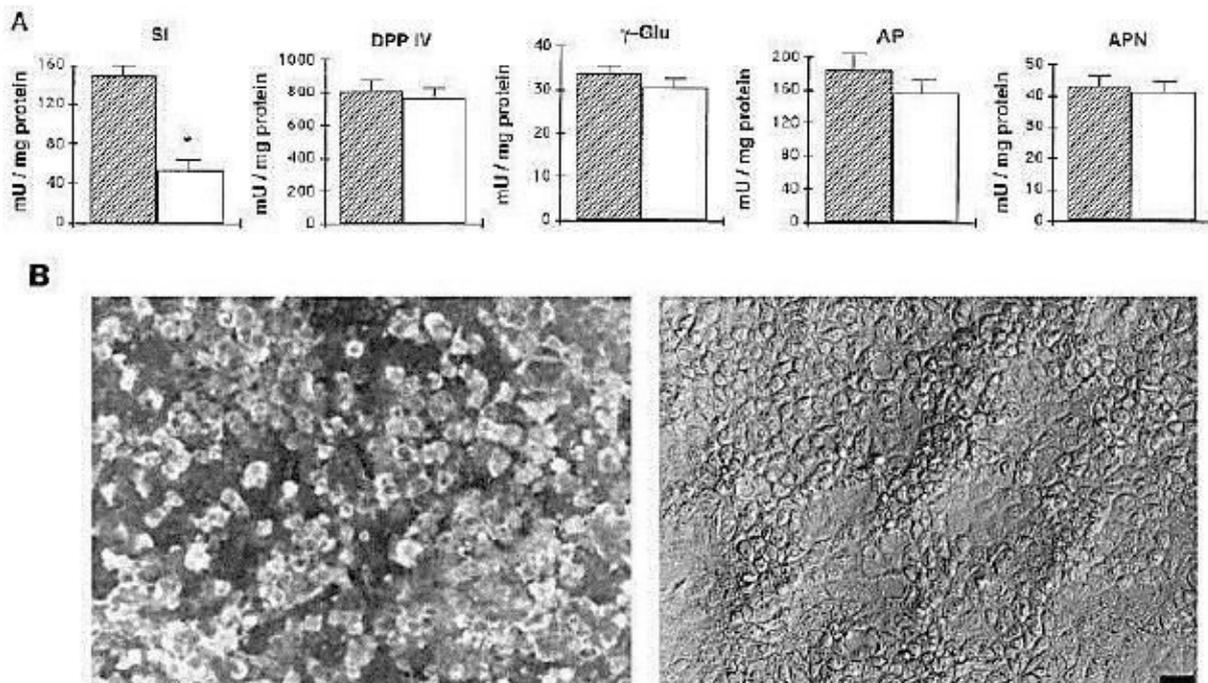


Figure 1

QCM 4 : En vous basant sur les documents ci-dessus et vos connaissances, indiquer la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. L'image de gauche a été obtenue grâce à un microscope électronique à transmission.
- B. Les cellules de l'image de gauche seront détruites par le rotavirus RRV.
- C. Seule l'activité de la sucrase-isomérase (SI) diminue significativement parmi celles des protéines analysées.
- D. L'activité de l'enzyme APN est la même dans les cellules contrôles et dans les cellules infectées par RRV.
- E. La culture de cellules Caco-2 est une culture de cellules souches.

On essaye maintenant de voir la localisation de l'activité de la sucrase-isomaltase (tableau A) et de la dipeptidylpeptidase-4 (DPP IV) (tableau B). Pour cela on réalise une immunofluorescence indirecte par micro-injection.

La dipeptidylpeptidase-4 est tout comme la sucrase-isomaltase un enzyme. Les résultats sont présentés ci-dessous :

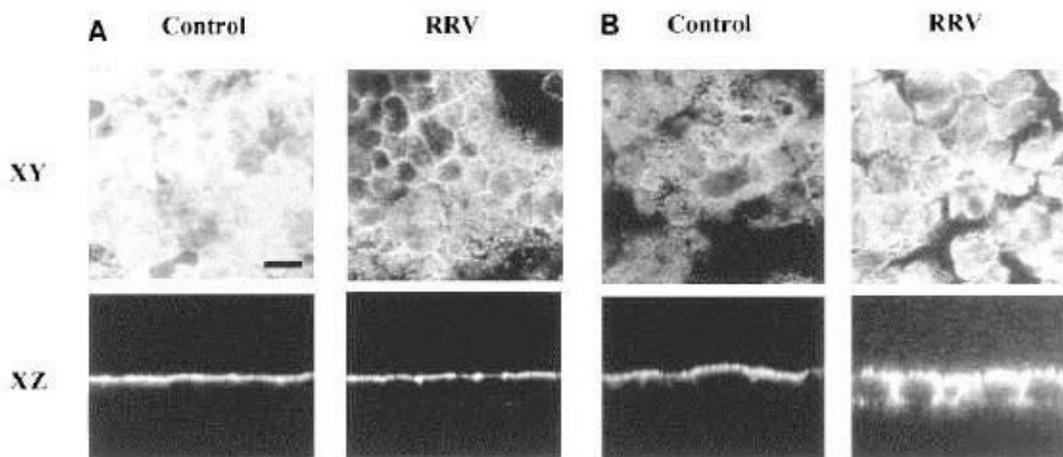


Figure 2

QCM 5 : En vous basant sur les documents ci-dessus et vos connaissances, indiquer la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. L'anticorps primaire peut être produit chez le lapin
- B. L'anticorps primaire et l'anticorps secondaire peuvent être produit chez le lapin
- C. Pour obtenir ces images a utilisé un anticorps dirigé contre la sucrase-isomaltase et couplé à un fluorochrome
- D. On a obtenue ces images grâce à un microscope à fond claire
- E. On a obtenue ces images grâce à un microscope à fluorescence

QCM 6 : En vous basant sur les documents ci-dessus et vos connaissances, indiquer la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. Les images ci-dessus confirment la diminution de l'activité de la sucrase-isomaltase dans les cellules infectées par RRV.
- B. La dipeptidylpeptidase-4 dans les cellules contrôles et dans les cellules infectées par RRV colocalise.
- C. Pour obtenir ces images, on a probablement utilisé des liposomes
- D. Un anticorps possède deux chaînes lourdes et deux chaînes légères

On veut maintenant déterminer le moment de la synthèse de la sucrase-isomaltase qui est atteint par l'infection au rotavirus RRV. Pour cela on réalise une expérience de pulse-chase.

Les cellules Caco-2 contrôles et des cellules Caco-2 infectées par le rotavirus RRV subissent un pulse d'une heure avec de la méthionine-35S, puis la localisation de la sucrase-isomaltase dans la cellule est suivie au cours du temps. Après chaque temps de chase, on fait immunoprécipité la sucrase-isomaltase des cellules contrôles (C) et infectées par RRV

(I) ; ces protéines recueillies sont analysées par SDS-PAGE.

Le graphique B représente la quantité de sucrase-isomaltase en cours de synthèse dans les cellules Caco-2 contrôles et infectées par RRV, à différents temps de chase.

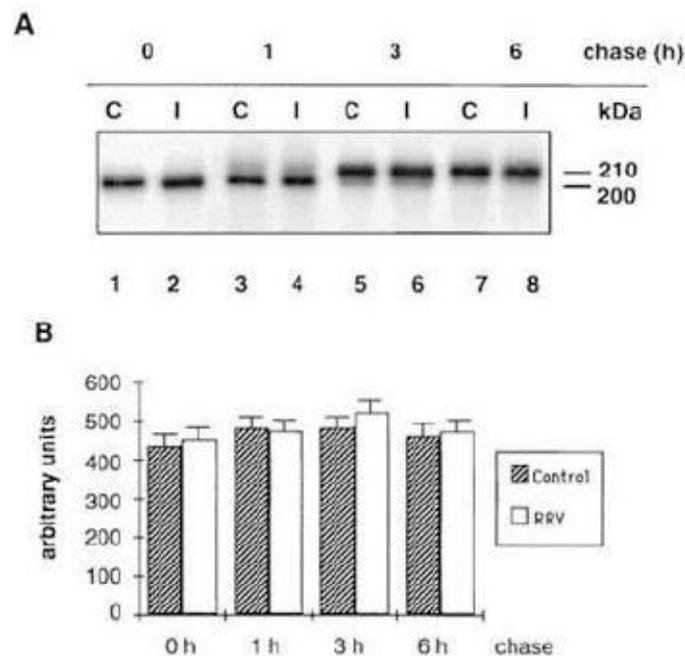


Figure 3

QCM 7 : En vous basant sur les documents ci-dessus et vos connaissances, indiquer la (les) proposition(s) exacte(s) :

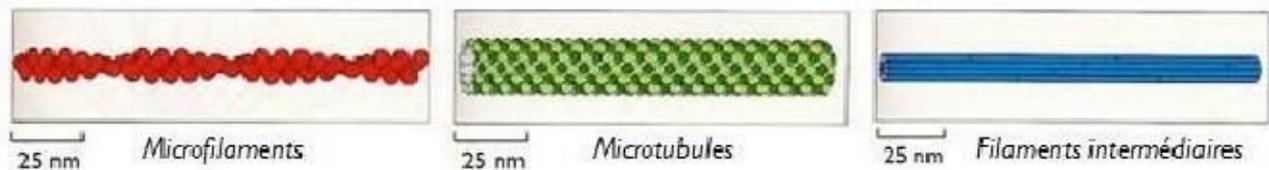
- A. La quantité de sucrase-isomaltase synthétisée dans les cellules Caco-2 contrôles est inférieure à la quantité de sucrase-isomaltase synthétisée dans les cellules Caco-2 infectées par RRV.
- B. L'image A est obtenue par une technique d'immunofluorescence.
- C. Une chase réalisée tout de suite après le pulse ne met en évidence que des sucrase-isomaltases à 200 kDa.
- D. Après 3 heures de chase, on trouve la même proportion de sucrase-isomaltase 200 kDa et 210 kDa dans les cellules contrôles et dans les cellules infectées par RRV.
- E. On en déduit que la synthèse de la sucrase-isomaltase n'est pas altérée par le rotavirus

Chapitre II : Le cytosquelette

I. Présentation du cytosquelette

1) Constituants

Le cytosquelette est un réseau de filaments cytoplasmiques. On décrit 3 grands types de filaments : les microtubules, les microfilaments et les filaments intermédiaires.



Chaque type de filament est composé de l'assemblage de monomères spécifiques. Ainsi, les **microtubules** sont composés de monomères de tubuline, les **microfilaments** de monomères d'actine, et les **filaments intermédiaires** de monomères de kératine principalement. La tubuline et l'actine sont des molécules globulaires, tandis que la kératine est une molécule fibreuse, allongée.

La distribution spatiale et l'organisation de chaque type de réseau de filaments est particulière. Les microfilaments ont une distribution sous-corticale (sous la membrane plasmique), ils bordent les cellules et leurs prolongements cytoplasmiques ; les microtubules rayonnent depuis le centrosome juxtanucléaire ; et les filaments intermédiaires se distribuent de la périphérie de la cellule (membrane plasmique) vers son centre.

2) Fonctions du cytosquelette

Le cytosquelette assure deux grandes fonctions au sein des cellules :

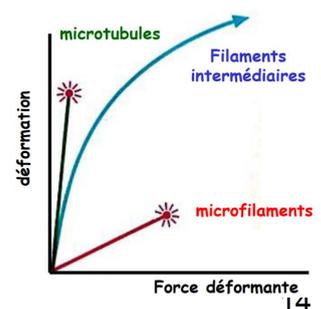
- **Une fonction structurale** : il permet le maintien de la structure cellulaire (lui confère sa forme) et l'adaptation de cette structure à l'environnement, ainsi que le positionnement des organites intracellulaires.
- **Une fonction motrice** : il permet le déplacement des organites et des vésicules au sein des cellules (= motilité = trafic intracellulaire) et déplacement des cellules elles-mêmes (= motilité).

La contribution du cytosquelette à ces différentes fonctions dépend du type de filament et des protéines qui lui sont associées. Par ailleurs, les différents types de filaments s'associent ou se relayent pour assurer ces fonctions.

3) Propriété de résistance à la déformation

Chaque type de filament a des propriétés spécifiques de résistance à la déformation :

- les microtubules sont facilement déformables mais très peu résistants à la déformation (ils se déforment facilement mais cassent vite)
- les microfilaments sont difficilement déformables mais sont plus résistants que les microtubules
- Les filaments intermédiaires sont entre les microtubules et les microfilaments quant à la facilité de leur déformation et ils sont les plus



résistants

II. Les filaments intermédiaires

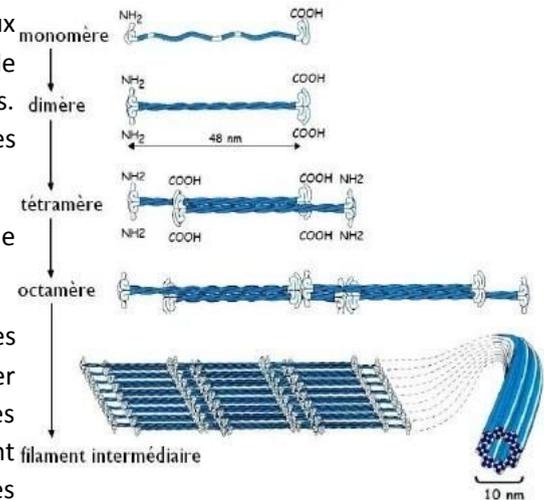
1) Structure et assemblage des filaments intermédiaires (FI)

Les filaments intermédiaires sont des structures fibreuses, compactes et résistantes. Ce sont des **tubes creux de 10nm de diamètre**.

Ils sont formés par l'association complexe de nombreux monomères. Un monomère de FI est formé d'une région centrale très riche en hélices α , conférant une structure en bâtonnets. Cette région est également riche en répétitions heptades (coil-coil) qui favorise les interactions protéine-protéine.

L'assemblage d'un FI se fait grâce à l'enroulement successif de plusieurs monomères, ce qui lui confère sa grande résistance.

Ils s'assemblent deux à deux, formant ainsi des dimères super-enroulés. Ces dimères s'assemblent tête-bêche pour former des tétramères, qui eux-mêmes s'assemblent pour former des octamères super-enroulés. La formation d'un filament intermédiaire résulte de l'association de plusieurs de ces octamères. (8x8 monomères soit, 64 monomères pour former un FI)



2) Diversité des filaments intermédiaires

Il existe une grande diversité de monomères de filament intermédiaires :

- ★ Kératine (21 espèces) : cellules épithéliales.
- ★ Vimentine : cellules d'origine endodermique.
- ★ Protéines de neurofilaments : cellules nerveuses.
- ★ Lamines nucléaires : noyau des cellules.
- ★ Desmine : cellules cardiaques.

La partie centrale de ces différents monomères est quasiment identique. Ce sont les extrémités N et C-terminale des monomères qui confèrent des propriétés (localisation et fonction) différentes aux filaments intermédiaires.

3) Fonctions des filaments intermédiaires

Les FI assurent le maintien de l'architecture cellulaire et tissulaire (= fonction structurale). Elle dépend essentiellement du type de FI:

- ★ Dans les épithéliums, les kératines relient les cellules entre elles par l'intermédiaire des desmosomes assurant la cohésion et la stabilité mécanique du tissu
- ★ Dans les cellules nerveuses les neurofilaments assurent la continuité et l'élasticité des neurones

- ★ Dans les noyaux, les lamines assurent la stabilisation de la membrane nucléaire interne

III. Les microtubules

1) Structure et assemblage des microtubules (MT)

Les microtubules (MT) sont des filaments formés de deux types de monomères globulaires très semblables : la tubuline α et la tubuline β . La tubuline β contient du **GTP** échangeable. Le GTP est, au même titre que l'ATP un nucléotide triphosphate et possède donc de l'énergie.

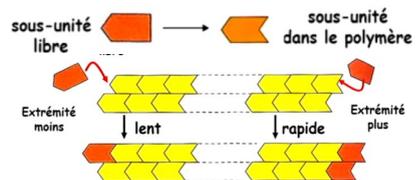
La formation des MT se fait en trois phases :

1. **La nucléation** : La tubuline α et la tubuline β s'associent pour former des hétérodimères, qui eux-mêmes s'additionnent les uns à la suite des autres (=polymérisation) donnant ainsi des protofilaments. A partir d'une certaine longueur de protofilaments, ceux-ci se replient sur eux-mêmes pour former un tube creux, il faut 13 protofilaments pour former un tube creux.
2. **L'élongation** : La polymérisation continue donnant ainsi naissance à un microtubule.
3. **L'équilibre** : Il existe une concentration critique (C_c) en dimères pour laquelle la polymérisation (gain de sous-unités) et la dépolymérisation (perte de sous-unités) s'équilibrent : on obtient alors un MT de taille constant



L'assemblage des MT est asymétrique. Il existe une extrémité (+) à croissance rapide et une extrémité (-) à croissance lente. Cette asymétrie est liée à des changements conformationnels des sous unités lorsqu'elles rentrent dans le polymère :

- La forme des dimères libres n'est pas favorable à leurs insertions à l'extrémité (-) du MT. Il doit donc y avoir un changement de conformation des dimères pour que la polymérisation puisse se faire via l'extrémité (-) contrairement à l'extrémité (+), d'où une vitesse de formation du MT plus lente de ce côté.
- De plus, une hydrolyse du GTP des tubulines en GDP survient peu de temps après l'association du dimère au MT. Or la forme GDP a moins d'affinité pour le polymère que la forme GTP et tend à se dissocier du MT. Puisque l'élongation du MT à l'extrémité (+) est rapide, les dimères sous forme GTP n'ont pas le temps d'être hydrolysés sous forme GDP, contrairement à l'extrémité (-) ce qui ralentit l'élongation à l'extrémité (-).



