



BIOLOGIE CELLULAIRE



ANNEE 2012-2013

LES TUTEURS 😊

ALEXIS

(-Alexis)

MICHAËL

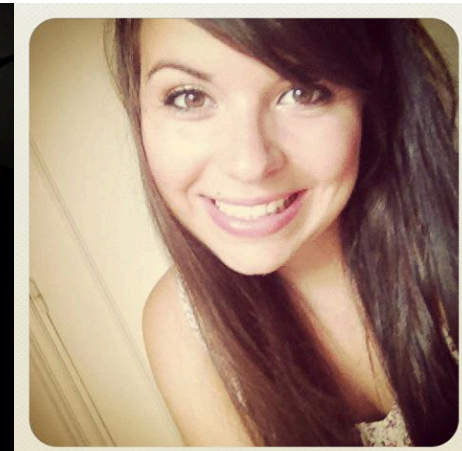
(Mika)

VINCENT

(Bittoucell)

VINCIANE

(Choubi)



PRÉSENTATION DE LA MATIÈRE

- **Professeur : Eric Gilson**
- **Nombre d'heures: 30H**
- **Chapitres:**
 - Introduction à la biologie cellulaire
 - Méthodes d'étude de la cellule
 - Compartiments membranaires de la cellule
 - Endocytose et exocytose
 - Cytosquelette & mitochondrie
 - Cycle cellulaire
 - Structure et fonctionnement du noyau
 - Notions de génétique et épigénétique
 - Mort cellulaire
 - Signalisation cellulaire



PRÉSENTATION DE LA MATIÈRE

- **UE2 = 45 QCM = 1H**
- **15 QCM**
- **Des EXPERIENCES !!!!! WTF?**
- **Biocell = Autant apprendre que comprendre**
- **TRAVAIL, RIGUEUR, DISCIPLINE.. (ENJOY) ...**



SOMMAIRE



- ❖ APPROCHE DE LA CELLULE
- ❖ ÉVOLUTION ET ORIGINE DE LA CELLULE EUCARYOTE
- ❖ CYCLE CELLULAIRE
- ❖ CELLULES SOUCHES
- ❖ MICROSCOPIE OPTIQUE :
 - Fluorescence
 - Introduction de la GFP dans la cellule
 - Application de la fluorescence
 - Microscopie à super résolution
 - Microscopie confocale
 - Microscope à contraste de phase



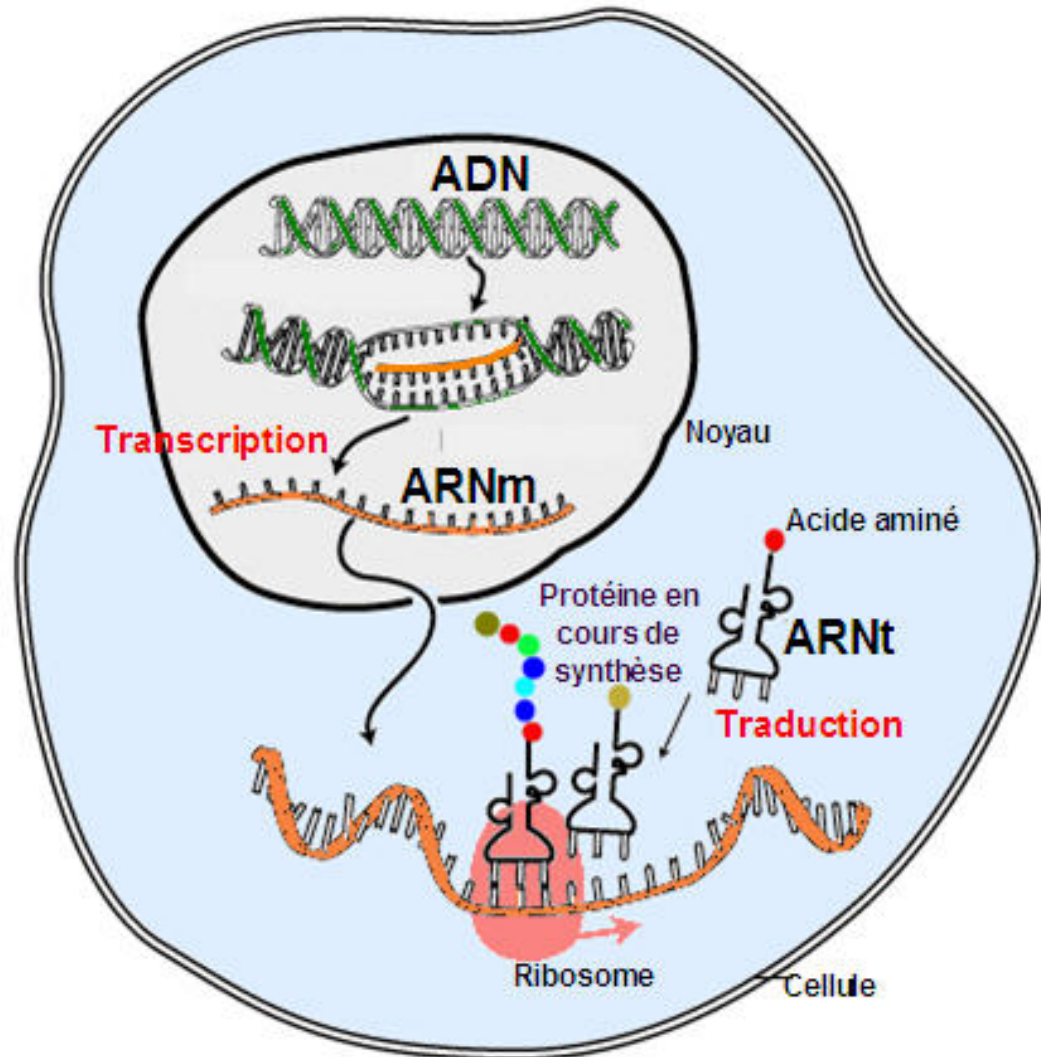
INTRODUCTION

- Etude de la composition et du fonctionnement des cellules
- 10^{14} cellules dans l'organisme
- 10^{15} bactéries NON PATHOGENES

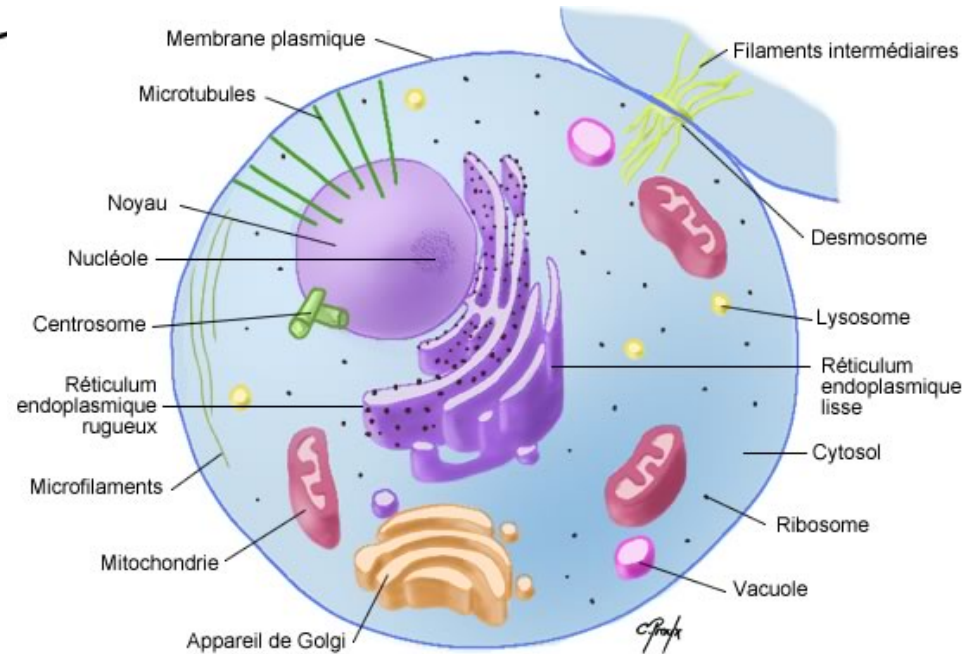
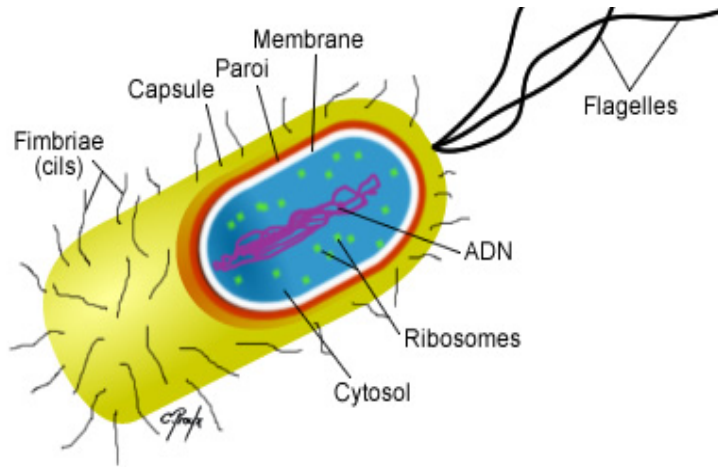