Remarque : il faut bien comprendre qu'on a affaire à deux changements conformationnels différents, un structural et un biochimique

/!\ Certaines drogues viennent perturber cette dynamique :

- **Colchicine, vinblastine** : bloquent la polymérisation des MT et entraînent une dépolymérisation.
- **Nocodazole** : provoque la dépolymérisation des MT
- **GTP γ S** : bloque la dépolymérisation en empêchant l'hydrolyse du GTP en GDP.

- **Taxol** : paralyse les MT en bloquant à la fois la polymérisation et la dépolymérisation

2) Protéines associées aux microtubules

Deux types de protéines sont associées aux microtubules :

- **Des protéines régulatrices** qui permettent la stabilisation des extrémités des MT, la formation de liaisons entre plusieurs MT, des interactions avec divers composants cellulaires.

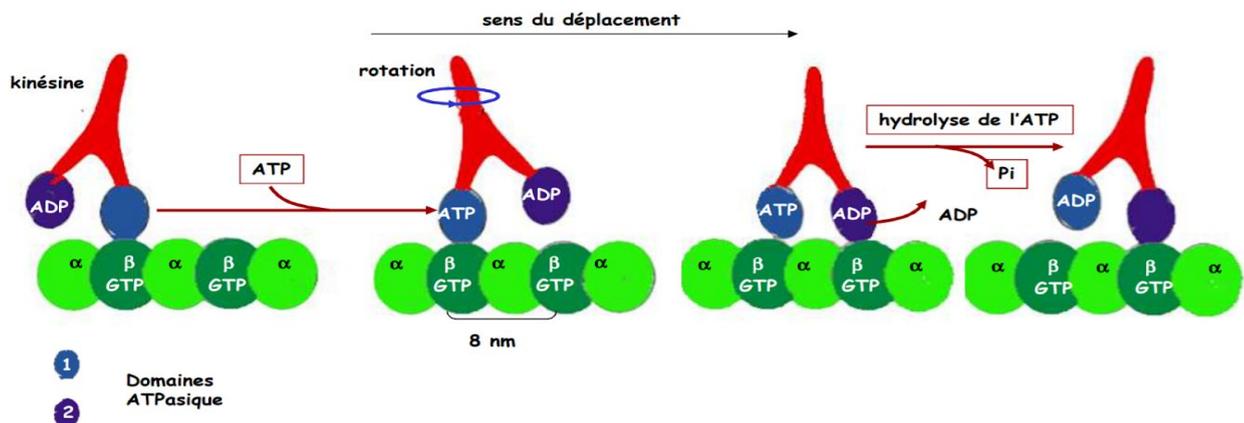
Exemples : MAP-2, tau.

- **Des protéines motrices**, des moteurs moléculaires, qui assurent le transport de divers éléments le long des MT en utilisant de l'énergie (ATP). Les **dynéines** de l'extrémité (+) vers l'extrémité (-) et les **kinésines** de l'extrémité (-) vers l'extrémité (+)

Moyen mnémotechnique : la **Dynéine Descend** (+ → -)

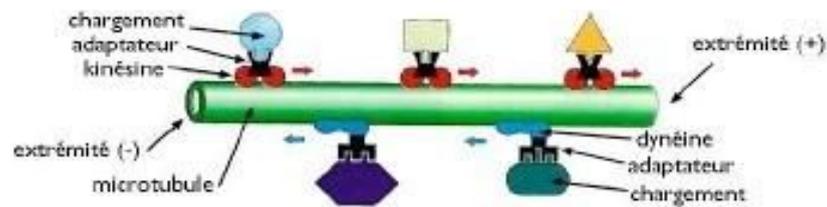
Mécanisme moléculaire du fonctionnement de la kinésine :

- La kinésine est une molécule composée de 3 domaines, un domaine adaptateur et 2 domaines moteurs (1 et 2) capable d'hydrolyser l'ATP (ce qui libère de l'énergie), ils sont dit ATPasiques
- A l'origine le domaine 1 est vide et fixé sur la tubuline β et le domaine 2 contient de l'ADP
- L'arrivée de l'ATP dans le domaine 1 induit un changement conformationnel de la kinésine => Rotation du bras arrière contenant le domaine 2 chargé d'ADP, qui passe en avant
- Départ de l'ADP du domaine 2 induit l'interaction avec la sous unité β suivante
- Hydrolyse de l'ATP du domaine 1 qui n'interagit donc plus avec l'actine => retour en conformation initiale, un nouveau cycle peut commencer



3) Fonctions des microtubules

Le rôle principal des MT est le trafic intracellulaire (=fonction motrice), c'est-à-dire le transport de vésicules, d'ARNm, de complexes chromosomes/protéines associées, de virus...



Les MT ont également un rôle d'organisation du cytosol et des compartiment membranaires. In vivo **l'extrémité (-)** des MT est enchâssée **dans le centrosome**. Le **centrosome** est le centre nucléateur des MT et le principal centre organisateur de la cellule. Il supporte l'asymétrie des MT, en effet in vivo les MT étant enchâssés dans le centrosome ont une dynamique plus importantes. Cette dynamique assure le positionnement des organites intracellulaire.

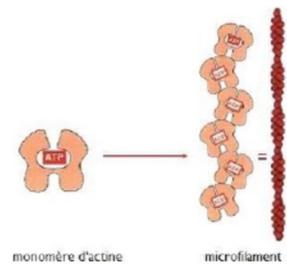
IV. Les microfilaments d'actine

1) Structure et assemblage des microfilaments (MF)

L'assemblage des microfilaments (MF) est similaire à celui des microtubules. La polymérisation se réalise par ajout de **monomères d'actine** aux deux extrémités, mais se fait **de façon asymétrique** puisque la croissance est plus rapide à l'extrémité (+) qu'à l'extrémité (-).

Il existe toutefois quelques différences avec l'assemblage des microtubules :

- Tous les monomères d'actine sont les mêmes (pas de monomère α et β).
- Ces monomères renferment une molécule d'**ATP** échangeable (\neq de GTP)
- Une fois polymérisé, le MF forme un **tube plein** (et non creux) de 8 nm
- La polymérisation se fait plus lentement que pour les μ T.



Lorsque les deux extrémités du MF sont libres et que les conditions de concentration intracellulaire d'actine sont favorables, l'association et la dissociation aux deux extrémités se fait à la même vitesse. Dans ce cas particulier, la **longueur du filament reste constante** mais le filament se **déplace en glissant** : c'est ce qu'on appelle le «**treadmilling**».

Certaines drogues viennent perturber la dynamique des MF :

- **Cytochalasines** : bloquent la polymérisation en se fixant sur l'extrémité (+).
- **Phalloïdine** : bloquent la dépolymérisation.

2) Protéines associées aux microfilaments

Nom de la protéine	Fonction	Protéine participant :
Profiline et ARP 2/3	Favorisent la polymérisation des microfilaments	À l'homéostasie des MF
ADF et cofiline	Coupe et dépolymérise les MF	
Thymosine	Bloque la polymérisation des MF par rétention des monomères d'actine	
Gelsoline	Fragmentation des MF	À l'organisation des MF
Fimbrine et villine	Formation de faisceaux serrés	
α-actinine	Formation de faisceaux larges	
Filamine	Réticulation (formation de réseaux)	
Spectrine et dystrophine	Ancrage des MF à la membrane cellulaire	
Myosine II (longue queue)	Contraction musculaire (activité ATPasique)	Aux fonctions motrices des MF
Myosine I,V (queue courte)	Mouvement sur les MF (Activité ATPasique)	
Tropomyosine	Consolidation des MF	

3) Fonction des microfilaments

Le réseau de microfilament s'organise sous la membrane plasmique et permet le déplacement cellulaire et le changement de forme des cellules.

Les fonctions du réseau de microfilaments sont étroitement dépendantes des protéines associées. Ils jouent un rôle dans la création et le maintien de structures cellulaires : stéréocils, filopodes, lamellipodes et plaques d'adhésion focales (α -actinine).

Les microfilaments peuvent aussi avoir une fonction motrice pour certaines bactéries capables de recruter l'actine cellulaire pour se propulser et passer d'une cellule à l'autre (on parle alors de comète d'actine). Ils peuvent également avoir un rôle dans le trafic intracellulaire

TABLEAU RÉCAPITULATIF

Type de filament	Filament intermédiaire	Microtubule	Microfilament
Diamètre	10 nm	25 nm	8 nm
Structure	Monomères différents selon le type de filament (kératine principalement)	Monomères de tubuline (tubuline α et β)	Monomères d'actine
Assemblage	Par enroulement successif de plusieurs monomères	Par polymérisation et dépolymérisation des monomères (assemblage asymétrique)	Par polymérisation et dépolymérisation des monomères (assemblage asymétrique)
Protéines associées	-	<p>Protéines régulatrices (MAP-2 ; tau)</p> <p>Protéines motrices (kinésine, dynéine)</p>	<p>Homéostasie des MF (profiline, thymosine, tropomyosine, gelsoline)</p> <p>Organisation des MF (fimbrine, villine, α-actinine, filamine, spectrine, dystrophine)</p> <p>Fonctions motrices des MF (tropomyosine, myosine)</p> <p><i>Voir tableau page précédente</i></p>
Localisation	De la périphérie (membrane plasmique) vers le centre	Du centre (centrosome) vers la périphérie	Sous la membrane plasmique
Fonction	Structurale (maintien de l'architecture cellulaire et tissulaire)	<p>Motrice (trafic intracellulaire)</p> <p>Structurale (positionnement des organites intracellulaires)</p>	<p>Structurale (création et maintien des structures cellulaires)</p> <p>Motrice (motilité, trafic bactérien)</p>

Exercices

QCM 1 : Parmi les propositions suivantes concernant les filaments intermédiaires, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Les répétitions heptade favorisent les interactions protéine-protéine.
- B. Un filament intermédiaire de base est composé de 6 octamères.
- C. Les kératines relient les cellules épithéliales entre elles par l'intermédiaire des jonctions serrées.
- D. Les neurofilaments assurent la continuité et la rigidité des neurones.
- E. Des FI sont présents dans le noyau de la cellule.

QCM 2 : Parmi les propositions suivantes concernant les microtubules, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La colchicine, tout comme le taxol, bloque la polymérisation.
- B. L'assemblage est asymétrique : une extrémité plus à croissance à rapide et une extrémité moins à croissance lente.
- C. La kinésine est une protéine motrice qui se dirige vers les extrémités moins.
- D. Il existe une concentration critique en dimère pour laquelle le gain et la perte des sous-unités s'équilibrent.
- E. Le transport n'est qu'une fonction secondaire des microtubules.

QCM 3 : Parmi les propositions suivantes concernant les microtubules, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Le centrosome est un centre nucléateur : il supporte l'asymétrie des microtubules.
- B. Des modifications pré-translationnelles peuvent moduler la stabilité des microtubules.
- C. Les dynéines et kinésines possèdent des domaines ATPasique.
- D. La GTP γ S bloque la dépolymérisation.
- E. Les microtubules enchâssés dans le centrosome ont une grande dynamique.

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes concernant les protéines de liaison à l'actine, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La filamine participe à l'homéostasie des microfilaments.
- B. La spectrine et la dystrophine assurent l'ancrage sur la membrane.
- C. La rétention des monomères d'actine par une drogue entraîne un blocage de la polymérisation.
- D. L'interaction entre la myosine I et les microfilaments nécessite du Ca^{2+} .
- E. La tropomyosine a une fonction motrice.

QCM 5 : On met une solution de microfilaments en présence d'un produit A. On observe alors que ces microfilaments cessent de polymériser même si on les met dans une situation favorisant leur assemblage.

D'après vos connaissances on peut dire que :

- A. Le produit A peut être la tropomyosine.
- B. Le produit A peut être la filamine.
- C. Le produit A peut être la thymosine.
- D. Le produit A peut être la phalloïdine.
- E. Le produit A peut être la cytochalasine.

Exercice 1 :

Le but de cette expérience est d'étudier l'implication du cytosquelette dans des modèles d'inflammation aiguë de muscles cardiaques. Nous allons analyser l'implication du cytosquelette dans un modèle murin de dysfonction cardiaque induite par une endotoxine : le lipopolysaccharide (LPS).

Le fasudil est un puissant inhibiteur de Rho associated protein kinase (ROCK) et est un vasodilatateur. Les dysfonctions cardiaques sont à l'origine d'une surproduction de ROCKs. Les ROCKs inhibent indirectement la dépolymérisation des filaments d'actine.

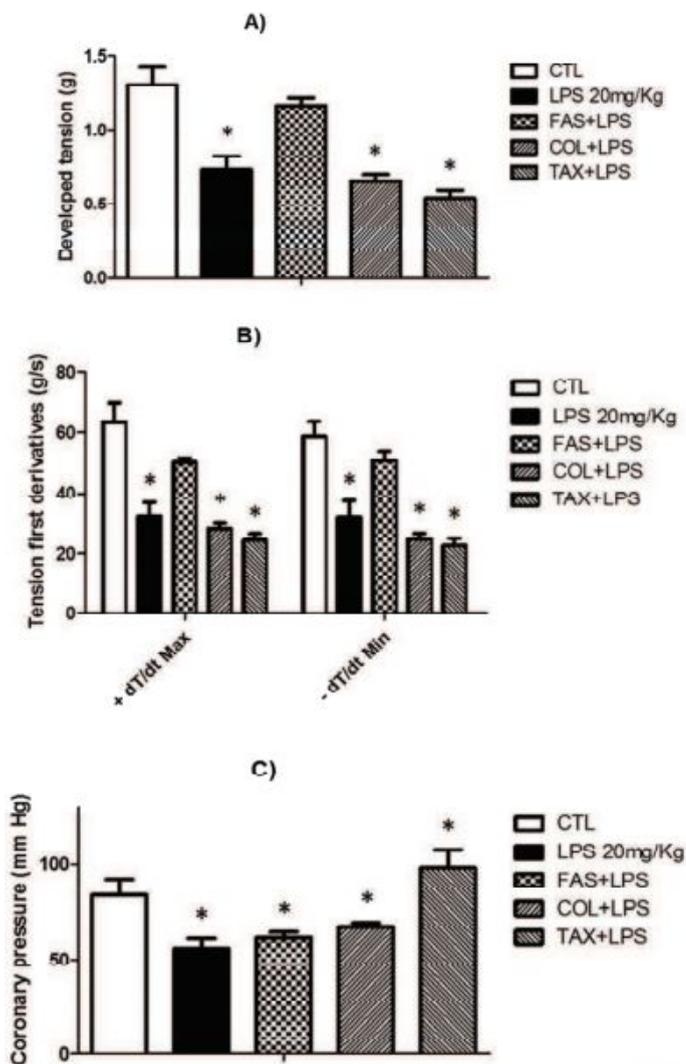


Figure 1. Fasudil (20mg/kg) (FAS+LPS), colchicine (2mg/kg) (COL+LPS) et taxol (25mg/kg) (TAX+LPS) et dysfonctions cardiaques induites par le LPS. Tension mesurée (A), premières dérivées de la tension mesurée (B), et la pression coronarienne (C) (sachant que le flux coronarien est constant).

QCM 6 :

- La colchicine influence la polymérisation des microfilaments.
- Le taxol stabilise les microtubules.
- Les microfilaments sont impliqués dans la contraction du muscle cardiaque.
- Le fasudil améliore la contraction cardiaque et donc la tension des murins atteints d'une dysfonction cardiaque.
- Le taxol a le même effet sur la tension et la pression coronarienne.

QCM 7 :

- A. La colchicine améliore significativement la pression coronarienne.
- B. La sur-production de ROCKs induit l'hyperpolymérisation des microfilaments.
- C. Les microtubules sont responsables de l'anomalie de la tension mesurée.
- D. Les microtubules sont responsables de l'anomalie de la pression coronarienne.
- E. On peut conclure que le LPS entraîne une anomalie des microfilaments.

EXERCICE 2 : RAR α et actine :

Un laboratoire a isolé un nouveau partenaire du domaine N-terminal du sous-type RAR α : la profiline 2a (PFN2a), une protéine fixatrice de l'actine avec un domaine SH3-like. Elle met en jeu le domaine riche en proline de RAR α et le domaine SH3-like de PFN2a. PFN2a est présente dans le cytoplasme des MEF (Mouse embryonic fibroblast) et de plusieurs autres types de cellules adhérentes comme les cellules nerveuses (cellules de neuroblastome SH-SY-5Y humaines, cellules neuronales obtenues à partir de cellules souches embryonnaires de souris (mES)).

Complément : La PLA (Proximity Ligation Assays) est une technique qui permet de détecter in situ les protéines endogènes, même très faibles.

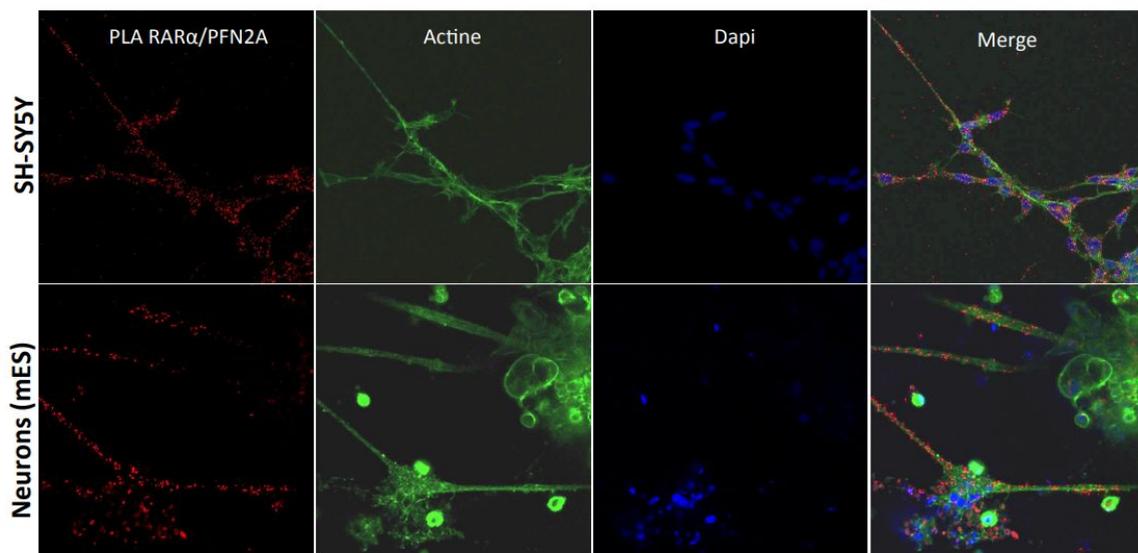


Figure 37. Complexes RAR α /PFN2a dans les extensions des cellules neuronales par PLA

QCM 8 :

- A. Les microfilaments sont composés de dimères α et β .
- B. La profiline favorise la polymérisation des microfilaments.
- C. Le réseau de microfilaments permet le déplacement des cellules.
- D. La liaison PFN2a/RAR α se fait seulement dans les mES.
- E. La liaison PFN2a/RAR α se fait majoritairement dans le noyau des cellules.

Chapitre III : Noyau Interphasique

I. Présentation générale

1) Caractéristiques du noyau

Le noyau est un compartiment subcellulaire protubérant (*par ex il occupe 6% du volume d'une cellule hépatique*). Il fait en règle générale 10 μm .

Le noyau est délimité par une **enveloppe nucléaire** (EN), constituée d'une **double membrane**. Il forme un **compartiment** particulier au sein de la cellule.

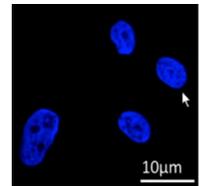
Dans le compartiment du noyau se trouvent la **chromatine** (constituée d'ADN et de protéines), le **nucléole**, et toutes les molécules et complexes moléculaires nécessaires au **fonctionnement de l'ADN** et à la **maturation des ARN**. Ainsi, le noyau contient la **quasi-totalité de l'ADN de la cellule** (la mitochondrie en contient un peu également).

Le noyau assure 3 grandes fonctions :

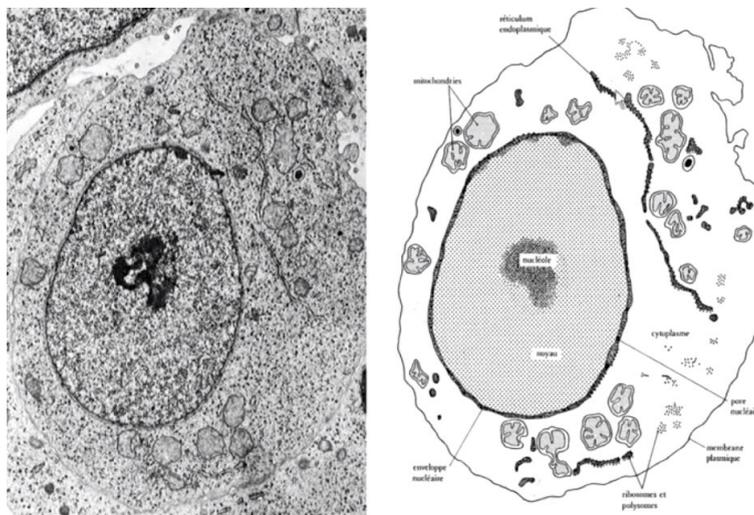
- ★ **Stockage des molécules d'ADN** (l'ADN est compacté sous forme de chromatine).
- ★ **Synthèse des acides nucléiques** (ADN, ARNt, ARNm, ARNr).
- ★ **Transports nucléocytoplasmiques** (via les pores)

2) Technique d'observation du noyau

Il est mis en évidence en microscopie à fluorescence par coloration au DAPI. Le DAPI est un intercalant de l'ADN qui fluoresce au microscope dans les longueurs d'ondes proche des UV. L'image ci-contre est l'observation des noyaux d'une culture de cellules animales grâce au DAPI.

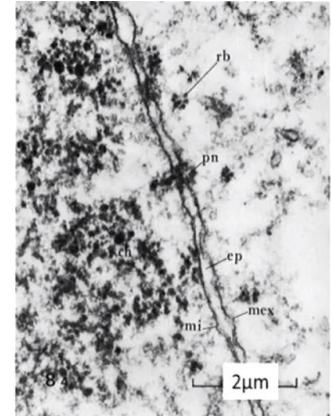


Il est aussi visible en MET, ou l'on peut observer les ribosomes, pores nucléaires, l'espace périnucléaire, les membranes externe et interne, la chromatine et le nucléole. Ci dessous une image du noyau au MET à gauche et son dessin représentatif à droite.



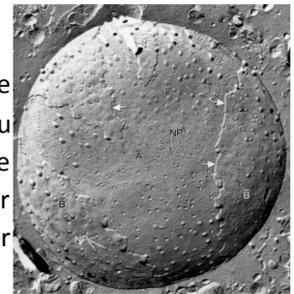
3) L'enveloppe nucléaire

Le noyau est limité par l'enveloppe nucléaire, qui est une double membrane. L'image ci-contre est l'agrandissement de l'image précédente. Sur cette image on remarque bien que **l'enveloppe nucléaire est constituée de deux membranes, une interne et une externe.** La membrane externe est en contact avec le cytosol qu'on peut reconnaître grâce aux éléments qui y baignent, notamment les ribosomes (rb), ici c'est la plus à droite. La membrane interne, elle, est en contact avec la chromatine (ch) qui baigne dans le nucléoplasme, ici c'est la plus à gauche. Ces deux membranes sont séparées par l'espace périnucléaire (ep). On voit également sur cette image un pore nucléaire (pn) qu'on remarque car il est très dense aux électrons. Il peut y avoir une continuité entre la membrane du réticulum endoplasmique et la membrane externe de l'enveloppe nucléaire.

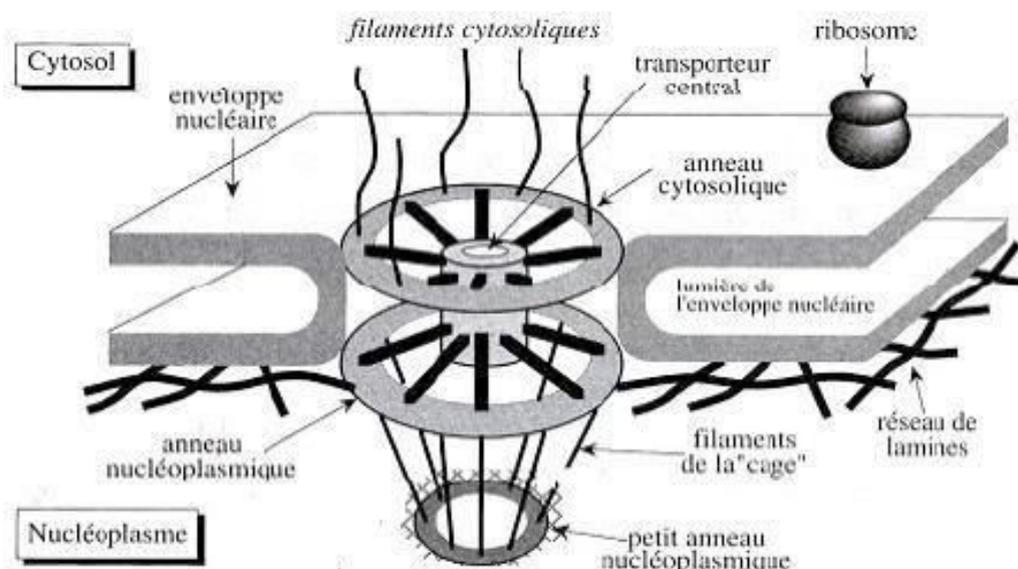


4) Les pores nucléaires

Le **pore nucléaire** est une structure **multi-protéique** (nucléoporine = protéine du pore nucléaire) formant un canal aqueux qui permet le passage de certaines molécules du noyau vers le cytoplasme et inversement. L'image ci-contre est l'observation d'une enveloppe nucléaire au MET après cryofracture. Les points qu'on voit en relief sur l'enveloppe correspondent aux pores nucléaires, on en trouve environ 3500 par enveloppe nucléaire. Le pore nucléaire est constitué :

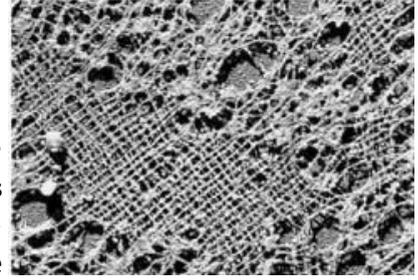


- D'un **anneau nucléoplasmique** qui est situé sur la face nucléaire (face interne de l'enveloppe nucléaire).
- D'un **anneau cytosolique** qui se trouve sur la face cytoplasmique.
- D'un **transporteur central**
- De 8 rayons qui se projettent radialement depuis la paroi du pore jusqu'au transporteur central
- De 8 filaments cytoplasmiques attachés à l'anneau cytosolique du côté cytosol
- Des filaments nucléaires attachés à l'anneau nucléoplasmique qui se rejoignent pour former le panier

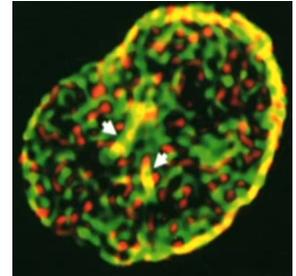


5) Les lamines

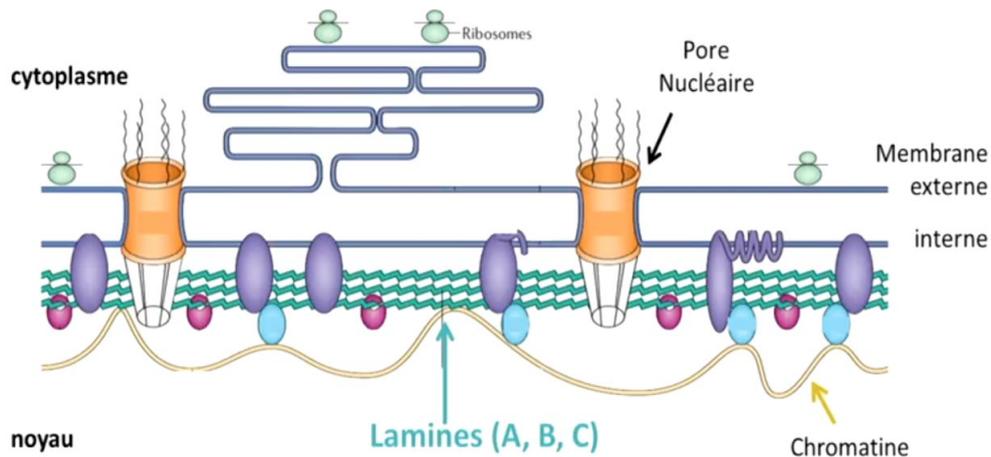
La **lamina** est une couche protéique de $0,2\ \mu\text{m}$ qui tapisse la membrane nucléaire interne. Elle est constituée de **lamines**, des **filaments intermédiaires** qu'on retrouve exclusivement au niveau du noyau. Ci-contre on peut voir un réseau de lamine observé au MET. Il existe 3 sorte de lamines (A, B et C).



Ci-contre on peut voir une image de microscopie à fluorescence sur laquelle les noyaux sont marqués en rouge et les lamines en vert. Les zones jaunes sont donc les zones où la lamina colocalise avec les nucléoporines. Cela nous indique que la lamina est très proche des nucléoporines ce qui suggère fortement une interaction entre ces deux types de protéines.



Comme illustré sur le schéma ci-dessous la lamina interagit avec les pore nucléaires, la chromatine (ADN) et des protéines transmembranaires qui les rattachent à la membrane. La lamina a donc un rôle principalement structural : elle permet que les pores soient répartis de manière homogène. Elle donne également sa forme au noyau et permet la bonne organisation de la chromatine...



Remarque : Sur ce schéma on voit bien que la membrane nucléaire externe est en continuité avec le réticulum endoplasmique

II. Chromatine

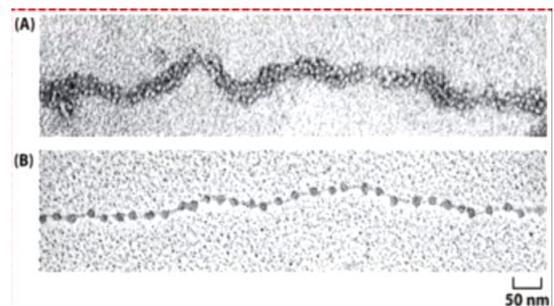
La chromatine est un complexe formé d'ADN, d'histones, et de protéines non-histones présent dans le noyau d'une cellule eucaryote. C'est la chromatine qui forme les chromosomes.

1) Le nucléofilament

a) Technique d'étalement moléculaire

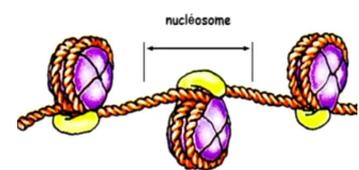
1. Lyse cellulaire en plongeant des cellules dans de l'eau avec une très faible concentration saline (la différence d'osmolarité fait que l'eau entre dans la cellule jusqu'à ce que sa membrane plasmique explose)
2. Ajout de détergent pour détruire l'enveloppe nucléaire
3. Ajout de polyanion qui sont des molécules chargées négativement. L'ADN étant également chargé négativement, les polyanions ont pour conséquence de l'étaler

Dans les images ci-contre prises au MET, on observe de la chromatine. Dans l'image du dessus la chromatine possède une structure en solénoïde alors que dans l'image du dessous elle possède une structure en "collier de perles" qui est moins condensée. Ces images, et notamment l'image du dessous, représente le nucléofilament, une succession de nucléosomes compactés.



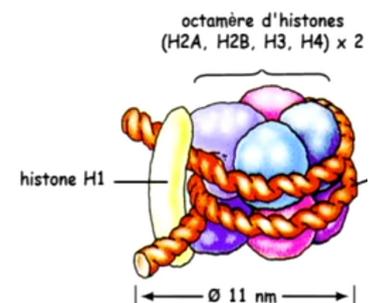
b) Le nucléosome

Le nucléosome est la structure de base de la chromatine. Il est composé d'histones autour desquelles s'entoure de l'ADN. Ci-contre un schéma représentant la chromatine en "collier de perles", on peut voir que chaque perle correspond à un nucléosome et que le fil correspond à l'ADN.



Le nucléosome est composé :

- d'un octamère d'histone, 2 fois les histones 2A, 2B, 3 et 4
- de l'histone H1 qui s'intercale entre les 2 brins d'ADN
- de l'ADN qui fait deux tours autour de chaque octamère



Fonction des histones :

- Compaction de l'ADN grâce à des interactions électrostatiques, l'ADN est chargé négativement alors que les histones sont chargées positivement
- Aident au repliement et au remodelage (transcription, réplication) de l'ADN

L'histone H1 qui n'est pas dans l'octamère a un rôle à part : elle permet d'augmenter la compaction de l'ADN en faisant se croiser les brins d'ADN entrant et sortant de l'octamère, cela correspond à la structure en solénoïde.

In vivo le nucléosome est une structure dynamique, il permet de moduler la compaction de l'ADN, notamment grâce à l'intervention de protéines régulatrices. Cela permet de rendre l'ADN plus accessible notamment lors de la réplication ou de la transcription de l'ADN.

2) Hétérochromatine et euchromatine

À l'observation en ME, on distingue deux types de chromatine, caractérisées par une différence de densité aux électrons.

Ces deux types de chromatine correspondent à deux niveaux de compaction différents de l'ADN.

Type de chromatine	Structure	Expression des gènes	Localisation
Hétérochromatine (HC)	+/- Condensée	Non : Inactive non transcrite	Contre la membrane nucléaire interne
Euchromatine (EC)	+/- Peu condensée	Oui : Active Peut subir transcription	Dispersée dans le nucléoplasme <i>Forme des boucles entre des zones d'HC</i>

Attention : L'hétérochromatine est inactive, mais pas forcément de manière irréversible, il en existe deux types :

- ★ **L'hétérochromatine constitutive** : elle n'est pas transcrite. On la trouve par exemple au niveau du centromère, des télomères et du chromosome X.
- ★ **L'hétérochromatine facultative** : elle peut se transformer en euchromatine, et peut donc retrouver sa capacité transcriptionnelle.

Remarque : **Aucune observation au microscope ne permet d'établir le degré de compaction de l'ADN**, c'est pour cela que dans le tableau on précise "plus ou moins condensée".

On ne peut pas faire de lien entre la fibre en collier de perle où la fibre en solénoïde et l'hétéro et l'euchromatine, car ces structures n'ont **pas de réalité in vivo**, elles sont obtenues par étalement moléculaires.