RAPPEL

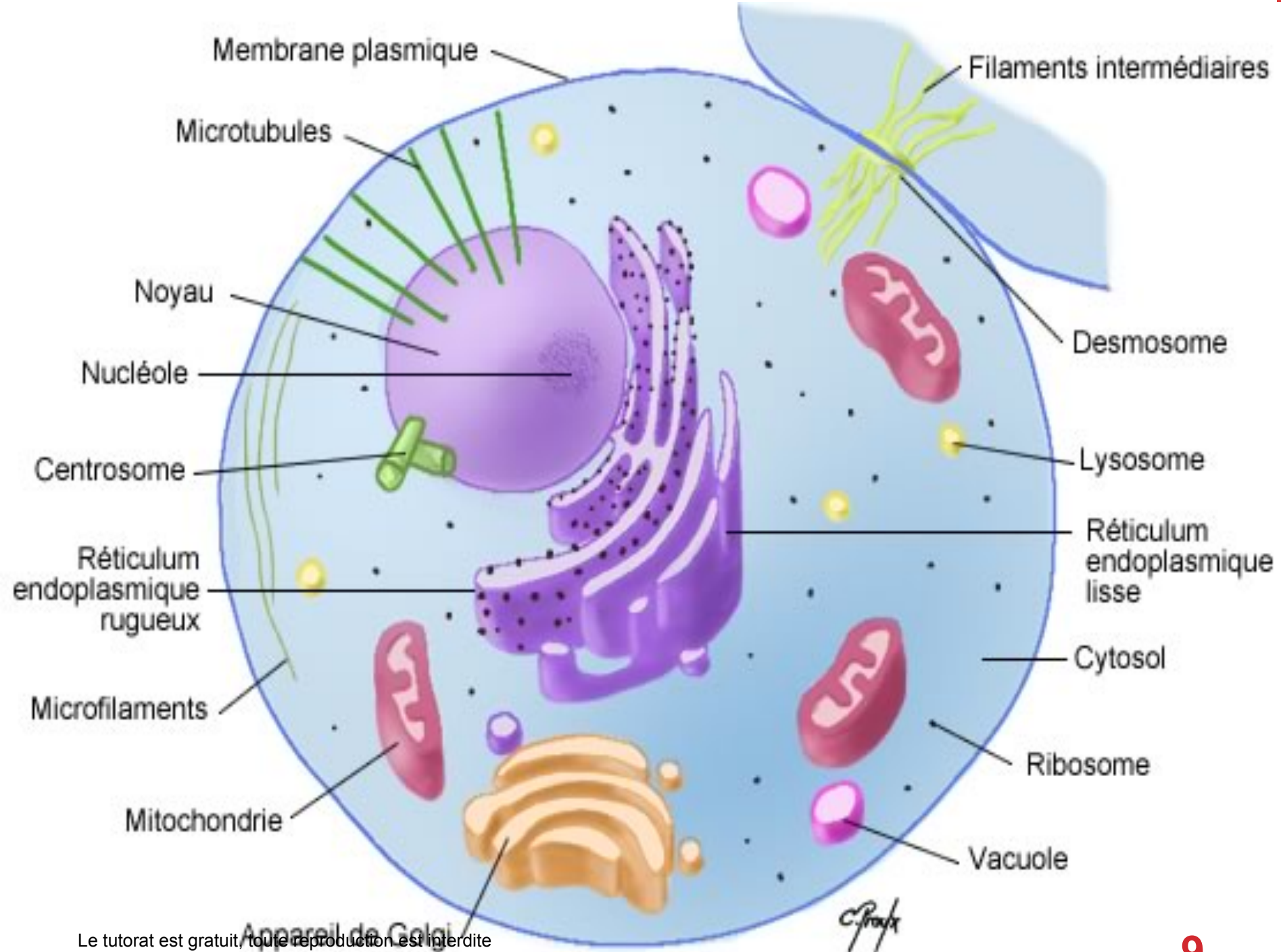
ADN
↓ *transcription*
ARN
↓ *traduction*
PROTÉINES



PROCARYOTE - EUKARYOTE



PROCARYOTE	EUKARYOTE
PAS DE NOYAU & PAS D'ORGANITES	ORGANITES dont NOYAU
Traduction co-transcriptionnelle	Traduction post-transcriptionnelle
Cellule de petite taille	Cellule de grande taille



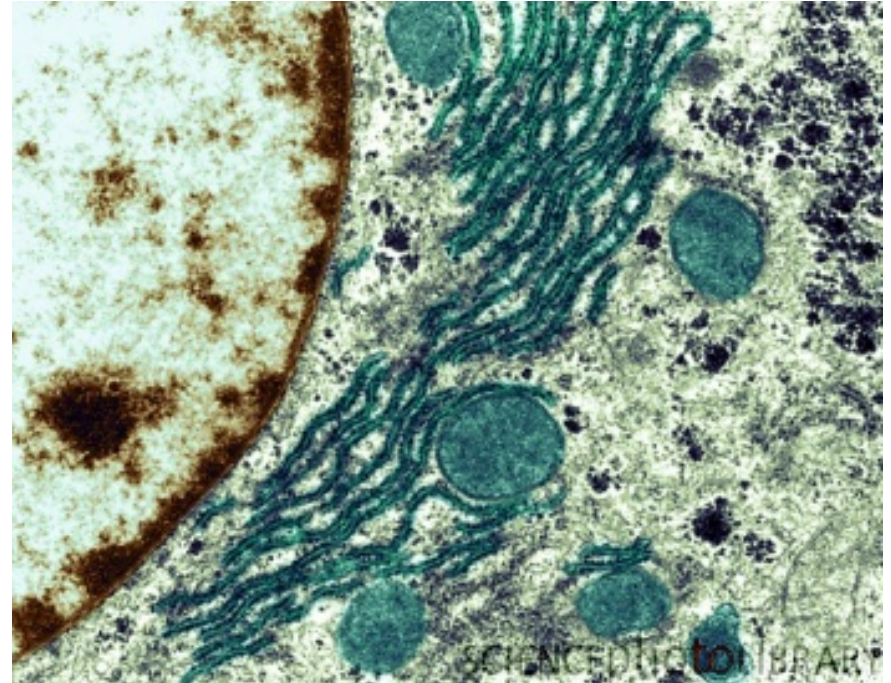
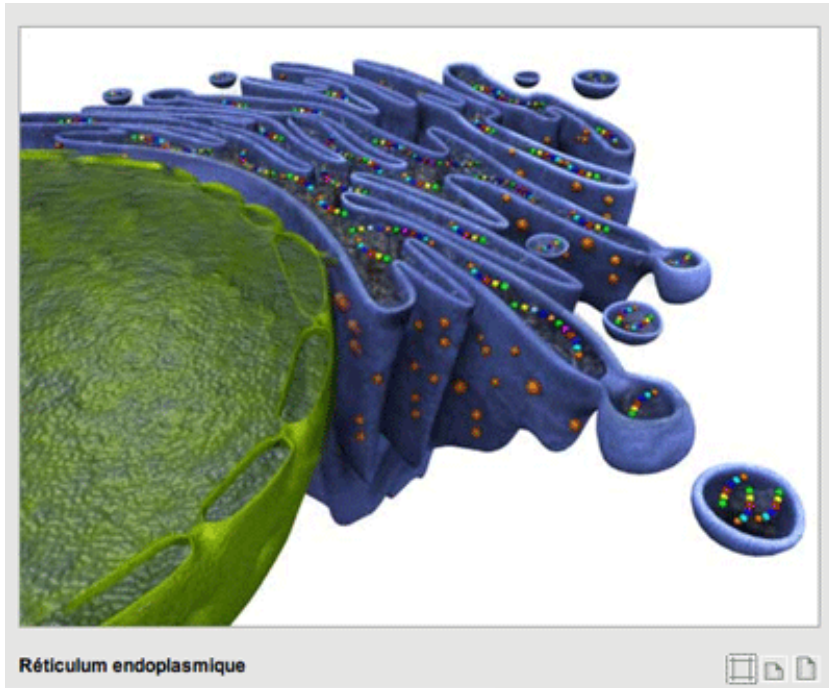
SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

- **Ensemble de cavités**
- **Systeme délimité par des membranes**
- **Communication entre cavités par vésicules membranaires**

SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE (RE)

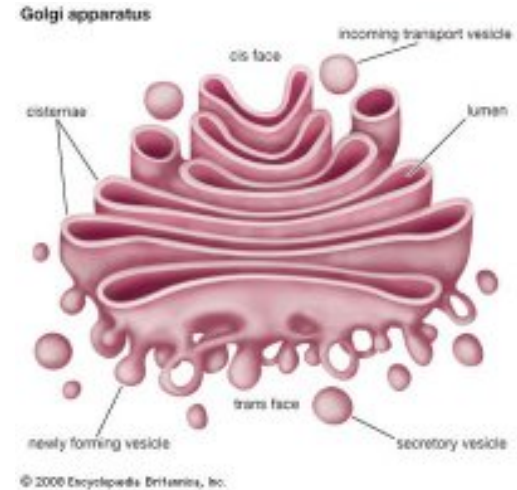
➤ Effectue la 1^{ère} modification des protéines



SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

APPAREIL DE GOLGI

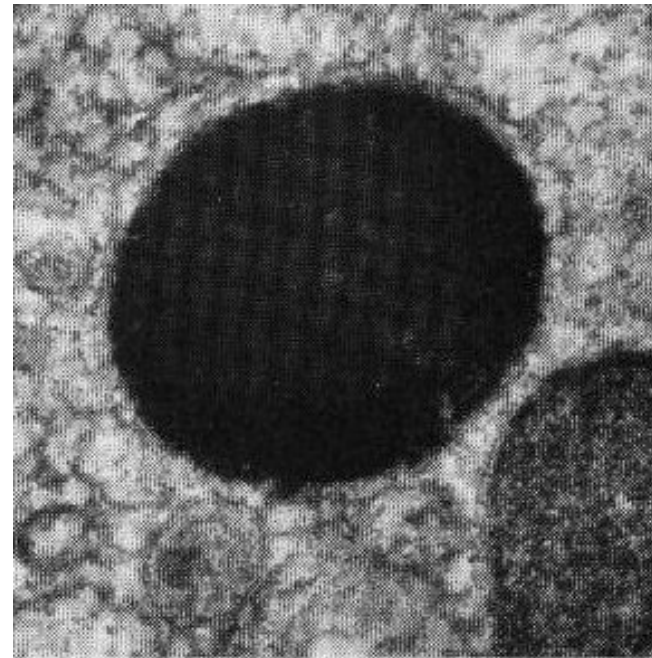
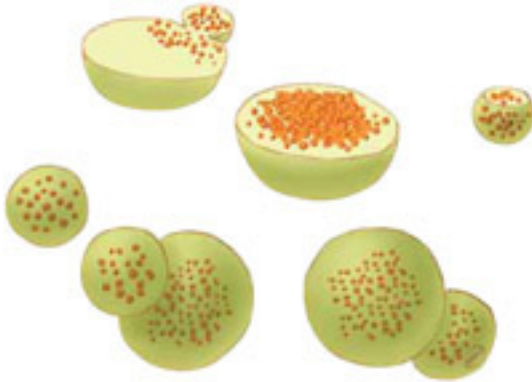
- 1 seul par cellule
- Composé de dictyosomes
- Rôle majeur dans l'exocytose
- Lien entre RE et membrane plasmatique
- Régule le transport vésiculaire
- Modifie les protéines (glycosylation, Sulfatation...)



SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

LYSOSOME

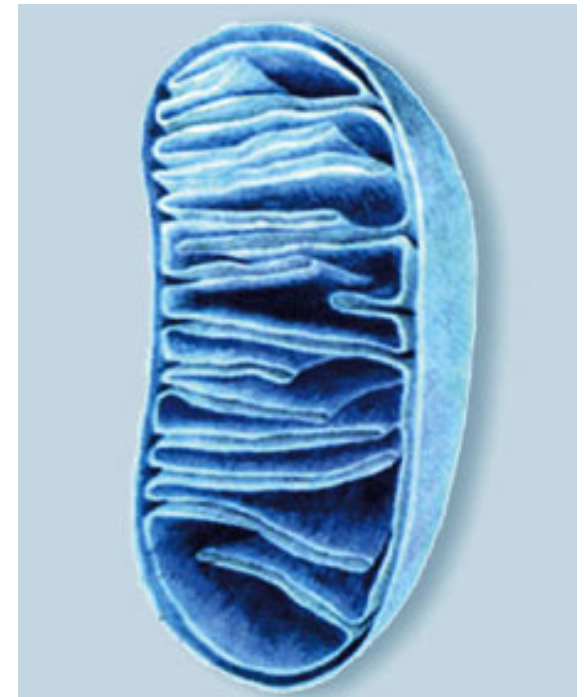
➤ Effectue la digestion intracellulaire



ORGANITES ISOLÉS

MITOCHONDRIE

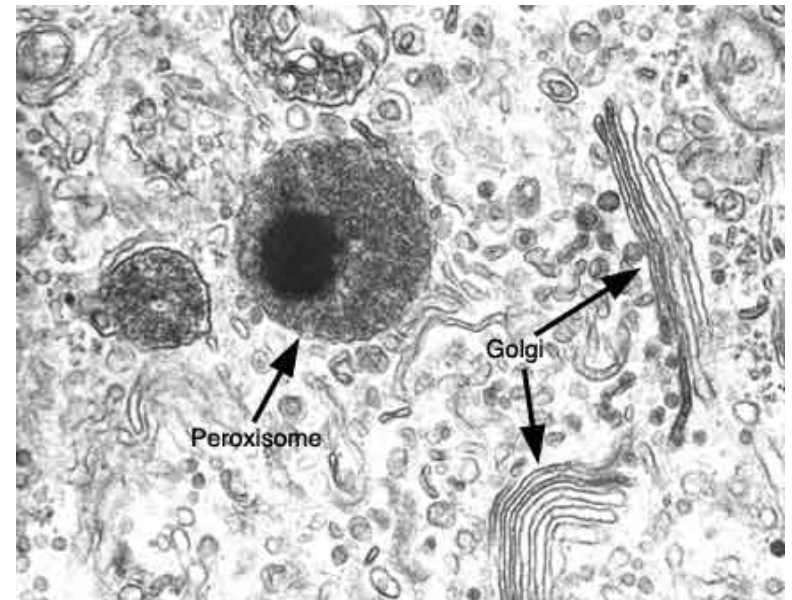
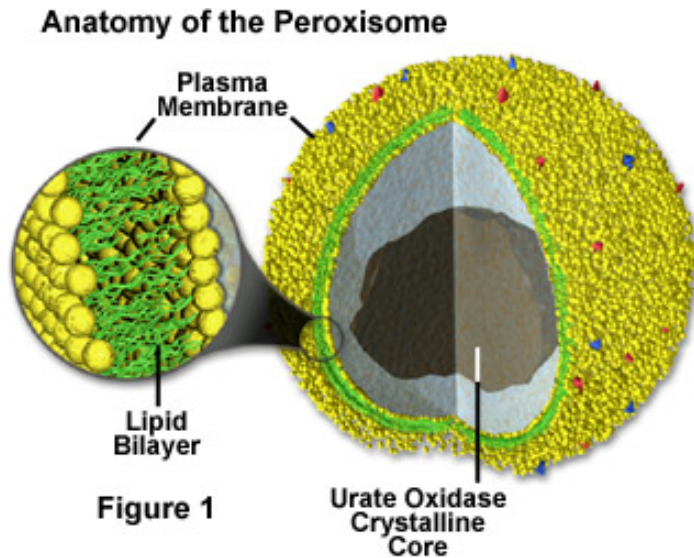
- **Source d'énergie principale de la cellule**
- **Produit l'ATP (adénosine triphosphate)**
- **Possède une partie de l'info génétique (ADN mitochondrial)**



ORGANITES ISOLÉS

PEROXYSONE

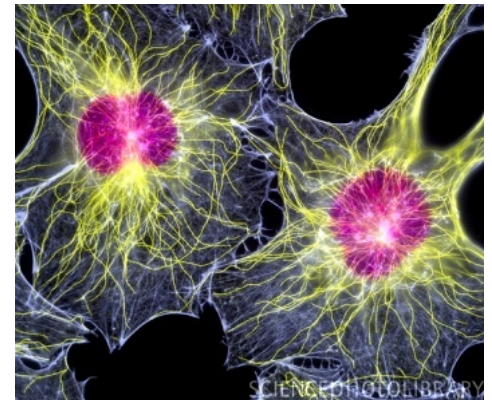
➤ Détoxication des cellules



CYTOSQUELETTE

- Polymères biologiques : **Microfilaments, Filaments Intermédiaires, Microtubules**
- Donne sa forme à la cellule
- Permet le déplacement des vésicules au sein de la cellule
- Permet le déplacement de la cellule dans son environnement
- Transmet les informations entre le milieu extracellulaire et le noyau

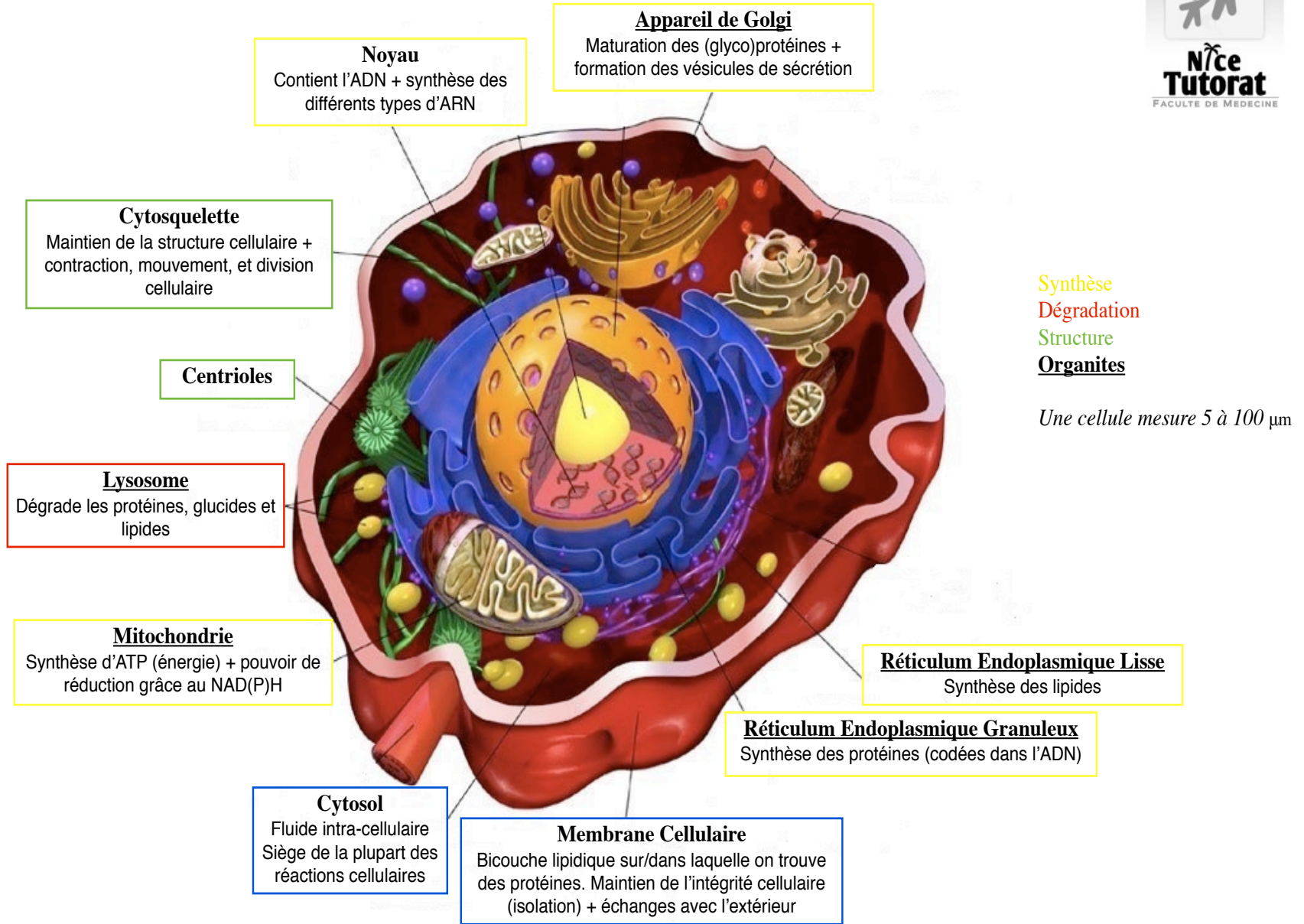
- Et pleins d'autres trucs super intéressants...



CYTOSOL

- Phase liquide de la cellule où baignent tous les organites
- ☒ Ce n'est pas un organite !