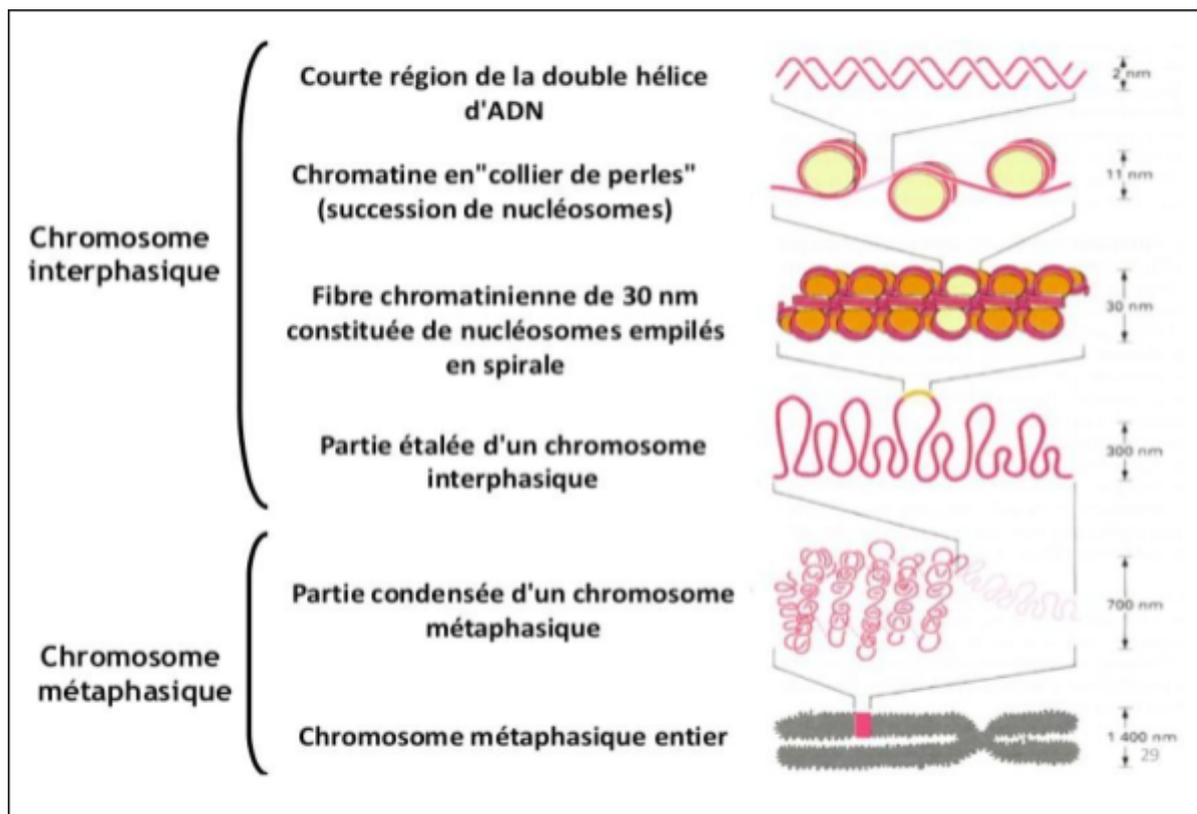
3) Les chromosomes

Bien que non discernables comme des entités séparées, les chromosomes interphasiques sont **organisés et individualisés à l'intérieur du noyau**. Chaque chromosome occupe un volume défini dans le nucléoplasme, appelé **territoire chromosomique**.

Les chromosomes mitotiques correspondent eux au niveau maximum de condensation de la chromatine, on peut en observer 23. Ils possèdent deux régions importantes :

- les télomères qui correspondent à l'extrémité du chromosome et qui possèdent une séquence caractéristique d'ADN
- le centromère qui correspond à la région "étranglée" d'un chromosome mitotique. Il permet notamment de maintenir les chromatides soeur

Du nucléofilament au chromosome, il y a de nombreux niveaux de condensation intermédiaire, le schéma ci dessous est ici pour que vous vous rendiez compte à quel point l'ADN est compacté.

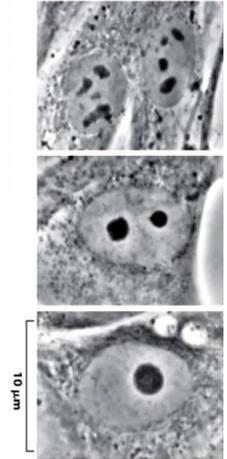


III. Le nucléole

Le nucléole est une structure dans le noyau où l'ARN ribosomique (ARNr) est transcrit et les sous unités des ribosomes sont assemblées. Il n'est pas entouré de membrane et n'est donc pas un organe.

Le nucléole est organisé autour des régions (boucles) chromosomiques appelées organisateurs nucléolaires qui comporte les gènes des ARN 47S. Chez l'Homme les séquences d'ARN 47S sont retrouvées sur les chromosomes (13, 14, 15, 21 et 22). Il existe donc 10 organisateurs nucléolaires dans un nucléole.

Sur l'image de microscopie photonique ci-contre les taches noires correspondent au nucléole à différentes phases du cycle cellulaire. On voit donc que c'est une structure qui change au cours du temps.



IV. les fonctions du noyau

1) Synthèses des acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques correspond à la transcription et à la réplication de l'ADN.

a) **Transcription des ARN messagers (ARNm)**

La transcription se fait en plusieurs étapes :

1. Formation d'un transcrit primaire par copie de certaines séquences du gène (introns + exons) par l'ARN polymérase II
2. Transformation du transcrit primaire en ARNm mature (uniquement les exons + coiffe GTP + queue polyA)
3. Export de l'ADN dans le cytosol et traduction en protéine

Cf. le cours de biologie moléculaire en biochimie pour plus de détail

b) **Transcription des ARN ribosomiques (ARNr)**

L'image d'étalement moléculaire ci-contre permet de visualiser la transcription des ARNr. On obtient une image dite "en sapin de Noël" : les troncs correspondent à un brin d'ADN portant une copie du gène du 47S et les branches à des ARNr en cours de synthèse par l'ARN polymérase I.



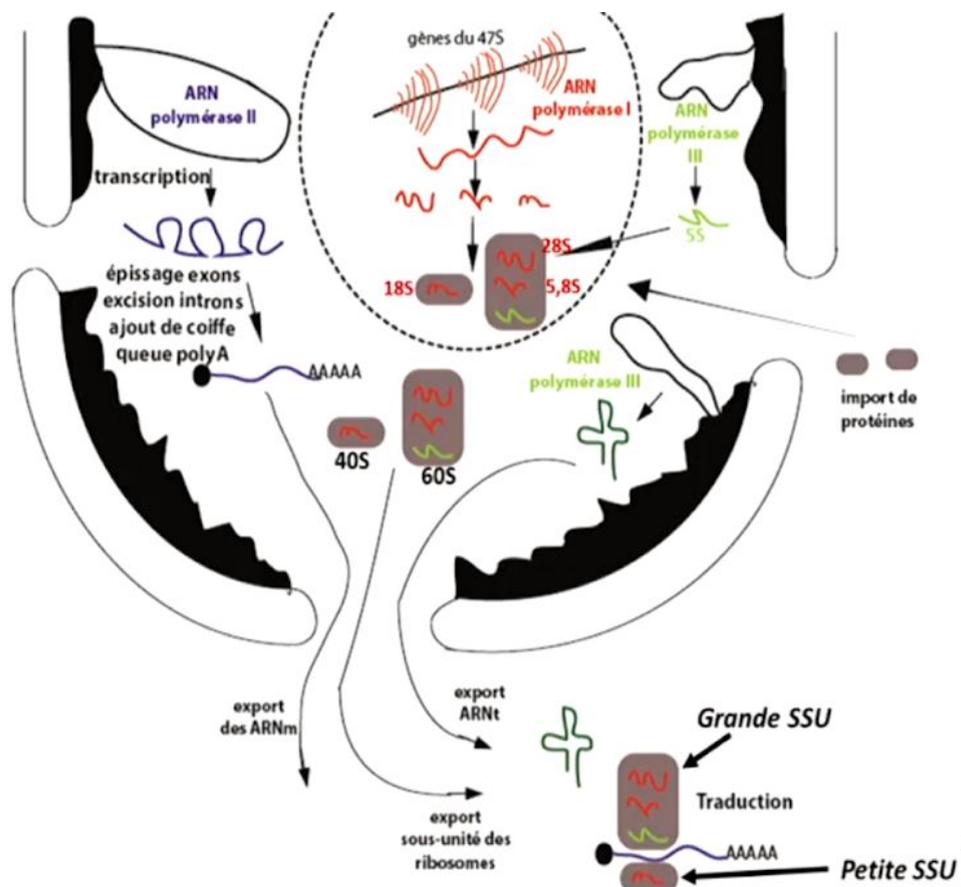
c) Vue d'ensemble

Le schéma ci-dessous représente les fonctions de transcription du noyau. La bande blanche représente l'enveloppe nucléaire et le noir à l'intérieur l'hétérochromatine. Le cercle en pointillés représente le nucléole. Dans le nucléole le gène du 47S est d'abord transcrit puis coupé pour donner :

- l'ARNr 18S, qui une fois assemblé **dans le noyau** avec des protéines importées du cytosol donne la petite sous-unité du ribosome (40S)
- les ARNr 28S, 5,8S s'assemblent avec l'ARN 5S qui est produit par l'ARN polymérase III hors du nucléole et des protéines importées du cytoplasme pour former la grosse sous unité du ribosome (60S)

Les deux sous unités sont ensuite exportées du noyau et forment le ribosome lors de la traduction des ARNm en protéines dans le cytosol.

Dans ce schéma, on voit également la production des ARN de transfert (ARNt) par l'ARN polymérase III dans le noyau. Ils seront ensuite exportés dans le cytosol pour participer à la traduction.



2) Transports nucléocytoplasmiques

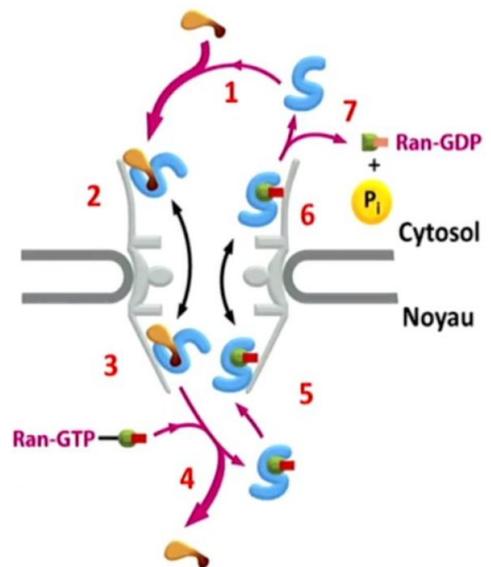
Il existe deux types de transport à travers le pore nucléaire, pour :

- **les ions et les petites molécules**, dont le poids moléculaire (**PM**) est inférieur à **40 kDa**. Ils transitent par les **canaux latéraux** du pore, sans nécessité d'énergie : il s'agit de **diffusion passive**.
- **Les grosses molécules** qui passent par le **canal central** du pore, ce transport est plus lent et nécessite de **l'énergie** : il s'agit d'un **transport actif**.

Le cargo (= protéine à importer ou exporter) possède une séquence NLS lorsqu'il doit être importé dans le noyau et NES lorsqu'il doit être exporté du noyau. Ces séquences ne sont pas nécessaires pour certaines protéines comme la bêta-caténine.

a) Importation d'une protéine

1. Dans le cytosol le cargo est reconnu et interagit avec le récepteur d'importation : l'importine
2. L'importine interagit avec les filaments cytoplasmiques du pore nucléaire
3. Passage de l'importine + du récepteur d'importation dans le noyau
4. Une petite protéine G (Ran-GTP) interagit avec l'importine ce qui a pour conséquence de libérer le cargo
5. Interaction de Ran-GTP et de l'importine avec les pores nucléaires
6. Passage dans le cytosol
7. Hydrolyse du GTP du Ran-GTP en GDP. Le Ran-GDP ayant une conformation différente du Ran-GTP il se dissocie de l'importine.

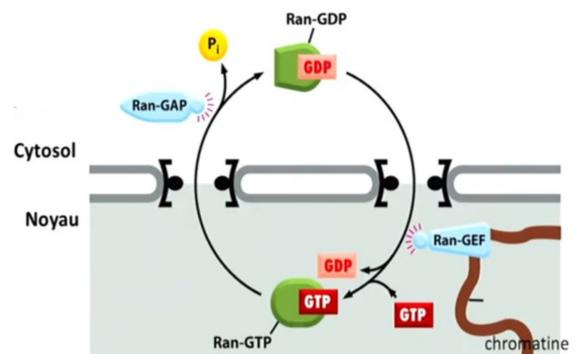


b) Protéines Ran

La protéine Ran-GAP permet l'hydrolyse de Ran-GTP en Ran-GDP, elle est uniquement présente dans le cytosol

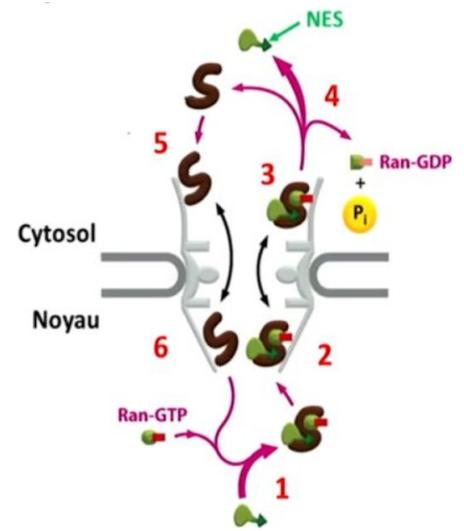
Dans le noyau, la protéine Ran-GEF permet d'échanger le GDP de Ran contre du GTP.

Une autre protéine, la NTF2, transporte le Ran-GDP du cytoplasme au noyau.



c) Exportation d'une protéine dans le noyau

1. Le cargo portant une séquence NES, le récepteur d'importation et le RAN-GTP interagissent ensemble
2. Ce complexe interagit avec le pore nucléaire
3. Passage dans le cytosol
4. Hydrolyse du GTP et libération de Ran et du Cargo
5. Le récepteur d'exportation interagit avec le pore
6. Passage dans le noyau



Exercice

QCM 1 : Parmi les propositions suivantes concernant la **chromatine et l'étalement moléculaire**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Le nucléotide est le constituant de base de la chromatine.
- B. Le détergent utilisé lors de l'étalement moléculaire rompt l'enveloppe nucléaire.
- C. Lorsque l'on utilise la technique de l'étalement moléculaire, on applique une forte force ionique afin de séparer l'ADN des histones.
- D. Un chromosome en G2 est formé à partir de deux fibres de chromatine.
- E. La fibre nucléosomique correspond à l'euchromatine et la fibre de 30nm à l'hétérochromatine.

QCM 2 : Parmi les propositions suivantes concernant le **nucléole**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La transcription se déroule à la frontière entre composant fibrillaire dense et composant granulaire.
- B. La grande sous unité ribosomique contient uniquement l'ARNr 5,8S, 28S, 5S.
- C. La grande sous unité ribosomique fait intervenir les trois ARN polymérases.
- D. Les protéines ribosomiques s'assemblent sur l'ARN 47S juste après sa synthèse.
- E. Les unités géniques de l'ARN 47S représentent l'hétérochromatine nucléolaire.

QCM 3 : Parmi les propositions suivantes concernant le **nucléole**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Au début de l'interphase, le noyau possède autant de nucléoles que d'organiseurs nucléolaires.
- B. Les gènes des ARNr 47S correspondent aux constriction secondaires visibles sur 5 paires de chromosomes différents chez l'homme.
- C. Le nucléole correspond à une accumulation transitoire d'ADN, d'histones, d'ARN polymérase et d'ARN.
- D. Le nombre d'organiseurs nucléolaires double lors de la mitose.
- E. On trouve des protéines dans le nucléole.

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes concernant le **noyau**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La cellule procaryote ne contient ni noyau, ni ADN.
- B. L'enveloppe nucléaire est une double membrane.
- C. Dans un cycle cellulaire l'ordre des phases est invariable.
- D. Les cellules en G1 possèdent des chromosomes bien visibles.
- E. Le noyau contient tout l'ADN de la cellule.

QCM 5 : Parmi les propositions suivantes concernant le **noyau**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Tous les acides nucléiques sont synthétisés dans le noyau.
- B. Les protéines participant à la chromatine sont synthétisées dans le noyau.
- C. L'enveloppe nucléaire comporte un espace intermembranaire.
- D. Parmi les transports nucléo-cytoplasmiques on trouve l'importation d'ions.
- E. Parmi les transports nucléo-cytoplasmiques on trouve l'importation d'acides nucléiques.

QCM 6 : Parmi les propositions suivantes concernant **la chromatine**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. L'hétérochromatine est 10 fois plus condensée que l'euchromatine.
- B. L'hétérochromatine forme des boucles entre les zones d'euchromatine.
- C. La chromatine est formée de protéines non histones entre autres.
- D. L'euchromatine, au contraire de l'hétérochromatine, est dite « active ».
- E. L'hétérochromatine se trouve surtout en périphérie du noyau.

Exercice 1 :

Dans cet exercice, on cherche à étudier le rôle de Ran et NTF2 dans les transports nucléo-cytoplasmiques, ainsi que leur mode de fonctionnement.

On décide d'abord de faire des expériences utilisant des homocaryons (cellules possédant plusieurs noyaux suite à une fusion) afin de détecter les mouvements de Ran entre les noyaux.

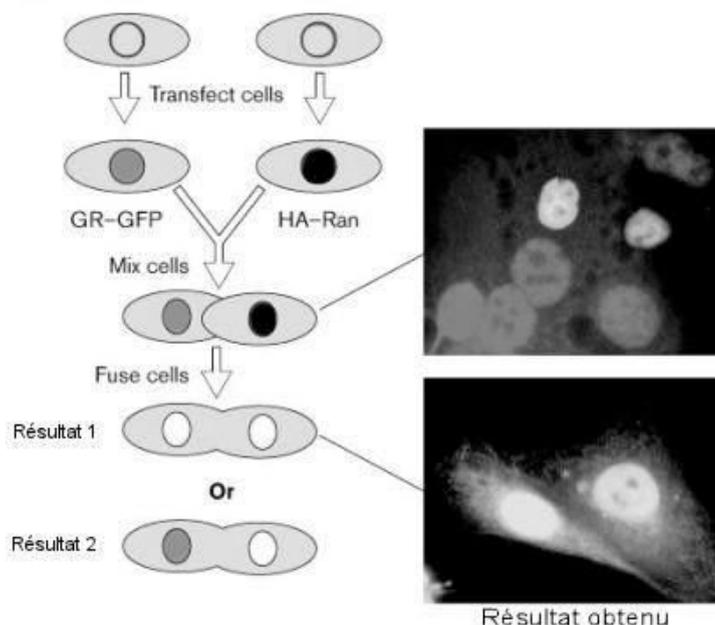
Deux cultures de cellules BHK21 (baby hamster kidney) ont été transfectées séparément, l'une avec Pkh3Ran, permettant de détecter Ran à l'aide d'un motif triple hémagglutinine (HA), l'autre avec un plasmide codant la fusion avec la GR-GFP (glucocorticoid receptor and green fluorescent protein).

Les cellules exprimant HA-Ran sont ensuite mélangées avec les cellules exprimant GR-GFP puis fusionnées à l'aide de poly-éthylène glycol pour former des homocaryons. Après 30-60 minutes d'incubation en présence de cycloheximide, permettant l'inhibition de la synthèse de nouvelles protéines, les cellules sont fixées et l'HA-Ran est détecté par immunofluorescence indirecte (figure 1), le second anticorps utilisé est alors couplé au Texas Red (coloration rouge/violette).

On sait que le récepteur aux glucocorticoïdes (GR) se déplace entre le cytosol et le noyau, servant ainsi de contrôle positif aux transports nucléo-cytoplasmiques dans cette expérience.

Lorsque les deux colorations (GFP et Texas Red) sont présentes au même endroit, on observe du jaune (apparaît en blanc sur ce schéma).

Figure 1 :

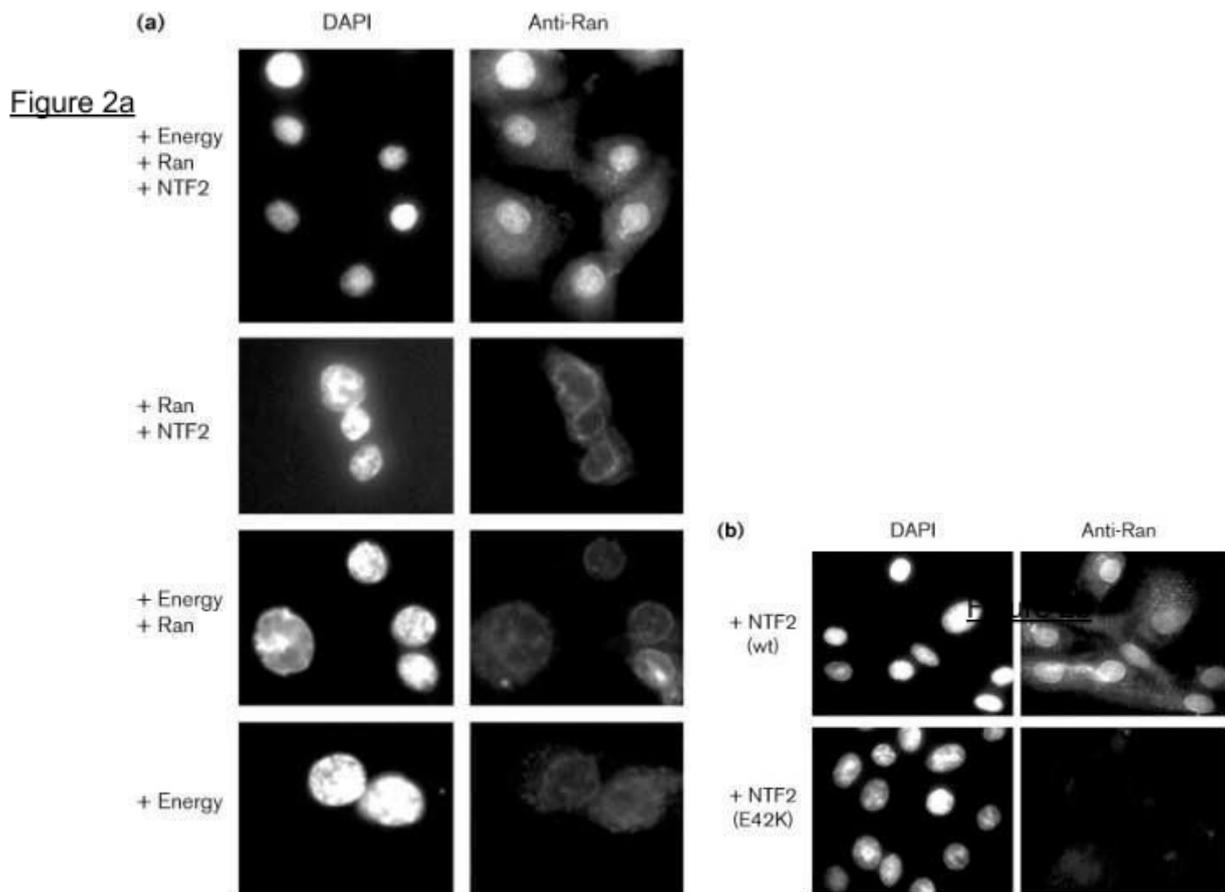


OCM 7: Parmi les propositions suivantes concernant cette première expérience, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Le résultat 1 est obtenu si HA-Ran se déplace à l'intérieur et à l'extérieur du noyau.
- B. Le résultat 2 est obtenu si HA-Ran reste dans le noyau.
- C. Les cellules observées sont vivantes.
- D. Ces résultats montrent que Ran peut être exporté et importé dans le noyau.
- E. Il existe un troisième résultat possible où l'on observerait des noyaux rouges et des noyaux jaunes.

On s'intéresse maintenant au rôle de NTF2 dans ces transports. Des cellules perméabilisées sont incubées avec du NTF2 recombinant, du Ran et un système de régénération d'énergie. Après 30 minutes, les cellules sont fixées et colorées avec des anticorps anti-Ran (**figure 2a**).

On sait que NTF2 peut se lier aux nucléoporines telles que p62. On décide d'utiliser un mutant de NTF2 par mutation ponctuelle (E24K), possédant un résidu de lysine en position 42 au lieu de l'acide glutamique. NTF2 (E24K) a la capacité de lier p62 mais pas Ran (**figure 2b**).



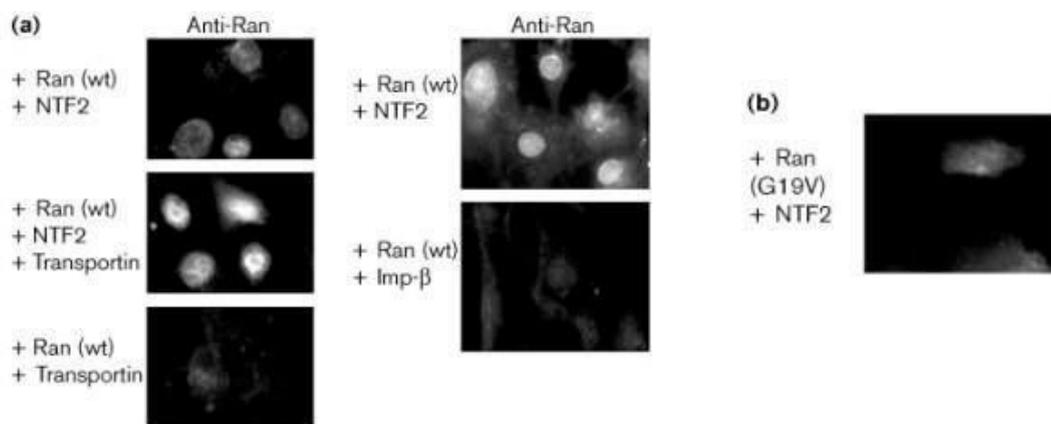
QCM 8 : Parmi les propositions suivantes concernant les expériences précédentes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La figure 2a montre que l'accumulation de Ran dans le noyau est dépendante de la présence d'énergie ainsi que sa liaison à NTF2.
- B. La figure 2a montre qu'en l'absence de NTF2, Ran ne s'accumule plus dans le noyau.
- C. La figure 2b montre que NTF2 permet l'accumulation de Ran dans le noyau en se liant à celui-ci.
- D. D'après vos connaissances, les noyaux colorés par DAPI apparaissent rouges.
- E. D'après vos connaissances, si on avait réalisé une mutation empêchant la liaison de NTF2 avec les nucléoporines et non Ran, le résultat observé serait le même que pour la figure 2b (NTF2 E24K, anti-Ran).

Pour déterminer si l'importation nucléaire de Ran par NTF2 est spécifique, ou s'il s'agit d'une propriété commune à toutes les protéines se liant à Ran et pouvant interagir avec les nucléoporines, on observe les effets de la transportine et de l'importine- β dans l'importation de Ran en absence de NTF2 (**figure 3a**).

On se demande enfin si Ran-GTP peut fonctionner seul en tant que substrat pour l'importation en utilisant un Ran-GTP mutant : Ran(G19V), qui est insensible à RanGAP (**figure 3b**).

Figure 3 :

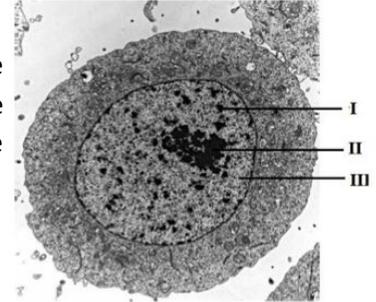


QCM 9 : Parmi les propositions suivantes concernant les expériences précédentes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La transportine seule permet l'importation de Ran.
- B. L'importine- β permet l'importation de Ran.
- C. La transportine peut avoir un rôle de séquestration de Ran à l'intérieur du noyau lorsque NTF2 est présent.
- D. Ran (G19V) est un bon substrat pour l'accumulation nucléaire de Ran.
- E. D'après vos connaissances, vous savez que si Ran-GTP est insensible à Ran-GAP, le gradient Ran-GTP/GDP est perturbé, d'où une perturbation des transports nucléo-cytoplasmique

Exercice 2 :

L'uridine est l'acide nucléique qui remplace la thymidine dans l'ARN. L'uridine marquée au tritium (radioactif) permet de révéler la présence de cet acide nucléique par autoradiographie. On décide alors d'introduire de l'uridine marquée au tritium dans la cellule représentée à gauche.



QCM 10 :

- A. La flèche I indique la présence de grains de glycogène.
- B. La flèche I indique la présence d'hétérochromatine.
- C. Après révélation par autoradiographie, l'uridine marquée sera visible aussi bien dans le noyau que dans le cytosol.
- D. L'image présentée est obtenue par microscopie photonique à fluorescence.
- E. La zone indiquée par la flèche II est inactive d'un point de vue transcriptionnel.

Chapitre n°4 : Jonctions cellule-cellule et cellule-matrice :

Les cellules doivent interagir et coopérer entre elles et avec leur environnement. Ces interactions se font principalement par l'intermédiaire de jonctions. Ces jonctions sont assurées par des protéines spécifiques et ont des fonctions propres. Toutes les jonctions ont des fonctions de signalisation.

I. Interactions cellule-cellule

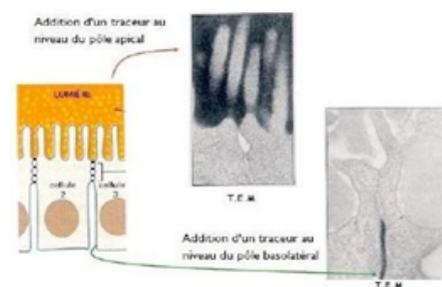
1) Jonctions serrées

Les jonctions serrées assurent l'étanchéité d'un tapis cellulaire, c'est pourquoi elles sont aussi appelées jonctions étanches (tight junctions) ou jonctions occlusives (zonula occludens).

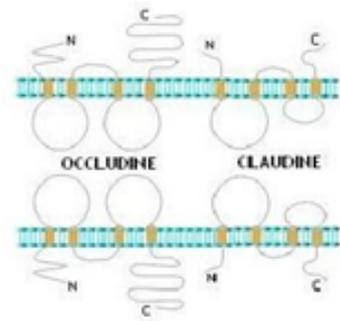
Ces jonctions se trouvent juste sous le pôle apical (= celui qui est au contact de la cavité) de la membrane des cellules épithéliales (qui revêtent notamment les intestins, cf histologie) et des cellules endothéliales (= cellules qui bordent les vaisseaux) et portent sur tout le pourtour cellulaire, ce sont des jonctions en anneau, ou en ceinture (zonula). Grâce aux jonctions serrées, les nutriments passent (sauf exception) DANS les cellules à défaut de passer ENTRE les cellules pour assurer le bon métabolisme cellulaire.

Pour mettre en évidence les jonctions serrées, 2 techniques sont citées dans le cours :

1. En MET, en testant l'imperméabilité d'un tapis cellulaire par addition d'un traceur dans le milieu extracellulaire : au pôle apical, les jonctions serrées ne laissent pas passer le traceur, tandis qu'au pôle baso-latéral le traceur peut s'infiltrer dans l'espace intercellulaire, mais s'arrête au niveau des jonctions serrées.
2. En ME à cryofracture, un réseau de protéines très entrelacées sont distinguables sous la bordure en brosse d'un épithélium.



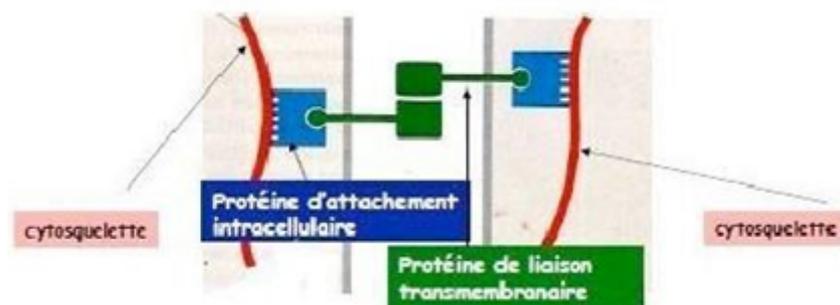
Les principales protéines constitutives de ce type de jonction sont les **occludines** et les **claudines**. Il s'agit de **tétraspandines**, c'est-à-dire de protéines comprenant 4 segments transmembranaires et 2 boucles extracellulaires. Les extrémités N-terminale et C-terminale des protéines sont ancrées dans la cellule et ce sont les boucles extracellulaires qui assurent la liaison entre les cellules adjacentes. Les boucles des occludines sont hydrophobes tandis que celles des claudines sont chargées.



La formation de ce type de jonction repose sur l'interaction non covalente entre les boucles extracellulaires de 2 cellules adjacentes. Cette interaction est dite homophile, c'est-à-dire qu'elle a lieu entre les boucles extracellulaires des protéines identiques : une occludine interagit avec une occludine, une claudine avec une claudine.

2) Jonctions d'ancrage

Les jonctions d'ancrage assurent l'attachement entre les cellules. Il en existe différents types, toutes structurées sur le même modèle : le cytosquelette de chaque cellule est relié à une protéine d'attachement intracellulaire, elle-même reliée à une protéine de liaison transmembranaire. Ce sont ces dernières qui assurent l'attachement entre deux cellules adjacentes.



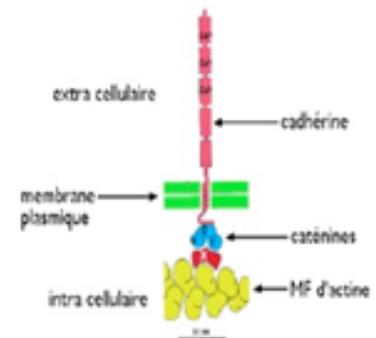
Il existe deux types de jonctions d'ancrage intercellulaires : les jonctions adhérentes et les desmosomes. Entre deux cellules épithéliales adjacentes, on trouve du pôle apical vers le pôle basal : les jonctions serrées, puis les jonctions adhérentes, puis les desmosomes. Cette organisation spécifique des épithéliums est appelée **complexe de jonctions**.

a) Jonctions adhérentes

Ces jonctions sont essentielles pour certains mouvements cellulaires, notamment la formation de tubes, le meilleur exemple est la formation du tube neural que vous verrez en biologie du développement !