RAPPELS BIOLOGIE CELLULAIRE



ÉVOLUTION CELLULAIRE



- **Eu-bactéries (=bactéries)** (procaryotes)

- **Archae-bactéries** (procaryotes)



- **Eucaryotes**



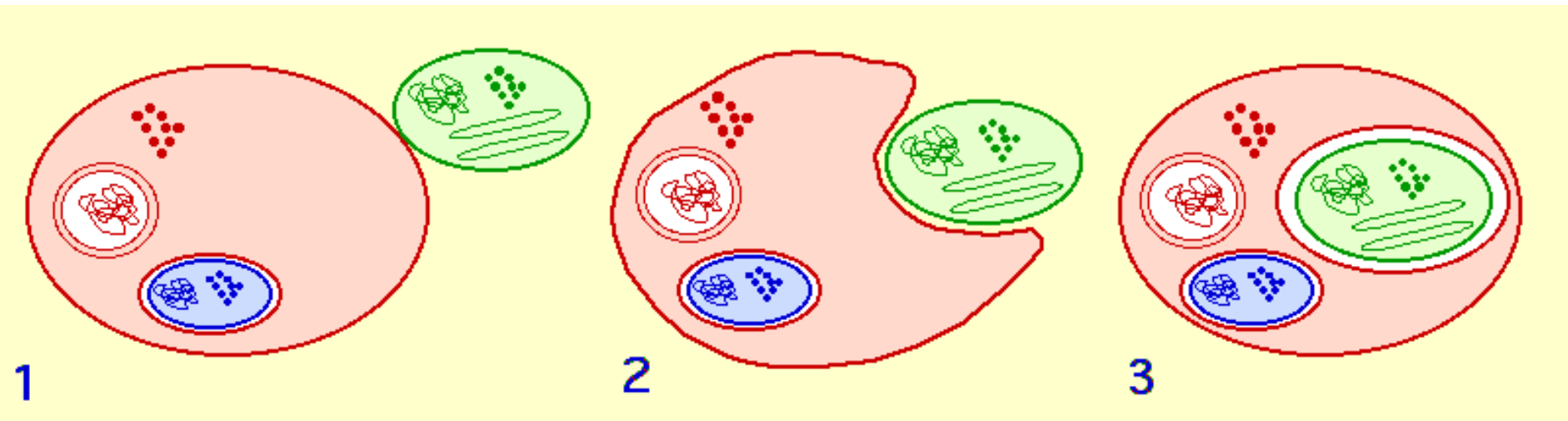
ARCHAE-BACTÉRIE



- Extrêmophile = pH acide, milieu soufré, température supérieure à 100°C
- Procaryote plus proche de l'eucaryote que de l'eu-bactérie
- Utilisée pour obtenir des enzymes thermostables pour la recherche génétique en médecine (PCR)
- Ancêtre commun aux trois groupes (eu-bactérie, archea, eucaryote) : LUCA

LES ORIGINES DES CELLULES

THÉORIE ENDOSYMBIOTIQUE



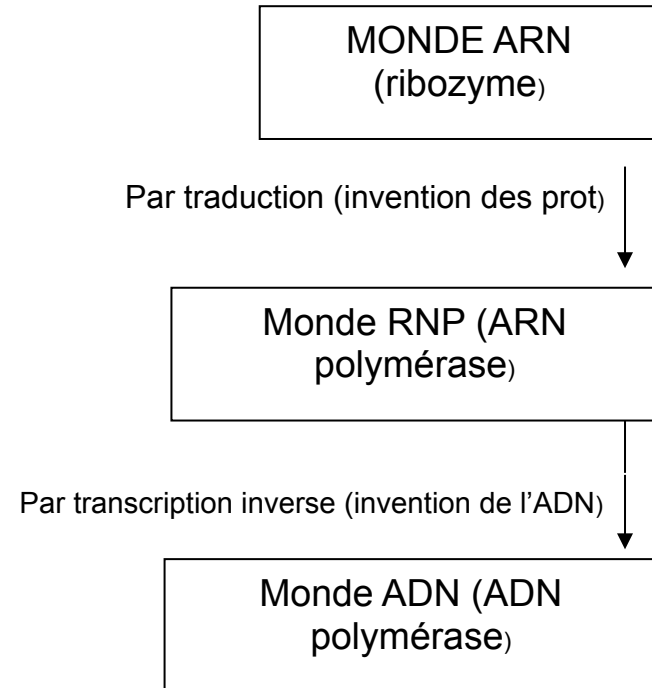
- Eucaryote viendrait de l'endocytose de la bactérie par l'archae
- Bactérie serait alors à l'origine de la **mitochondrie**

LES ORIGINES DES CELLULES



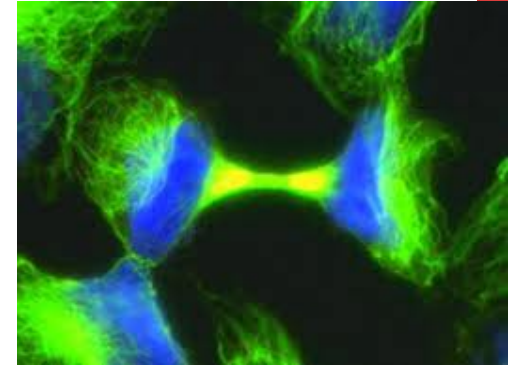
THÉORIE DU MONDE ARN

- D'abord l'**ARN** avec **ribozyme**
- Traduction → **Protéine**
- Transcription inverse → **ADN**

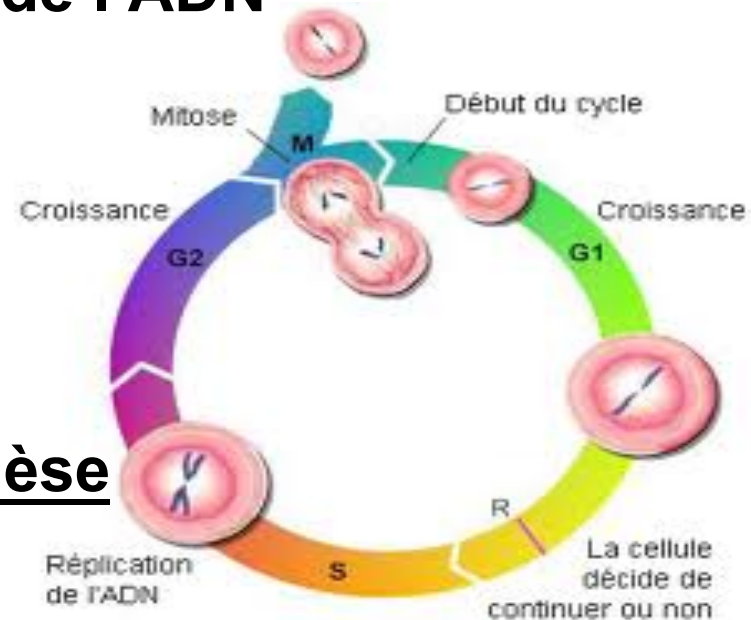


CYCLE CELLULAIRE

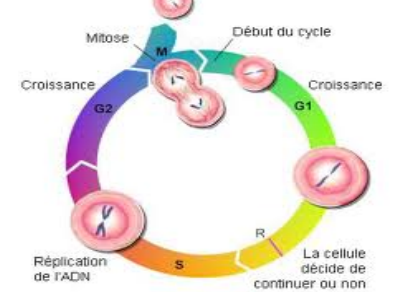
- Alternance de **Mitose** et d'interphase
- **G1** et **G2** sont des phases de croissance
- **S** est une phase réplication de l'ADN



- **M** = Caryocynèse + Cytocynèse



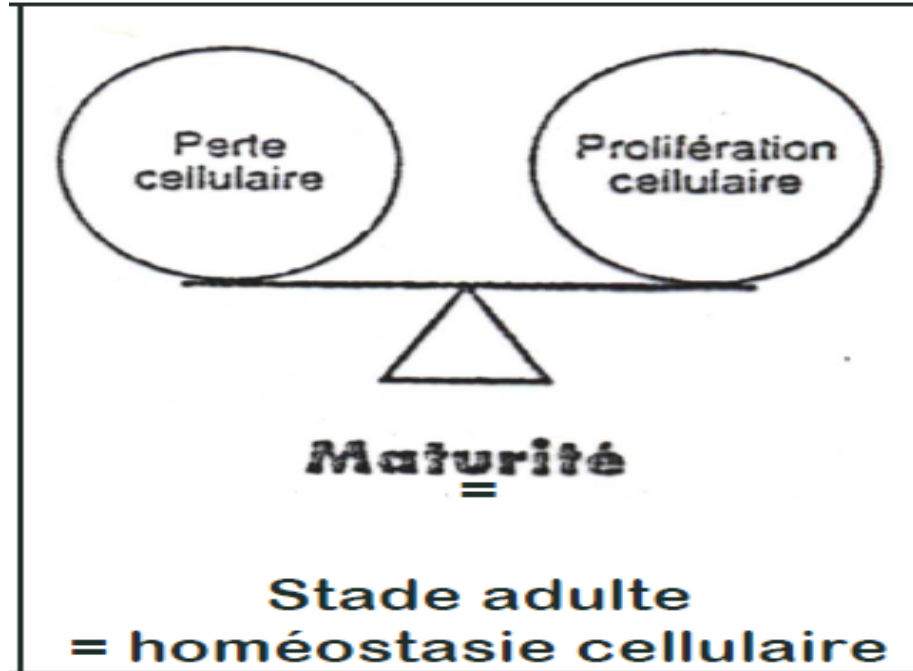
CYCLE CELLULAIRE



➤ Transcription et Traduction → pendant l'interphase !

- Cela parce que la **phase M** consomme énormément d'énergie
- Transition **G1-S** correspond au **Point Start**
- **Point Start** une fois franchi : départ du cycle irréversible
- Arrêt du cycle cellulaire → cellule en **G0** (quiescence ou sénescence)
- **LES CELLULES SÉNESCENTES SONT MÉTABOLIQUEMENT ACTIVES**

HOMÉOSTASIE



- Équilibre permettant de maintenir constant le nombre de cellules de l'organisme
- Rupture peut être due à 2 phénomènes :
 - Augmentation de la capacité de division des cellules
 - Diminution des processus d'apoptose, sénescence, différenciation