Dans les jonctions adhérentes, on peut retrouver deux classes de molécules d'adhérence cellulaires (CAM) (ou protéines de liaison transmembranaire) :

- **Cadhérines** : Il existe plusieurs types de cadhérines, selon le tissu dans lequel elles se situent : E-cadhérine/uvomoruline (épithéliums), N-cadhérine (tissu nerveux, cœur), P- cadhérine (placenta, épiderme). Elles permettent un ancrage solide et permanent entre les cellules, et jouent ainsi un rôle majeur dans l'adhérence cellulaire. Elles assurent une liaison de type **homophile** avec les cadhérines de la cellule adjacente. Ce sont des molécules calcium-dépendantes, présentant 5 domaines de liaison à ce dernier. L'extrémité N-Terminale est extracellulaire et la C-Terminale est intracellulaire, liée aux **caténines** qui sont indispensables dans la liaison des cadhérines aux microfilaments d'actine intracellulaires. (cf schéma)
- **Ig-CAM** : Les Ig-CAM sont des molécules d'adhérence cellulaire de la superfamille des immunoglobulines, présentant 5 domaines Immunoglobulines du côté extracellulaire. Elles assurent une liaison cellulaire de type homophile, mais plus faible que les cadhérines. Ainsi, elles jouent seulement un rôle régulateur et modulent l'ancrage des cellules fonction des besoins. Ce sont des molécules **indépendantes** du calcium.



Les cadhérines et certaines Ig-CAM sont reliées à des protéines cytoplasmiques qui servent de protéines d'attachement : les caténines (présentes sous

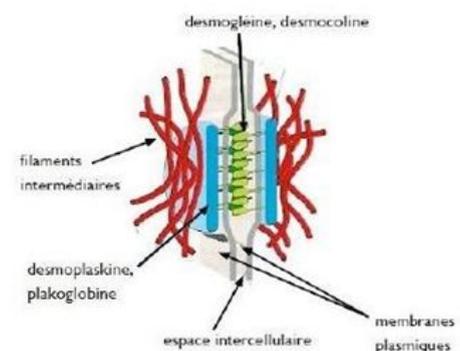
forme α , β et γ). Le tout est accroché aux microfilaments d'actine à l'intérieur de la cellule : cette liaison avec le cytosquelette est indispensable.

Remarque : Comme les jonctions serrées, les jonctions adhérentes intéressent tout le pourtour cellulaire (zonula adherens).

b) Desmosomes

Les desmosomes sont un deuxième type de jonctions d'ancrage. Ce sont des points de contact intercellulaire en forme de « bouton-pression », ainsi ils ne font pas le tour de la cellule comme les jonctions adhérentes, mais sont ponctuels (macula adherens).

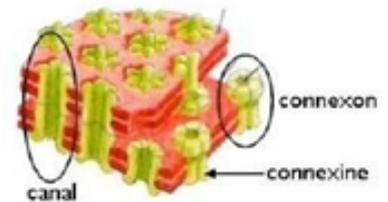
Les protéines transmembranaires qui permettent l'adhérence entre les cellules sont les desmoglénines et desmocoline, des cadhérines spécifiques des desmosomes. Ces deux types de protéines sont reliés à la plaque desmosomale, constituées de plakoglobines et desmoplakines, des protéines d'attachement intracellulaires.



La plaque desmosomale est connectée aux filaments intermédiaires du cytosquelette : FI de kératine dans les cellules épithéliales, FI de desmine dans les cellules cardiaques.

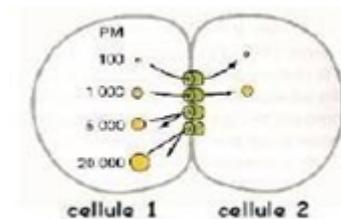
3) Jonctions communicantes

Les jonctions communicantes, aussi appelées **jonctions gap ou nexus**, assurent une communication directe entre les cellules. Elles permettent le passage de petites molécules, uniquement celles dont le poids moléculaire est **inférieur à 1 kDa**.



Ceci a été mis en évidence par l'introduction de molécules fluorescentes de taille variable dans une cellule 1 et analyse des molécules retrouvées dans la cellule 2 adjacente.

Au niveau des jonctions communicantes, les cellules adjacentes sont unies entre elles par des canaux intercellulaires. Ces canaux sont formés de 2 hémicanaux, appelés **connexons**, chacun faisant partie de la membrane plasmique d'une des deux cellules. **Chaque connexon est formé de 6 sous-unités protéiques appelées connexines**.



Les jonctions communicantes sont visibles au microscope électronique après cryofracture.

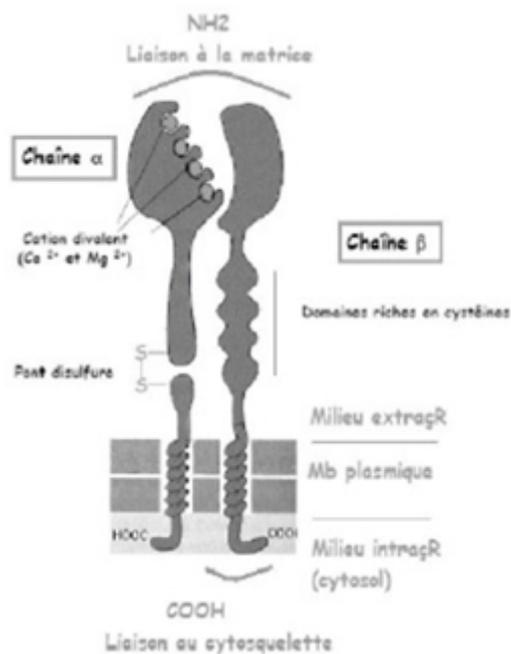
L'ouverture des canaux est sensible au pH et à la concentration en Ca^{2+} . **Fermeture si $[\text{Ca}^{2+}]$ ou $[\text{H}^+]$ élevée (pH bas).**

Les jonctions serrées, d'ancrage et communicantes sont considérées comme des contacts jonctionnels. Il existe également, au sein des interactions intercellulaires, des contacts non jonctionnels qui peuvent initier des adhérences intercellulaires spécifiques (ces derniers sont soit transitoires soit stabilisés par la suite par des complexes jonctionnels). Les protéines pouvant être impliquées dans ce type d'interaction sont des cadhérines, des CAM, des intégrines ou encore des sélectines (avec un pouvoir de reconnaissance très spécifique qui peut servir notamment à la liaison de leucocytes avec la paroi d'un vaisseau).

II. Interactions cellule-matrice

1) Rôle des intégrines

Les intégrines sont des récepteurs de faible affinité exprimés en grand nombre à la surface cellulaire. *Pensez à une attache velcro : une boucle seule est peu solide/affine mais elles sont fortes en grand nombre.*



Elles reconnaissent les domaines RGD (autrement dit elles reconnaissent un enchaînement particulier d'acides aminés : R = arginine, G = glycine et D = acide aspartique) présents dans les composants de la matrice extracellulaire (MEC)

Elles permettent :

- L'attachement des cellules à la matrice, en interagissant avec le cytosquelette, la membrane plasmique cellulaire, la membrane basale et la matrice extracellulaire (via laminine).
- La transmission d'informations bidirectionnelles entre cellule et matrice.

Les intégrines sont des hétérodimères, c'est-à-dire des protéines formées de 2 chaînes différentes qui sont liées de façon **non covalente** :

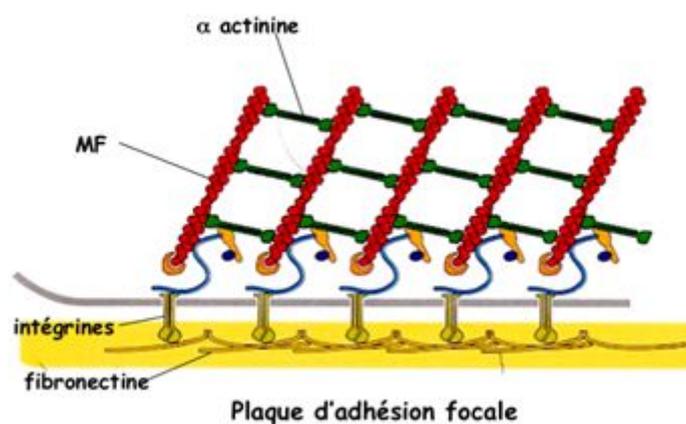
1. une chaîne alpha, constituée de 2 sous-unités reliées par un pont disulfure (liaison entre 2 atomes de soufre, vous le verrez plus tard). Responsable également de la liaison d'ions Ca^{2+} et Mg^{2+} (essentiels pour le fonctionnement des intégrines).
2. une chaîne bêta qui porte le site de liaison au cytosquelette sur sa partie C-terminale intracellulaire (FI ou actine selon la nature du contact).

Il existe de nombreux types de chaînes alpha (env. 15) et de chaînes bêta (env. 10). Chaque chaîne alpha et bêta possède une spécificité de reconnaissance grâce à des signaux spécifiques présents sur un ou plusieurs composants de la matrice. On dénombre environ une vingtaine d'associations α et β

L'activité des intégrines est contrôlée :

- **Contrôle de l'interaction avec la matrice** : La liaison entre l'intégrine et son ligand (composant de la MEC) nécessite au préalable un signal d'activation (sinon la reconnaissance récepteur/ligand ne se fait pas).
- **Contrôle de l'interaction avec le cytosquelette** : La phosphorylation des intégrines provoque leur dissociation d'avec le cytosquelette et la MEC permet par exemple à la cellule de se déplacer.

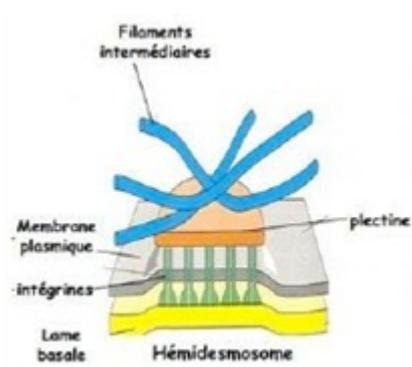
Les intégrines contrôlent l'activité et l'organisation des cellules et de la matrice. Elles participent à la formation des 2 types de contacts jonctionnels entre les cellules et la matrice extra cellulaire : les **plaques d'adhésion focale** et les **hémidesmosomes**.



2) Plaques d'adhésion focale

Les plaques d'adhésion focales sont des contacts focaux, ponctuels entre une cellule et la matrice. Elles participent à l'attachement de la cellule à la matrice, mais également à sa motilité (s'établissent de façon transitoire pour permettre la migration de la cellule sur la MEC).

Les plaques d'adhésion focale font intervenir les microfilaments d'actine du cytosquelette, ainsi que diverses protéines d'adhérence intracellulaires : vinculine, alpha-actinine, FAK.



Les intégrines transmembranaires assurent le lien.

3) Hémidesmosome

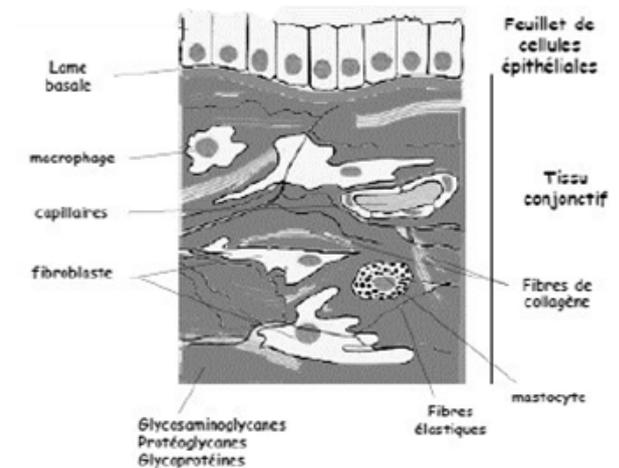
Les hémidesmosomes sont présents dans certains épithéliums. Ils font intervenir des filaments intermédiaires de kératine, des intégrines, ainsi que des protéines intracellulaires d'attachement : les plectines.

III. La matrice extra-cellulaire

La MEC est un enchevêtrement complexe de macromolécules et forme la substance fondamentale du tissu conjonctif. Il s'agit du support des cellules qu'on peut se représenter sous la forme d'un ciment qui permet la cohésion d'un tissu. Elle constitue le lieu de passage de cellules mobiles comme des macrophages, des mastocytes ainsi que des fibroblastes qui produisent une grande partie de ses constituants.

La MEC se compose principalement de :

- Glycosaminoglycanes (GAG) et protéoglycanes
- Protéines fibreuses : collagènes, élastine (surtout produits pas les fibroblastes)
- Protéines d'adhérence : fibronectine, laminine



1) Glycosaminoglycanes et protéoglycanes

Ce sont des grandes chaînes de polysaccharides (= longues chaînes de sucres). Il existe 4 grands types de glycosaminoglycanes qui se distinguent par leur composition et leur taille :

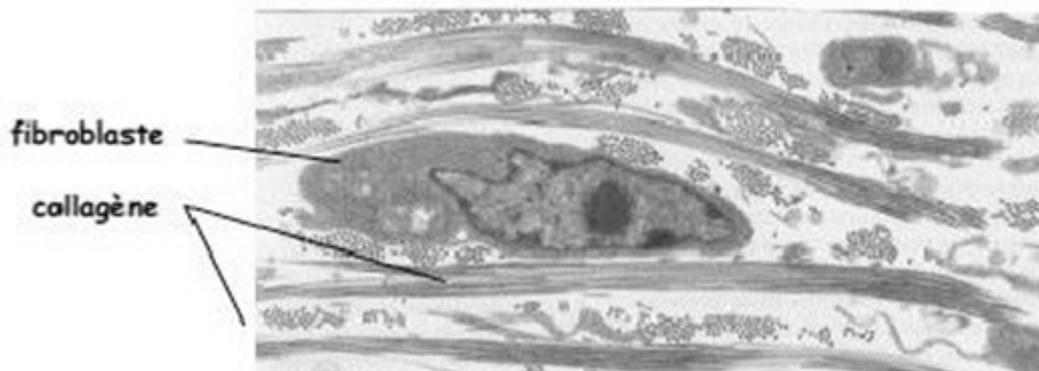
1. Acide hyaluronique (non lié à une protéine)
2. Chondroïtine sulfate et dermatane sulfate
3. Héparane sulfate et héparine
4. Kératane sulfate

La structure particulière des GAG leur permet de résister aux forces de compression (ce sont des molécules hydrophiles, ainsi, en se chargeant d'eau, elles forment des gels hydratés qui occupent l'espace avec peu de molécules et permettent ainsi une certaine résistance aux forces de compression).

Les protéoglycanes résultent de la liaison covalente de GAG (tous sauf l'acide hyaluronique) à un noyau protéique. La décorine et l'aggrécane sont respectivement le plus petit et le plus grand des protéoglycanes. Ils peuvent s'organiser en réseaux complexes et on parle alors d'agrégats.

2) Collagène et fibres

Le collagène est la protéine principale de la matrice. Il existe une vaste famille de collagènes composé par des hélices alpha de composition différente. Les collagènes sont principalement synthétisés par les cellules de tissu conjonctif et sont de trois types : fibrillaire, associé aux fibrilles et en réseau. Les fibres de collagène du tissu conjonctif comprennent le collagène fibrillaire stabilisé par le collagène associé aux fibrilles.



Les fibres élastiques sont principalement composées d'élastine. Le collagène et l'élastine résistent aux forces de tension.

3) Lame basale

La lame basale est une structure très complexe et constitue une forme spécialisée de la matrice extracellulaire. Elle est structurée par un collagène particulier, le collagène de type IV, et contient une glycoprotéine spécifique, la laminine.