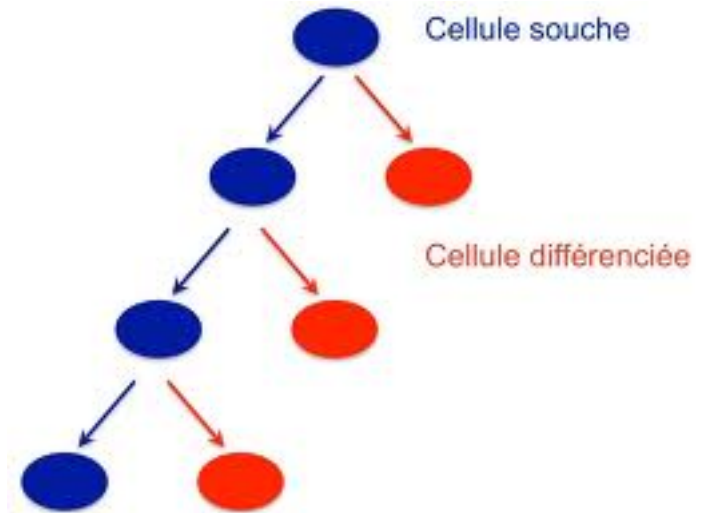
CELLULES SOUCHES

➤ Sont non différenciées

➤ Sont capables de se diviser

➤ Sont capables d'auto-renouvellement = division asymétrique

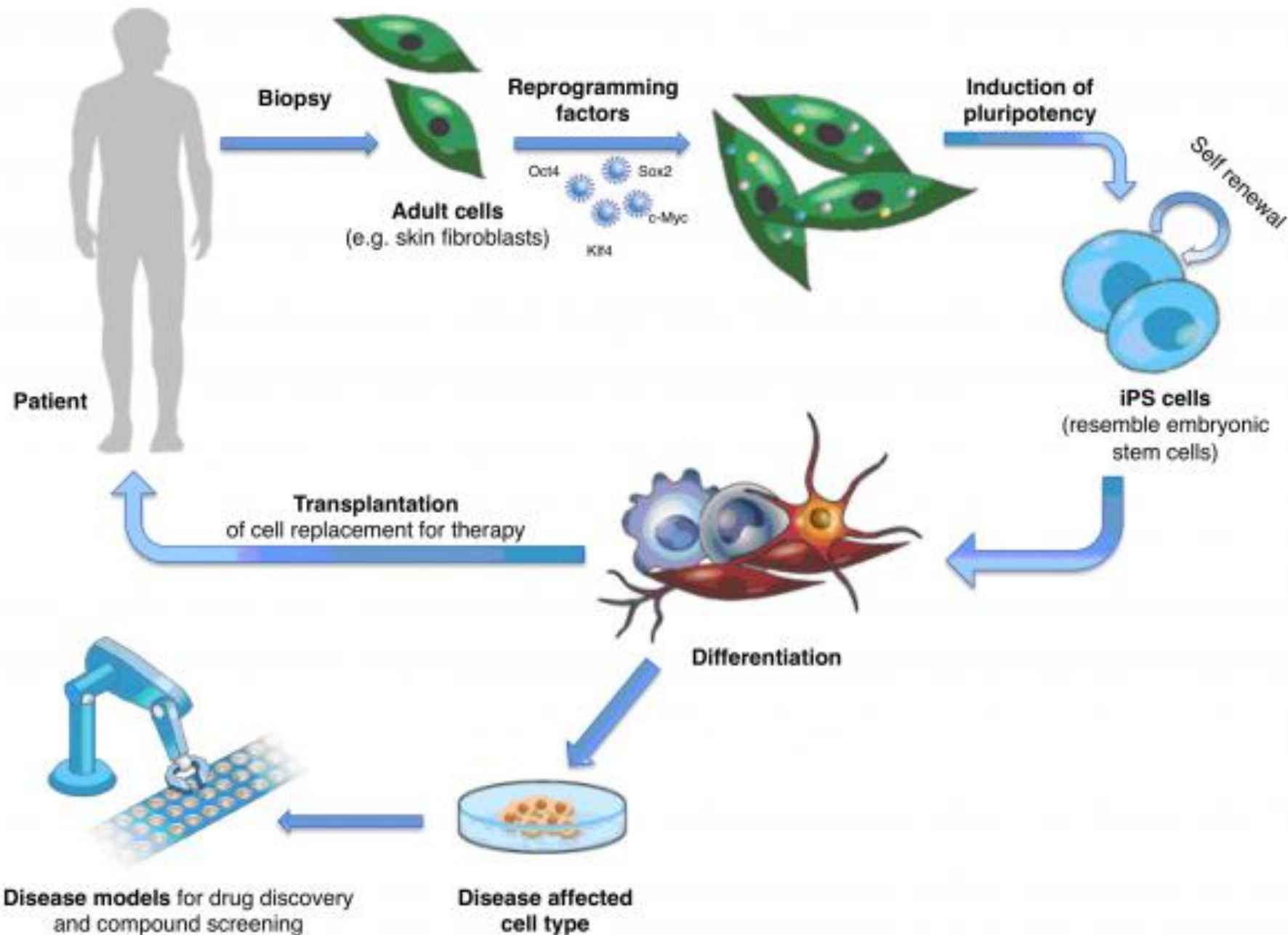
➤ Se différencient à la demande après réception de signaux



CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES (CSE)

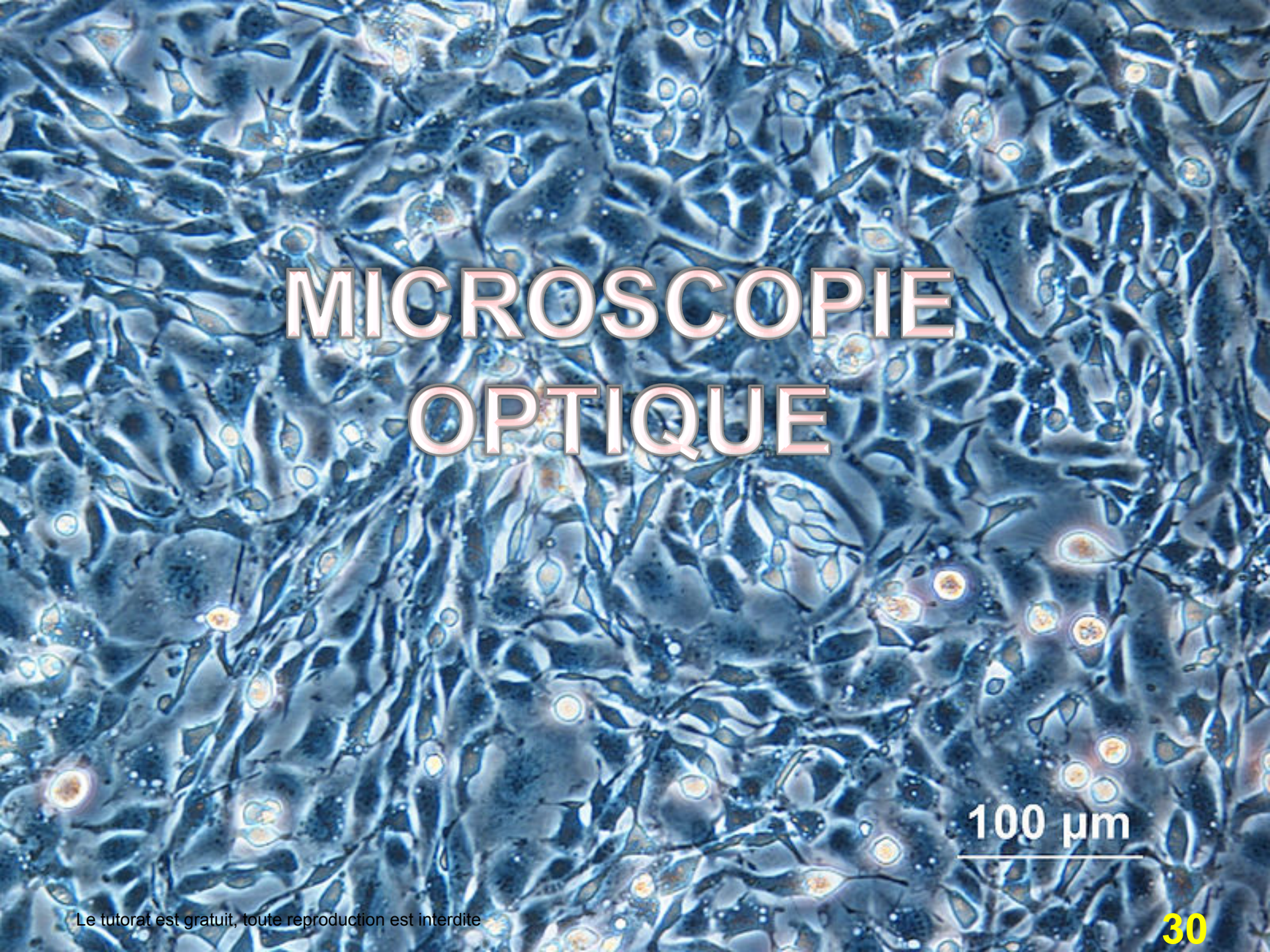
- *Petit rappel d'histo*
- CSE sont des cellules **pluripotentes** du stade blastocyste

AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
- Elles peuvent donner des cellules des 3 feuillets embryonnaires	- Problème éthique car on doit créer des embryons pour les obtenir



MÉTHODE D'OBSERVATION DE LA CELLULE

MICROSCOPIE OPTIQUE	MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE
<ul style="list-style-type: none">- Résolution maximale : <u>200 nm</u>- Cellules vivantes- Adaptée à l'observation des <u>cellules</u>	<ul style="list-style-type: none">- Résolution maximale : <u>0,2 nm</u>- Cellules mortes (1 exception)- Adaptée à l'observation des <u>molécules</u>

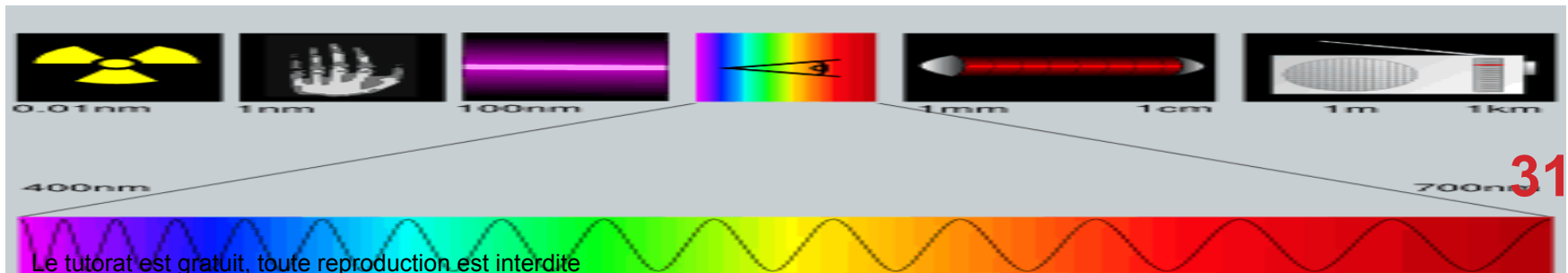


MICROSCOPIE OPTIQUE

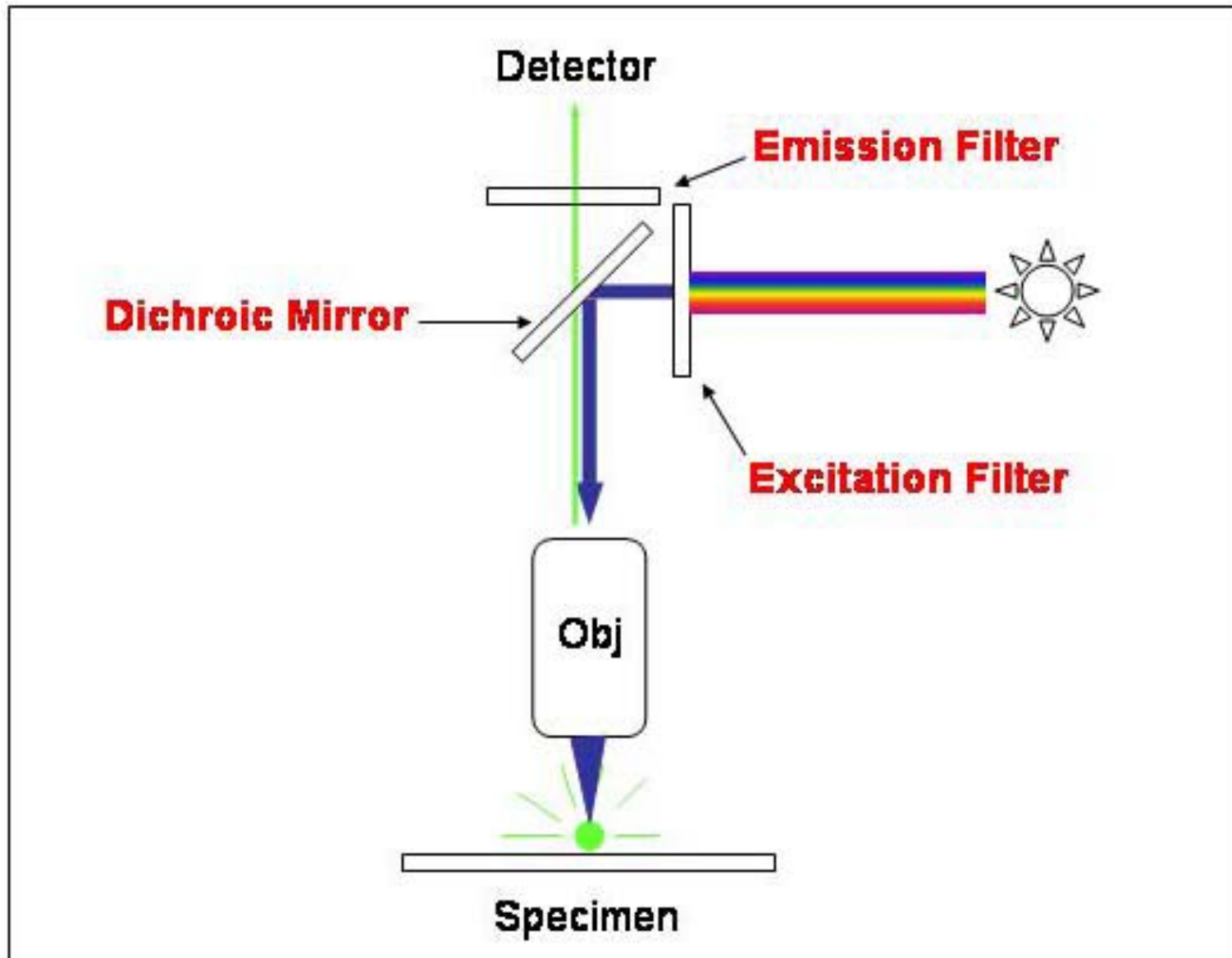
100 μm

FLUORESCENCE

- Capacité intrinsèque des molécules à absorber une lumière et à la réémettre spontanément
- Molécules fluorescentes = FLUOROCHROMES
- L'énergie de la lumière d'absorption (=d'excitation) est supérieure à celle de la lumière réémise
- Or, on a la formule suivant : $E=1240/\lambda$ ce qui signifie que la longueur d'onde est inversement proportionnelle à l'énergie
- **DONC** : la longueur d'onde de la lumière absorbée est inférieure à celle réémise



PRINCIPE D'OBSERVATION

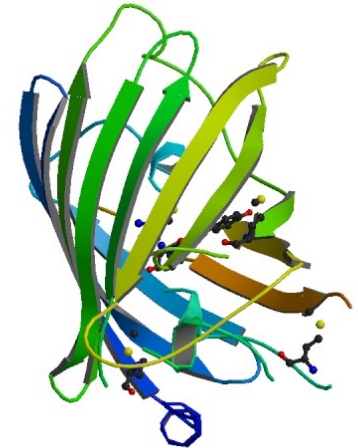


A fluorescence microscopy image showing a network of cells. The cytoskeleton is stained red, forming a dense web of filaments. Nuclei are stained blue, and several organelles, likely mitochondria, are stained green. The overall appearance is that of a complex, interconnected cellular structure.

LES FLUOROCHROMES

LA GFP

- **GFP = molécule naturelle et protéique**
- **Identifiée chez la méduse**
- **Forme de tonneau → triade d'acides aminés = CHROMOPHORE**
- **Excitée (ou absorbe) par le **BLEU** et émet dans le **VERT****
- **UNIVERSELLE = garde ses propriétés intrinsèques de fluorescences dans toutes les cellules où on l'incorpore**





LES « AMIS » DE LA GFP

🍏 RHODAMINE = absorbe dans le **VERT** et émet dans le **ROUGE**

🍏 FITC = fluorescéine = même propriétés que |
GFP = absorbe dans le **BLEU** et émet dans
le **VERT**



INTRODUIRE LA GFP DANS LA CELLULE



LA MICRO-INJECTION

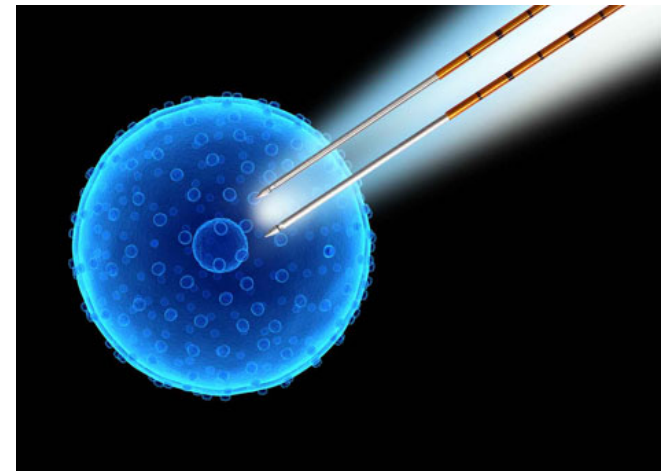
- Méthode longue et fastidieuse
- Injecter directement le fluorochrome dans la cellule grâce à une micro-pipette
- Cellule traitée individuellement





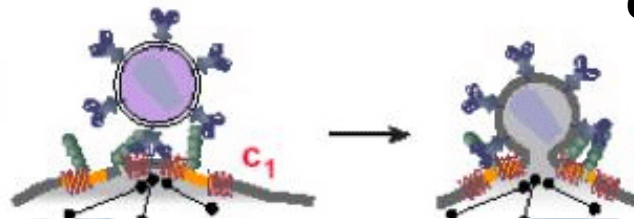
ELECTROPORATION

- **Présence d'un champ électrique sur les cellules**
- **Apparition de pores sur la membrane**
- **Fluorochromes entrent dans la cellule**
- **Régénération spontanée de la membrane cellulaire**
- **Technique traumatisante**



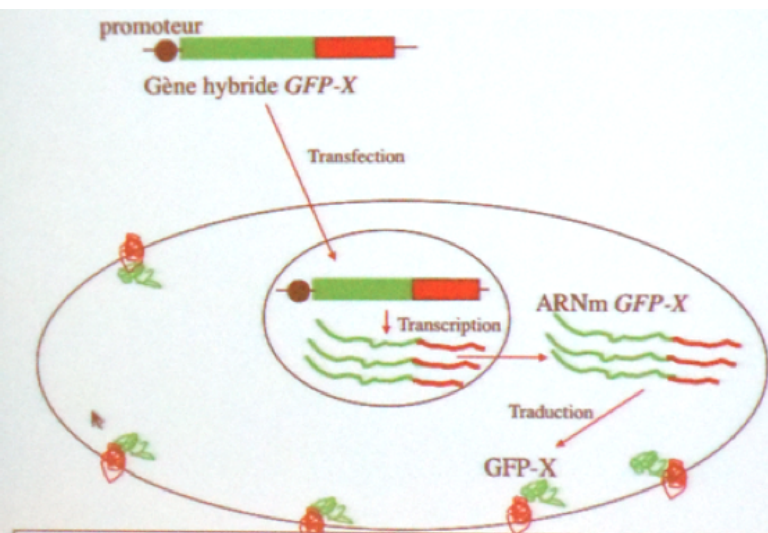
VECTORISATION PAR VÉSICULES

- Méthode la plus **douce** et la plus **naturelle**
- **Encapsulation** des **fluorochromes** dans des vésicules lipidiques
- **Fusion** des vésicules avec la cellule → contenu déversé dans le cytosol



- **PROBLÈME** : introduire nouvelles molécules dans la cellule = biaiser le fonctionnement normal = observations réelles ou dues à un phénomène artificiel ?

EXPRESSION D'UN GÈNE CODANT POUR UNE PROTÉINE FLUORESCENTE



- Permettre la transcription de la **GFP**
- La coupler avec le gène de la protéine à observer
- Gène hybride → Prot hybride
- On peut alors suivre le trajet de la prot

LE PROBLÈME ÉPINEUX DU SUGGÈRE/DÉMONTRE

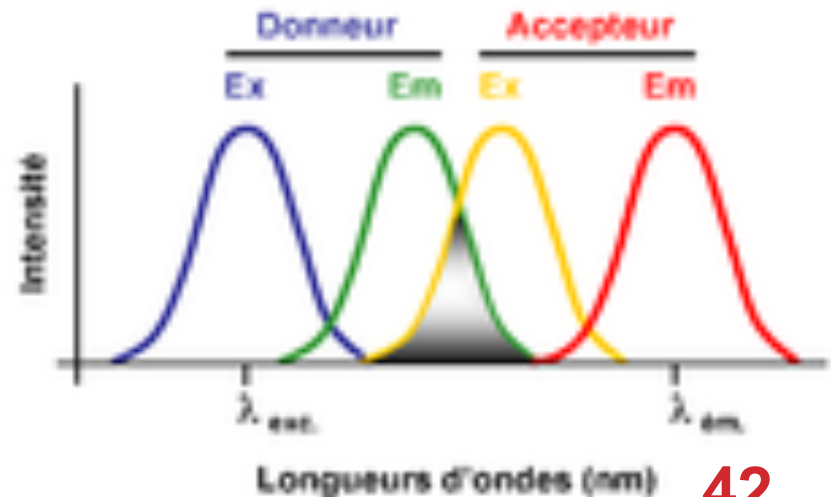
A fluorescence microscopy image showing a network of cells. The nuclei are stained blue, and the cytoplasm or other cellular structures are stained green. The background is dark, making the fluorescent structures stand out. The text 'Applications de la fluorescence' is overlaid in the center in a large, white, outlined font.