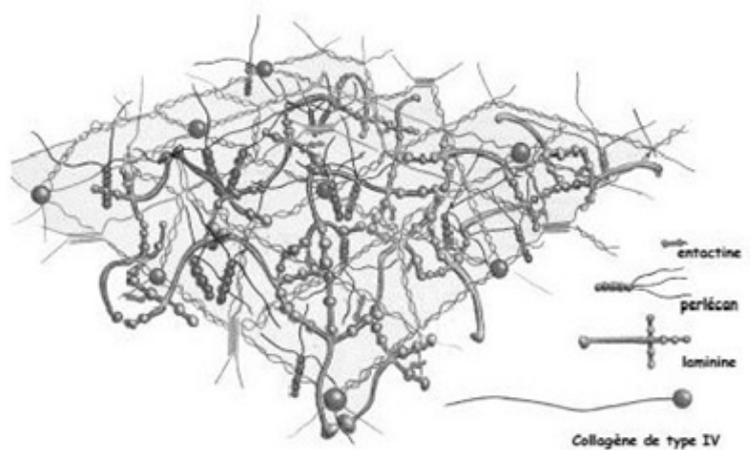
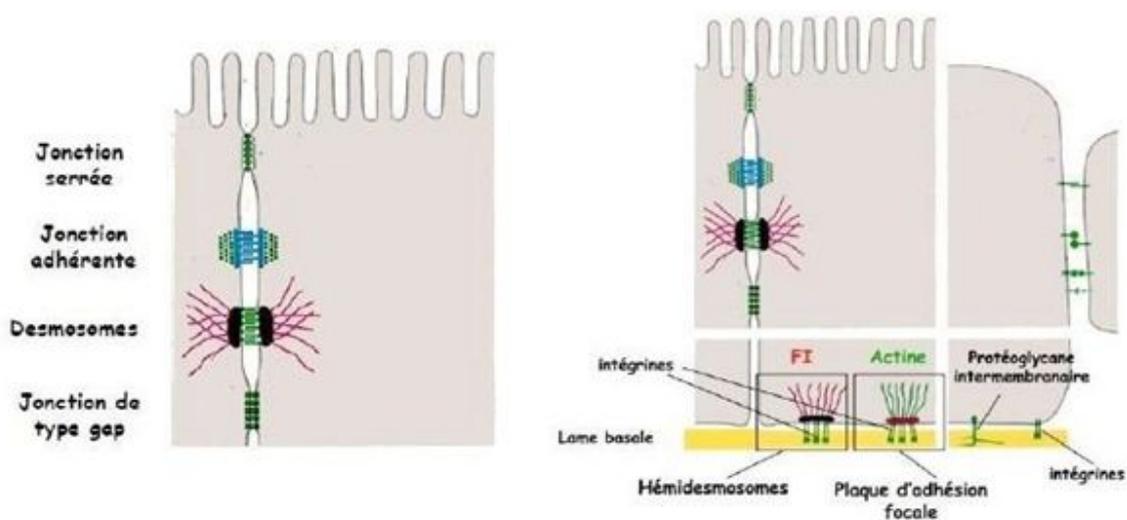


TABLEAU RÉCAPITULATIF

Type d'interaction	Type de jonction	Fonction	Protéines impliquées	Cytosquelette impliqué
Entre deux cellules	Jonction serrée	Imperméabilité des épithéliums	Occludine (T) Claudine (T)	MF d'actine
	Jonction adhérente	Attachement des cellules	Cadhérine (T) Ig-CAM (T) Caténines (I)	MF d'actine
	Desmosome		Desmogléine (T) Desmocoline (T) Plakoglobine (I) Desmoplakine (I)	Filaments intermédiaires
	Jonction communicante	Communication cellulaire	Connexine (T)	
Entre une cellule et la matrice	Plaque d'adhésion focale	Attachement des cellules à la MEC et motilité	Vinculine (I) Alpha-actinine (I) FAK (I) Intégrine (T)	MF d'actine
	Hémidesmosome	Attachement des cellules à la MEC	Plectine (I) Intégrine (T)	Filaments intermédiaires

Légende :

- **(T)** : protéines **transmembranaires** assurant la jonction entre deux cellules ou entre la cellule et la MEC
- **(I)** : protéines **intracellulaires** faisant le lien entre le cytosquelette et la jonction



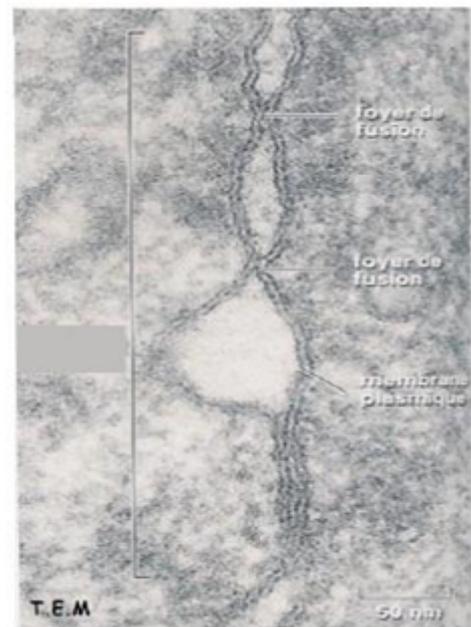
Exercices

QCM 1 : Parmi les propositions suivantes concernant les jonctions intercellulaires, lesquelles sont exactes ?

- A. Les cadhérines sont spécifiques des jonctions d'ancrage.
- B. Les claudines sont spécifiques des jonctions communicantes.
- C. Les jonctions adhérentes comprennent les jonctions d'ancrage et les desmosomes.
- D. Dans un épithélium, les desmosomes sont situés entre les jonctions serrées et les jonctions adhérentes.
- E. Les desmosomes, comme les hémidesmosomes, assurent l'attachement entre cellules.

QCM 2 : A propos de l'image à droite, quelles propositions sont exactes ?

- A. Cette image est prise au microscope électronique à transmission
- B. Cette structure peut être mise en évidence par l'addition d'un traceur au pôle apical du tapis cellulaire.
- B. Cette structure assure principalement l'imperméabilité du tapis cellulaire.
- C. Cette structure assure principalement l'attachement entre les cellules.
- D. Cette structure a notamment une fonction de signalisation.
- E. Les connexines sont des protéines spécifiques de cette structure.



QCM 3 : Parmi les structures intercellulaires suivantes, lesquelles sont toujours (directement ou indirectement), reliées au cytosquelette ?

- A. Desmosomes
- B. Jonctions serrées
- C. Jonctions communicantes
- D. Cadhérines
- E. Ig-CAM

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes concernant les molécules d'adhérence intercellulaires, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Les cadhérines sont en contact avec les filaments intermédiaires par l'intermédiaire des caténines.
- B. Il existe environ 20 types de N-CAM différentes, codées par de nombreux gènes.
- C. Les Ig CAM ont un rôle régulateur.
- D. Les Ig CAM possèdent des domaines de liaison du calcium.
- E. Les Ig CAM possèdent des ponts disulfures (S-S).

QCM 5 : Parmi les propositions suivantes concernant les interactions entre les cellules et la matrice extracellulaire, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Au sein des plaques d'adhésion focale, les intégrines permettent d'ancrer les filaments intermédiaires de la cellule aux composants de la MEC.
- B. Les intégrines contrôlent l'activité et l'organisation des cellules et de la MEC.
- C. Les contacts focaux s'établissent de manière permanente entre deux cellules.
- D. La MEC est un enchevêtrement complexe de macromolécules.
- E. La MEC forme la substance fondamentale du tissu conjonctif.

EXERCICE 1 : Cadhérines

Dans ces expériences, on étudie le rôle et la situation des VE-cadhérines et la myosine X dans des HUVECs et des cellules HeLa.

HUVEC = Human Umbilical Vein Endothelial Cell

HeLa = cellules cancéreuses (Henrietta Lacks)

Merge = fusion

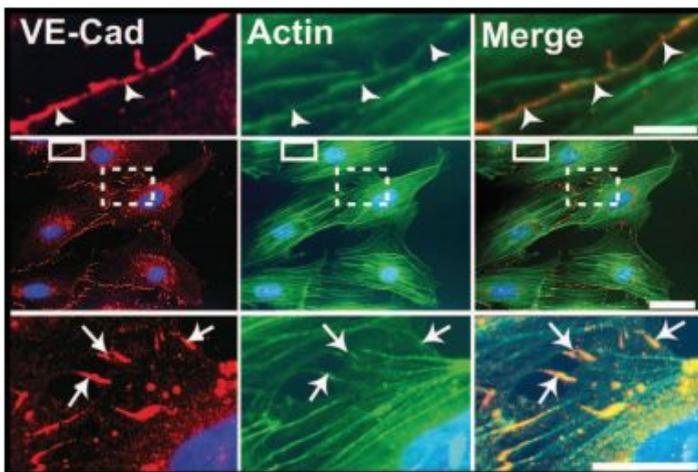


Figure 1 : Localisation des VE-cadhérines (VE-Cad) et de l'actine dans les HUVECs. Sur la première ligne sont les zones encadrées en trait plein sur la seconde ligne. Sur la troisième ligne sont les zones encadrées en pointillés sur la seconde ligne.

QCM 6 :

- A. On retrouve notamment les cadhérines dans les desmosomes
- B. Les cadhérines forment des liaisons hétérophiles entre elles.
- C. Les caténines sont une protéine d'attachement intracellulaire.
- D. Les cadhérines possèdent des sites de liaison au calcium.
- E. Les jonctions adhérentes se trouvent au dessus des desmosomes.

QCM 7 :

- A. On peut observer une colocalisation des VE-Cad et de l'actine.
- B. Les VE-Cad sont seulement localisées au pôle basal des HUVECs.
- C. On peut supposer qu'ici, les VE-Cad se fixent aux filaments d'actine.
- D. On peut supposer que les VE-Cad jouent un rôle significatif donc les jonctions inter-cellulaires.
- E. La liaison des jonctions adhérentes aux microfilaments est essentielle à la déformation des cellules.

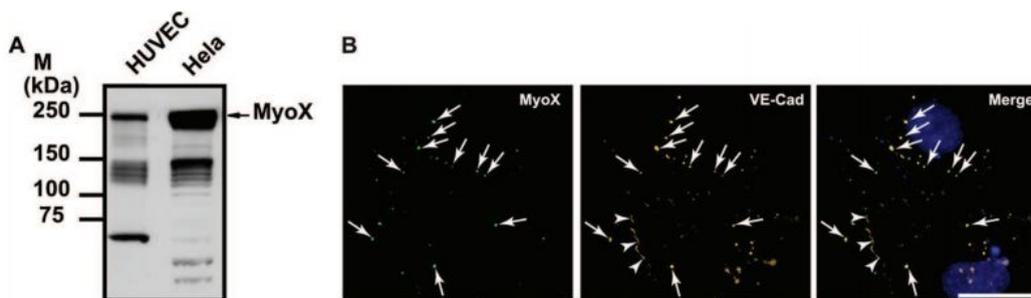


Figure 2 : (A) Expression de la myosine X (MyoX) dans les HUVECs et cellules HeLa, grâce à la technique du western blot. Pour détecter la myosine X, un anticorps anti-MyoX a été utilisé. (B) Localisation par immunofluorescence de la myosine X et de la VE-cadhérine dans les HUVECs. Les flèches indiquent les points où MyoX et VE-Cad colocalisent. Les têtes de flèche seules indiquent les jonctions cellule-cellule où il n'y a pas de colocalisation de MyoX et VE-Cad.

QCM 8 :

- A. Le western blot permet d'analyser de l'ARN.
- B. Plus la protéine étudiée est grosse, plus on retrouvera sa bande bas dans notre gel de western blot.
- C. La Myosine X est plus lourde dans les HUVECs que dans les cellules HeLa.
- D. Les bandes sous-jacentes représentent les produits de la dégradation de la myosine X.
- E. La myosine X est plus dégradé dans les cellules HeLa que dans les cellules HUVEC

QCM 9 :

- A. La myosine est une molécule nécessaire à la formation des filopodes des cellules. (VRAI)
- B. La myosine X colocalise avec VE-Cad.
- C. On ne retrouve la myosine que dans le noyau.
- D. On peut supposer qu'il existe une interaction entre MyoX et VE-Cad.

Chapitre BONUS V : Introduction à l'histologie

Bienvenue en Histo, une des 4 sous matières de l'UE2 (UE = unité d'enseignement) : « La cellule et les tissus »

Elle ne fait plus partie du programme du SPR car elle est considérée comme une matière à « par cœur » et qu'elle n'est donc pas très adaptée à un cours entier dessus. Mais l'histologie est un GROOOOOOS morceau... Donc on vous laisse le chapitre d'introduction ! Il ne sera pas au concours du SPR, mais on te conseille fortement de t'y mettre le plus tôt possible !

C'est une matière qui surprend un peu au début car elle te fait étudier le corps humain sous un angle différent de ceux dont tu es habitué : celui des tissus ! C'est pour ça que même si la matière ne commence qu'en Octobre, le Tuto veut te familiariser avec cette matière dès le SPR en te présentant le premier chapitre d'Histo. Il s'agit d'une matière à par cœur, tu vas devoir retenir une quantité conséquente de détails mais avant tout, il est important d'avoir une **vision globale** du chapitre avant de s'obstiner sur les détails.

Pour commencer un chapitre d'histo on te conseille de bien comprendre le plan du cours (et les grands axes) puis ensuite d'apprendre les petits détails

Pour ce qui est des images du cours (la plupart du temps des coupes au microscope ou des schémas de coupe), sache qu'elles sont toutes tombables au concours (qu'elles soient dans votre poly, dans le diapo ou en ED). On peut vous demander de les légender, de les reconnaître ou remarquer certains éléments. L'année dernière des images sont tombées elles provenaient du cours mais aussi des EDs (d'où l'importance d'y aller!!!!)

Si vous avez des questions sur le cours n'hésitez pas à venir nous les poser, il y a un forum spécialement conçu pour ça : <https://forum.c2su.org> Rdv rubrique « Premier semestre 2019-2020 »

Bon courage☺

I. Introduction

L'histologie est la science des tissus. Elle a commencé en 1819 avec le microscope, pour approfondir la structure des êtres vivants.

Comme vous avez déjà pu le voir en biocell, la cellule est l'unité de l'être vivant. Pourtant une cellule ne constitue pas à elle seule un tissu, en histologie on étudie donc comment se structure les tissus et comment les cellules prennent part à cette organisation

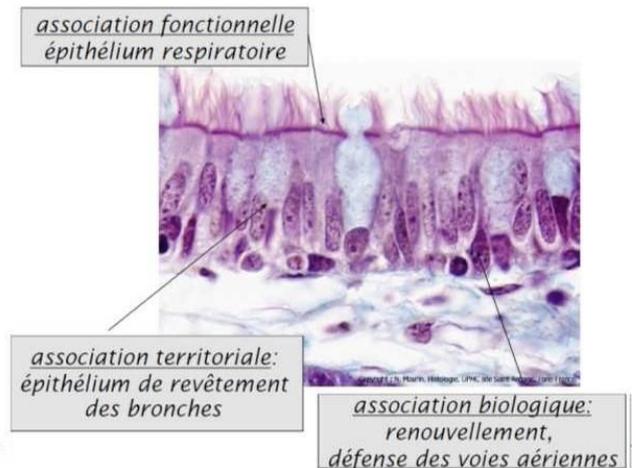
1) Définition d'un tissu

Les tissus sont des ensembles coopératifs de **cellules différenciées**, entourées de **matrice extracellulaire (MEC)**, formant une **triple association** :

- 1) **Territoriale** (lieu donné) correspondant à un ensemble topographiquement individualisé parfois avec une limite précise (lame basale)
- 2) **Fonctionnelle** (fonction propre) correspondant à une association de cellules quasiment toutes semblables (tissu musculaire) ou à une association de cellules différentes (tissu nerveux). Il existe donc un rapport étroit entre structure et fonction !
- 3) **Biologique** (système de régulation propre) correspondant aux caractéristiques biologiques des tissus (tolérance, renouvellement cellulaire)

Ainsi, d'un tissu à l'autre, les facteurs de variations des tissus sont :

- la nature des cellules le composant,
- la composition de la MEC,
- la proportion relative des cellules et de la MEC.

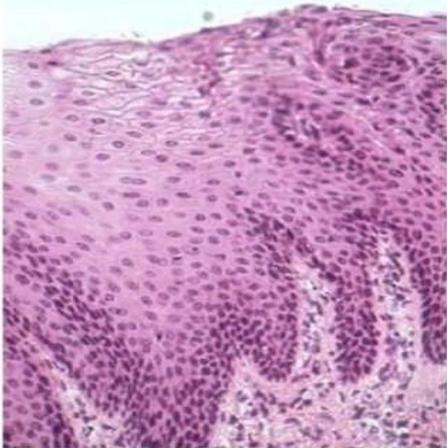
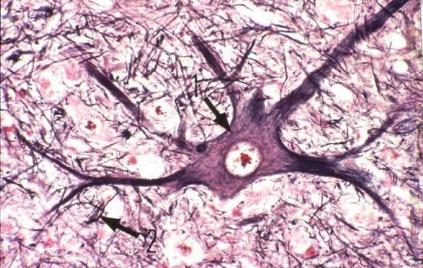


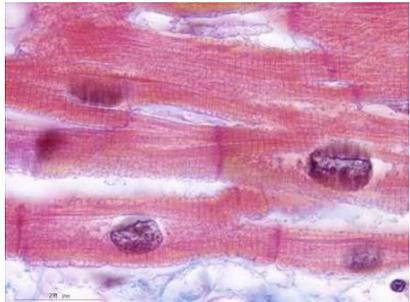
L'histologie correspond en fait à une échelle d'étude. Rappelons ici les différentes échelles d'étude possibles :

molécule < organite < cellule < tissu < organe < système < corps humain

a.i. Les grandes familles de tissus

Voici le moment de présenter les grandes familles des tissus. Il y aura un chapitre par famille durant ce semestre.

Grandes familles de tissus	Sous-groupes tissulaires et caractéristiques	Image
<u>Épithéliums</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Épithélium de revêtement : forment les barrières, à l'extérieur (<i>peau</i>), dans les cavités ouvertes sur l'extérieur (<i>muqueuse buccale</i>), dans les cavités closes (<i>endothélium des vaisseaux</i>) - Épithélium glandulaire 	
<u>Tissus conjonctifs</u>	<p>ATTENTION Les tissus conjonctifs aux sens large contiennent les « vrais » tissus conjonctifs et les tissus squelettiques. Cela peut parfois porter à confusion</p> <ul style="list-style-type: none"> - lâche - dense - réticulaire - adipeux (=graisse) 	
<u>Tissus squelettiques</u>	<ul style="list-style-type: none"> - osseux - cartilagineux 	
<u>Tissus nerveux</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Système nerveux (SN) central : substance blanche et substance grise (<i>cerveau, cervelet, moelle épinière</i>) - SN périphérique (<i>nerfs et ganglions</i>) 	

<u>Tissu musculaires</u>	<ul style="list-style-type: none"> - striés squelettiques : muscles que l'on contrôle volontairement - striés cardiaques - lisses : muscles non contrôlés par notre volonté (<i>muscles érecteurs des poils, muscles responsable du péristaltisme intestinal</i>) 	
---------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

b) Les populations cellulaires libres et la lignée germinale

Certaines cellules de notre organisme ne répondent pas à la définition de tissu :

	Les populations cellulaires libres	Lignée germinale
Localisation	Dans tout l'organisme : dans les fluides biologiques (sang, lymphe, liquide céphalo- rachidien) et dans certains tissus conjonctifs lâches.	Dans les gonades (testicules / ovaires)
Cellules concernées	<ul style="list-style-type: none"> - Hématies (globules rouges) - Cellules immunitaires (granulocytes, plasmocytes, macrophages...) - Plaquettes 	<ul style="list-style-type: none"> - Cellules germinales en cours de maturation (spermatogonies, spermatocytes / ovocytes I) - Gamètes (spermatozoïdes / ovocytes II)

II. La matrice extra-cellulaire

1) Définition

Définition	<p>Réseau complexe tridimensionnel de macromolécules (protéines et polysaccharides) sécrétées par des cellules :</p> <ul style="list-style-type: none">- Formant le lien entre les différents groupes de cellules ou tissus,- Ayant un rôle important dans la micro anatomie des organes, la formation du squelette et les étapes du développement. Son rôle est spécifique suivant sa localisation <p>Elle est dégradée par des protéases.</p>
Localisation	<p>Elle est présente à tous les niveaux de l'organisme mais son abondance et sa composition diffèrent selon les tissus.</p> <p>Par exemple : la MEC est très abondante dans les tissus conjonctifs, mais très rare entre les cellules épithéliales. Elle est très particulière dans les tissus osseux (minéralisée).</p>
Rôle spécifique selon les tissus	<ul style="list-style-type: none">- Architecture (os, cartilage)- Soutien mécanique (tissu osseux)- Nutrition (épithélium)- Support des migrations cellulaires (tissu conjonctif lâche ☺ défense de l'organisme)- Stockage moléculaire (rétention de molécules solubles)

2) Principales molécules de la MEC

a) Les protéines fibreuses structurales

Ces protéines fibreuses s'assemblent par milliers pour former des fibres (cf d)), qui constituent la charpente de la MEC.

	Rôle	Particularités
Collagène	Résistance mécanique des tissus, le collagène est inextensible	Présent dans tout l'organisme (ubiquitaire) et peut être de 3 types : <ul style="list-style-type: none"> o fibrillaire (type I, II, III) o associé aux collagènes fibrillaires (type IX) o en réseau (type IV)
Elastine	Donne l'élasticité aux tissus (et oui ! parfois c'est logique!)	Composant majeur des fibres élastiques, avec les fibres oxytalanes.

b) Polysaccharides

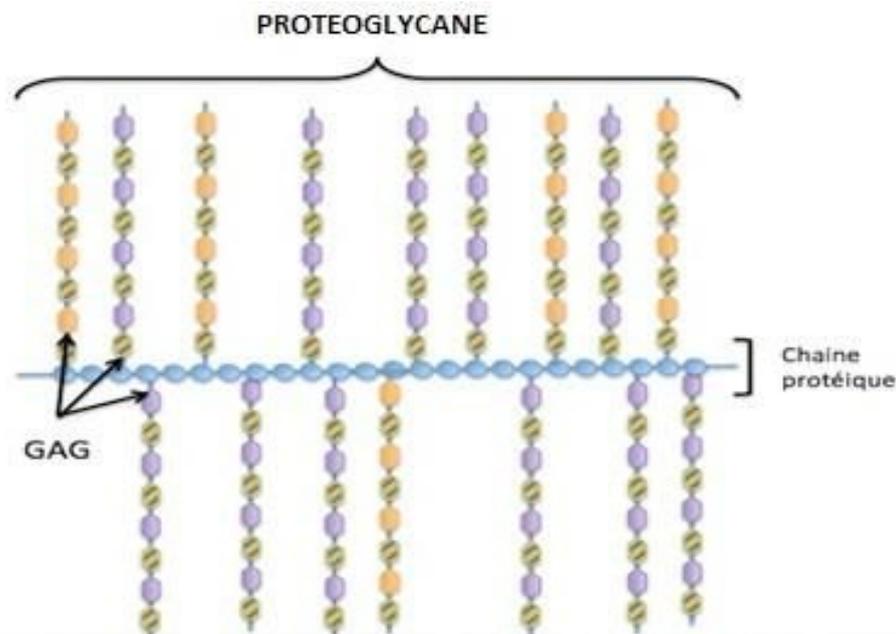
Les polysaccharides « bouchent les trous » et donnent du beaucoup de volume à la MEC quand ils sont présents.

	Structure	Particularités et exemples (<i>non exhaustif</i>)
Glycosaminoglycanes (GAG)	Longue chaîne non ramifiée, faite de la répétition d'un même motif disaccharidique (= diholoside = 2 sucres)	Forte charge négative, très hydrophile, peuvent être sulfatés ou non-sulfatés. <i>Exemples : acide hyaluronique, chondroïtine sulfatée, dermatane sulfatée.</i>
Protéoglycanes (PG)	GAG assemblés sur un axe protéiques	Retient l'eau, donc très forte résistance à la compression, comme dans les cartilages. Attention ! L'acide hyaluronique ne rentre pas dans la composition des PG. <i>Exemples : décorine, perlécan.</i>

c) Les glycoprotéines d'adhérences

Les glycoprotéines d'adhérence permettent de faire le lien entre les différents composants de la MEC (fibres, les polysaccharides), formant ainsi un réseau complexe, grâce à différents sites de liaison dans leur structure.

- **Laminine** : (ATTENTION LAMININE c'est différent de LAMINE vue en biocell, piège récurrent)
- **Fibronectine** : elles s'assemblent pour former un réseau de mailles qui, associé au réseau formé par le collagène de type IV constitue la membrane basale.



d) Les fibres de la MEC

- **Fibres de collagène** constitués de collagène de type I et II principalement
- **Fibres de réticuline** constitués de collagène de type III
- **Fibres élastiques** constitués d'élastine entourée de microfibrilles de fibrilline

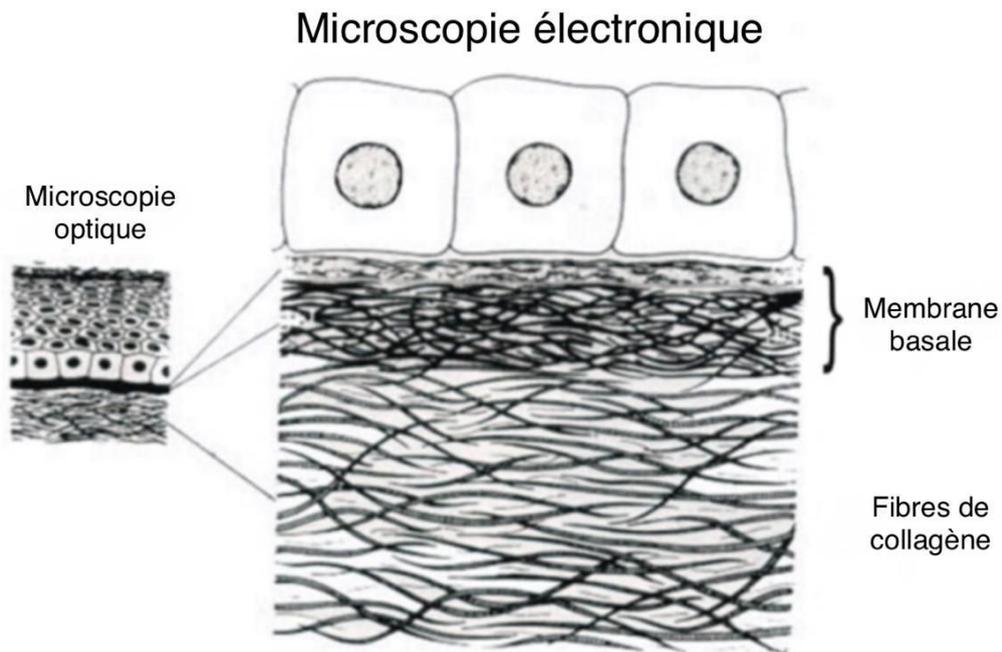
Remarque : les collagènes de types I, II et III sont dits « fibrillaires » car se sont les précurseurs des fibrilles qui en s'associant donneront des fibres.

En quelques mots : la Matrice Extracellulaire c'est tout ce qui se trouve en dehors des cellules et qui forme le tissu, un peu comme un gel qui maintient un tout.

> Retenez **CELLULES + MEC = TISSU**

III. La membrane basale

La membrane basale correspond à une organisation spéciale de la MEC formant un feuillet résistant, complexe autour de tout ou une partie de la membrane plasmique de certaines cellules. Lorsqu'on l'observe en MO, on aperçoit des imprégnations en argent (trait noir) alors qu'en ME des fins feutrages entremêlés.



Remarque : ici, vous pouvez remarquer que la membrane basale ne recouvre qu'une partie des cellules concernés : leur pôle basal.

1) Composants de la MB

	Composants intrinsèques	Composants extrinsèques
Synthèse	Synthétisés et sécrétés par les cellules entourées par la MB ou au contact de la MB	Sécrétés par d'autres types cellulaires de voisinage comme les fibroblastes .
Nom des composants	<ul style="list-style-type: none"> - Collagène de type IV - Laminines (avec les intégrines elles permettent l'accrochage des cellules à la MEC) 	<ul style="list-style-type: none"> - Fibronectine - collagène de type III - Facteurs de croissance.

2) Rôles et fonctions de la MB

La MB possède différent(e)s rôles/fonctions :

Rôle de **structure** : ancrage des cellules dans le TC

Rôle de **barrière physiologique** avec :

- Le milieu extérieur : au niveau des épithéliums
- Le compartiment vasculaire : où elles jouent un rôle de filtre sélectif

Rôle dans la **détermination de la polarité*** et de la **différentiation cellulaire****

Rôle dans le **maintiens anti-apoptose** (contre la mort cellulaire)

Rôle dans la **réparation**, support de la migration cellulaire

* Toutes les cellules ne sont pas sphériques. Certaines cellules, comme les cellules épithéliales, ont un pôle apical et un pôle basal. La cellule épithéliale n'est recouverte de membrane que sur son pôle basal, cela participe à la dissymétrie de la cellule.

** Processus par lequel les cellules se spécialisent en un « type » cellulaire.

IV. Réaliser une coupe histologique

L'histologie s'étudie au travers de coupes de tissus au microscope. En fonction de ce qu'on veut observer on choisira soit le **ME** (à transmission ou à balayage) soit le **MO**. Certaines étapes sont communes aux deux microscopies, mais d'autres comme l'inclusion et la coloration diffèrent :

	Microscope optique (MO)	Microscope électronique (ME)
Prélever	Échantillon de tissus <u>frais</u> (biopsie, pièce opératoire)	
Fixer	Grâce à un agent chimique comme le formaldéhyde (impératif pour garder l'intégrité des structures). La fixation permet de « fixer » l'élément comme il était à son état naturel. Il est donc important de le faire le plus vite possible après le prélèvement.	
Déshydrater	Avec de l' alcool éthylique puis plonger dans le toluène ou xylène qui sont des solvants des graisses.	
Inclusion dans un milieu hydrophobe	Dans de la paraffine	Dans de la résine synthétique
Couper	Les coupes peuvent être longitudinales, transversales ou obliques	
Colorer	<p><u>La coloration peut se faire à :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> o L'éosine pour le cytoplasme/MEC o Hématine pour le noyau o Rouge ou noir soudan pour le tissu adipeux <p><u>Il y a différents types de colorations :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> o Topographiques : o Bichromes (un colorant pour le noyau et un autre pour le cytoplasme) o Trichromes : (bichrome + colorant pour les fibres de collagène) o Histochimiques <p>(+ précises que les topographiques) : met en évidence des structures spécifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> o Immunofluorescence 	<p>On parle de <i>contraste</i> et non de coloration (la ME est en noir et blanc)</p>

Remarque : lorsqu'on observe une coupe histologique, on utilise comme repères **les noyaux** pour établir le grossissement

Abréviations à connaître

- o **MO:** microscope optique
- o **ME:** microscope électronique
- o **MEC:** matrice extracellulaire
- o **SNC:** système nerveux central
- o **SNP:** système nerveux périphérique
- o **GAG:** glycosaminoglycane
- o **PG:** protéoglycane
- o **TC:** tissu conjonctif
- o **MB:** membrane basale

Exercices

Alors voilà, comme il n'y a plus de cours d'histologie au SPR et qu'il n'y aura par conséquent pas de QCM sur ce chapitre au concours du SPR on vous en laisse ici (avec la correction évidemment;) Bon courage !

QCM 1 Quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?

- A. Un tissu est un ensemble coopératif de cellules différenciées, entourés de MEC
- B. Un tissu forme une triple association : territoriale, fonctionnelle et structurale.
- C. La proportion MEC/cellules ne varie pas d'un type de tissu à l'autre.
- D. Un système est composé de tissus, qui sont eux-mêmes composés d'organes.
- E. La composition de la MEC peut varier d'un tissu à l'autre.

QCM 2 Quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?

- A. Les tissus osseux comprennent les tissus squelettiques et cartilagineux.
- B. Les vaisseaux sanguins sont bordés d'un épithélium.
- C. Le tissu musculaire peut être lisse ou strié.
- D. Le tissu du SN central comprend la substance blanche et la substance grise.
- E. Le tissu adipeux correspond à la graisse.

QCM 3 Quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?

- A. Les spermatozoïdes font partie du tissu germinale.
- B. Les globules rouges sont une population cellulaire libre
- C. La MEC est un réseau complexe tridimensionnel de macromolécules.
- D. La MEC n'a pas de rôle de soutien mécanique.
- E. La MEC du tissu osseux est particulièrement molle.

QCM 4 Quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?

- A. Le collagène et l'élastine sont des polysaccharides de structure.
- B. Le collagène est présent dans tout l'organisme.
- C. Les glycosaminoglycanes sont hydrophobes.
- D. Les protéoglycanes sont composés de GAGs exclusivement.
- E. L'acide hyaluronique est un GAG.

QCM 5 Quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?

- A. La membrane basale est le 3ème constituant des tissus, en complément des cellules et de la MEC.
- B. Toutes les cellules sont entourées d'une MB.
- C. On distingue des composants extrinsèques (fibronectine) et intrinsèques (collagène IV) dans les MBs.
- D. Les membranes basales sont visibles en ME et en MO.
- E. Les membranes basales peuvent jouer plusieurs rôles.

QCM6 : Quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?

A. 1 : Prélèvement, 2 : Fixation, 3 : Coupe, 4 : Inclusion en milieu hydrophobe, 5 : Déshydratation, 6 : Coloration

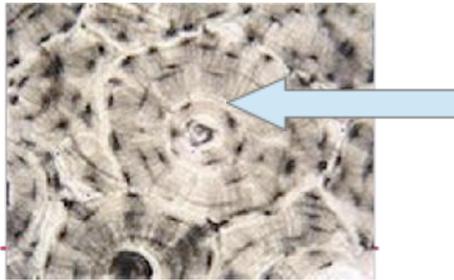
B. 1 : Prélèvement, 2 : Inclusion en milieu hydrophobe, 3 : Fixation, 4 : Déshydratation, 5 : Coupe, 6 : Coloration

C. 1 : Prélèvement, 2 : Fixation, 3 : Déshydratation, 4 : Inclusion en milieu hydrophobe, 5 : Coupe, 6 : Coloration.

D. Le toluène et le xylène sont des solvants des graisses.

E. On utilise du formol pour conserver l'état initial du prélèvement.

QCM 7 : D'après cette image, quelle(s) est(sont) la(les) réponse(s) juste(s) ?



A. C'est un tissu musculaire

B. La flèche pointe sur le noyau d'une cellule nerveuse

C. C'est un épithélium

D. C'est un tissu strié squelettique

E. C'est un tissu squelettique

CORRECTION

QCM 1

- A. **VRAI**, c'est la définition de base ! **CELLULES + MEC = TISSU**
- B. **FAUX**, territoriale, fonctionnelle et **BIOLOGIQUE**
- C. **FAUX**, au contraire la proportion de MEC/cellules varie pour chaque type de tissus !
- D. **FAUX**, un système est composé d'organes, eux-mêmes composés de tissus
- E. **VRAI**.

QCM 2

- A. **FAUX**, tissu squelettiques = tissu osseux + tissu cartilagineux. c'est important de connaître les grands groupes et leurs sous groupes!
- B. **VRAI** : l'endothélium.
- C. **VRAI**
- D. **VRAI**
- E. **VRAI**

QCM 3

- A. **FAUX**, ce bon vieux tissu germinal... que l'on vient d'inventer ! Les spermatozoïdes font partie de la lignée germinale, ne répondant pas à la définition de tissu.
- B. **VRAI**.
- C. **VRAI**, la définition de base !
- D. **FAUX**, elle joue bien ce rôle, attention aux items négatifs
- E. **FAUX**, item cadeau, elle est minéralisée, donc dure ;)

QCM 4

- A. **FAUX**, ce sont des protéines fibreuses structurales.
- B. **VRAI**, il est ubiquitaire (= se trouve partout dans l'organisme).
- C. **FAUX**, hydrophiles, donc retiennent l'eau, donc résistent à la compression !
- D. **FAUX**, protéoglycane = GAGs + axe protéique
- E. **VRAI** ! L'acide hyaluronique un GAG important à retenir car il est particulier! Il est le seul à ne pas former des Protéoglycans mais il participe à la formation des Agrégats de perlécans! vous verrez ça plus tard ;)

QCM 5

- A.**FAUX**, attention, la MB est une organisation spéciale de la MEC !
- B.**FAUX**, seulement certaines : les cellules épithéliales par exemple.
- C.**VRAI**, tout est juste, même les parenthèses ! ;)
- D.**VRAI**, en MO : trait noir après imprégnation argentique, ME : feutrage entremêlé.
- E.**VRAI** : structure, filtre, anti-apoptose...

QCM 6

- A.**FAUX**
- B.**FAUX**
- C.**VRAI**
- D.**VRAI**
- E.**VRAI**, il s'agit de l'étape de fixation.

QCM 7

- ATTENTION Les images (des cours, des ed ou du poly) peuvent tomber au concours
C'est une photo d'un tissu squelettique (A, B, C, D **FAUX** et E **VRAI**)