Applications de la fluorescence

LE FRET

- Étudie la configuration spatiale de :
 - ✧ Complexes protéiques = intermoléculaire
 - ✧ Molécules = intramoléculaire
- Principe du FRET :
 - Lumière d'excitation excite un **1^{er} fluorochrome**
 - **1^{er} fluo.** Renvoie une radiation (E inférieur)
 - **Transfert non radiatif** entre **1^{er}** et **2nd fluo.**
 - **2nd fluo.** excité envoie alors la fluorescence qu'on aperçoit au microscope

- Conditions pour le FRET :
 - ❖ Distance entre les 2 fluo. **inférieure à 10 nm**
 - ❖ Les spectres des 2 fluo. doivent se **chevaucher** au moins partiellement



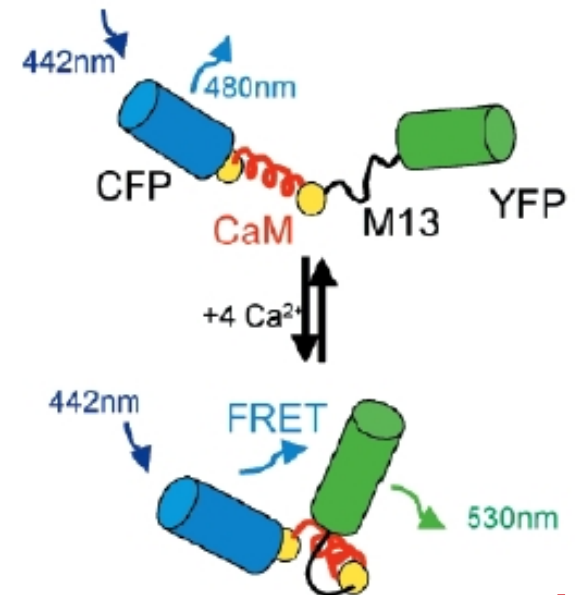
APPLICATION AU FRET

➤ Intermoléculaire

- Voir si 2 protéines de la cellule sont proches et interagissent
- Exemple : 1 prot-GFP + 1 prot-Rhodamine

➤ Intramoléculaire

- Étudier la **conformation spatiale** d'une molécule
- Conformation étendue ou rapprochée
- Exemple : **calmoduline**





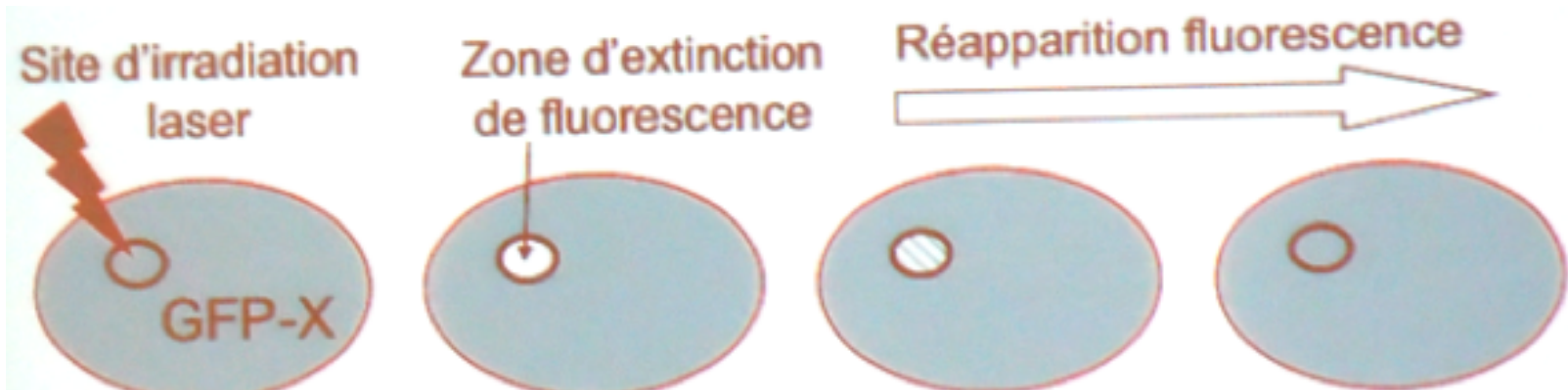
LE FRAP

« tu frappes et t'observes »

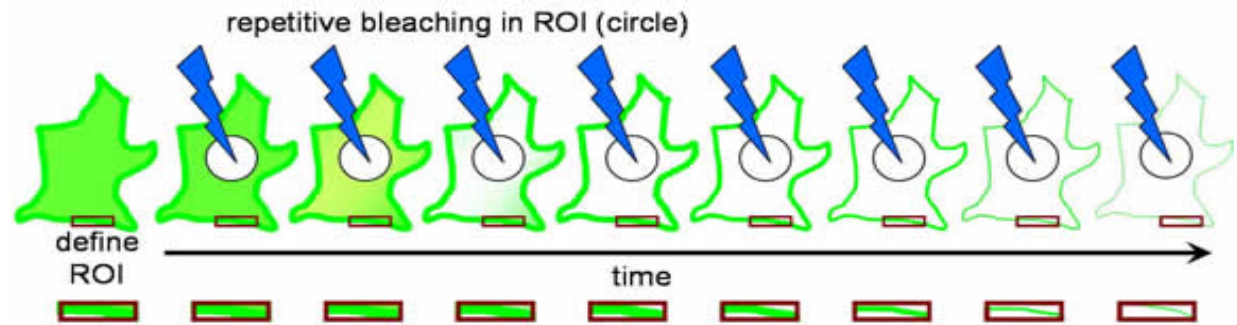


On irradie la cellule temporairement

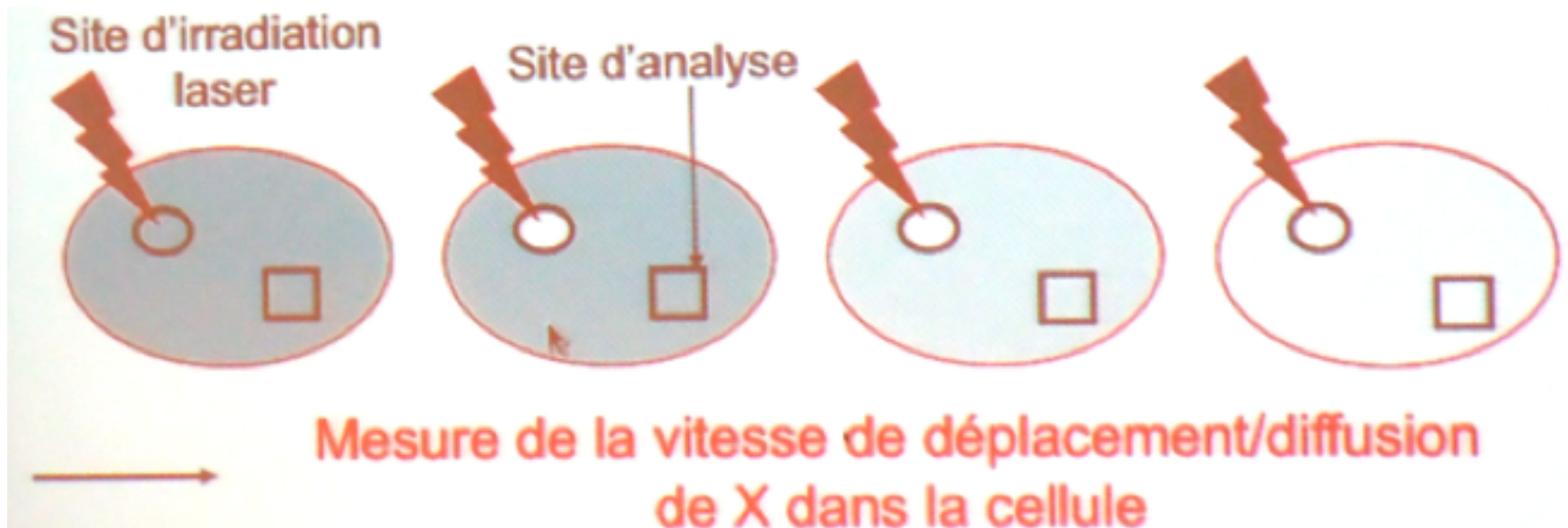
- On observe la réapparition de la fluorescence au MÊME ENDROIT
- On observe la dynamique des fluorochromes
- Application: étude de la dynamique des protéines membranaires

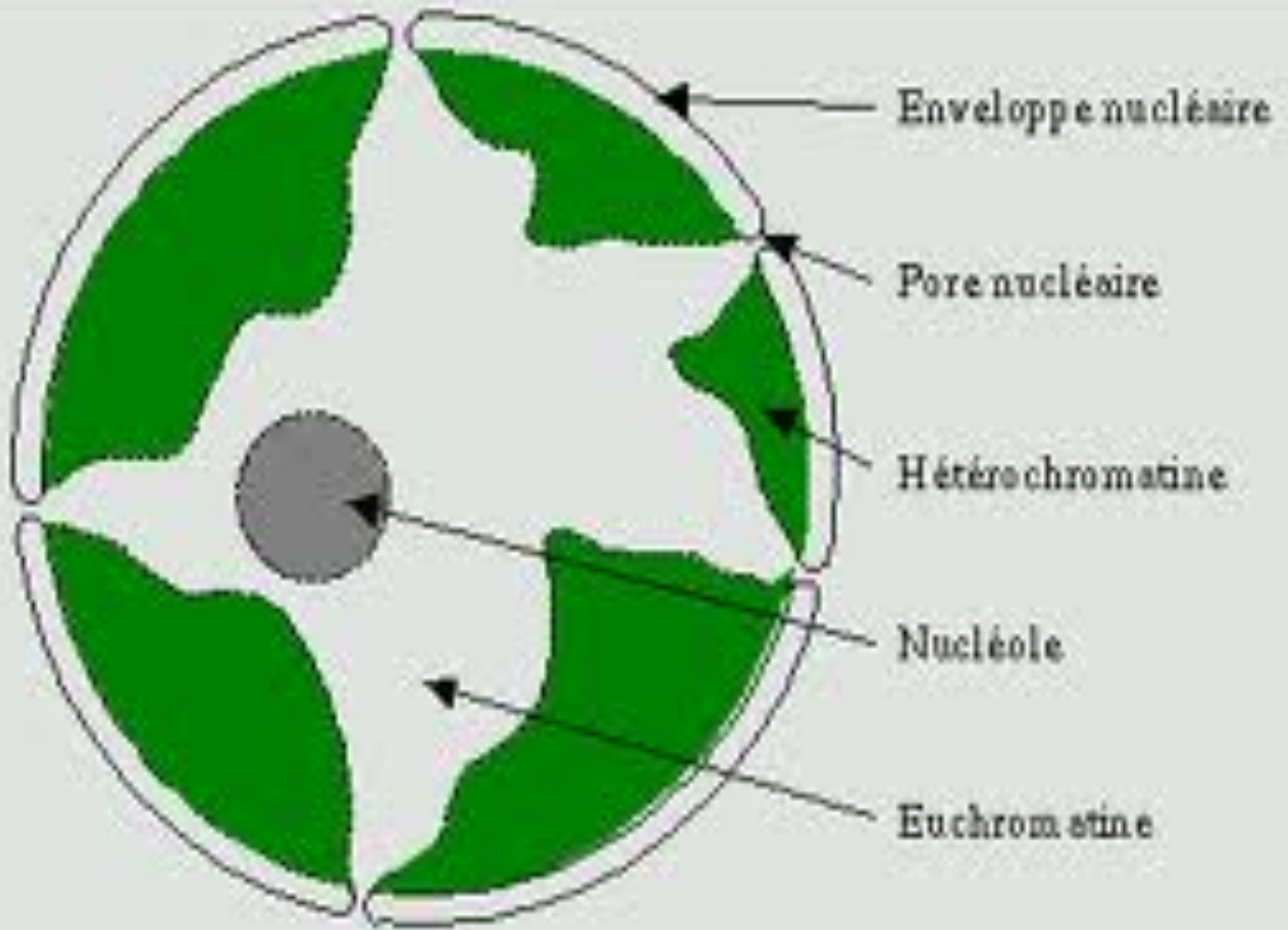


LE FLIP



- On irradie la cellule **EN CONTINU** par le laser
- On étudie une zone **différente** de la zone photoblanchie
- On étudie la **PERTE** de fluorescence
- On étudie la **VITESSE de déplacement** des molécules fluorescentes



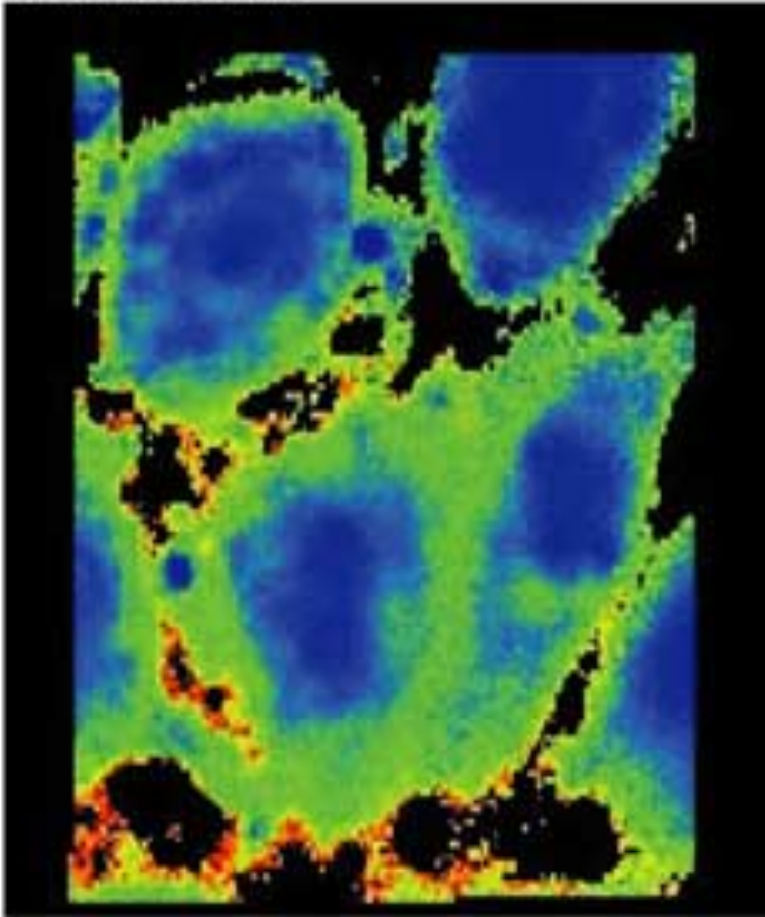


Low Ca^{2+}

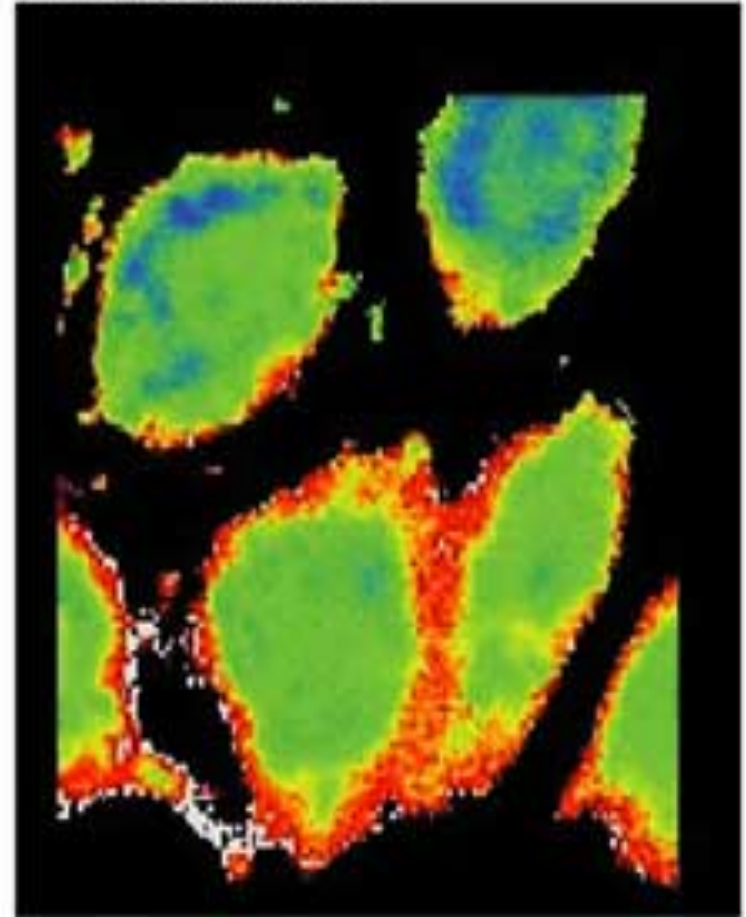


High Ca^{2+}

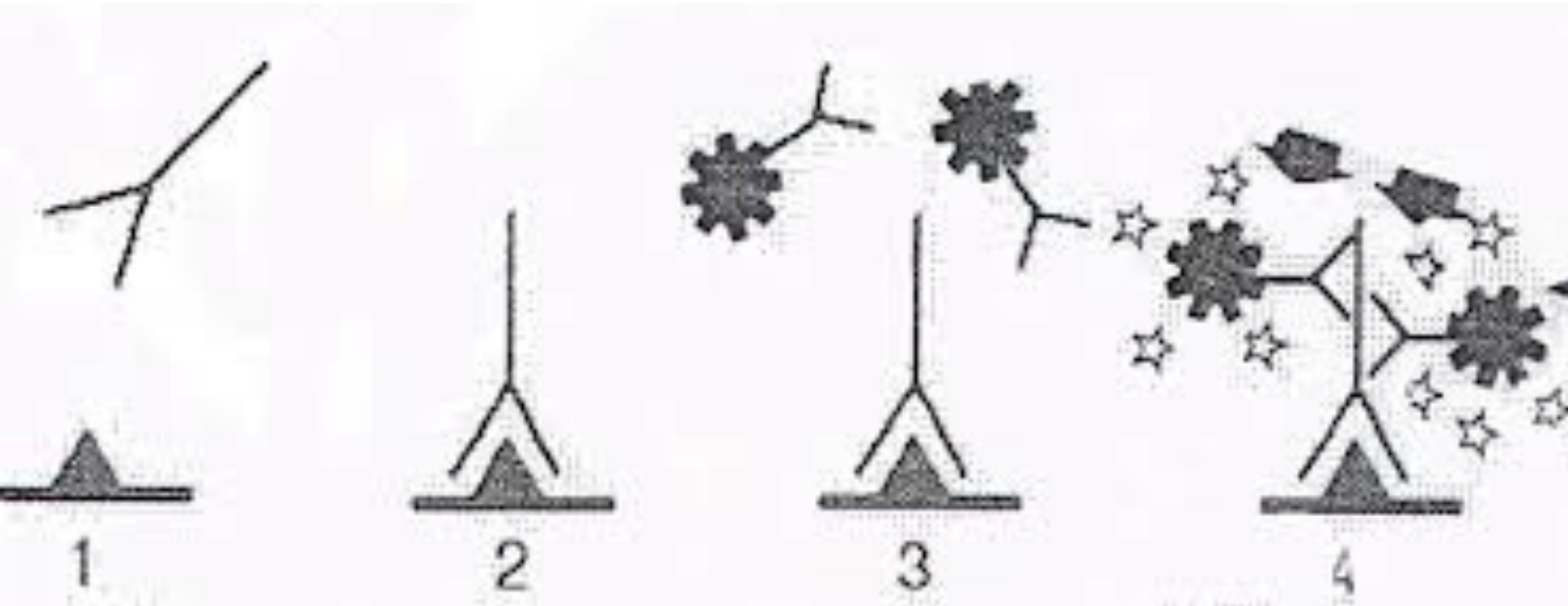
Before aldosterone



5 min after aldosterone



IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE



- 2 Ac primaires et les 2 Ac secondaires proviennent de deux espèces animales différentes

ET

- Les fluorochromes ont des longueurs d'onde d'émission différentes

ILLUSTRATION :

CONCOURS 2010-2011

Question N° 8 Des expériences de double immunofluorescence ont été conduites avec des anticorps primaires de lapin dirigés contre la protéine Actine, et des anticorps primaires de chèvre dirigés contre la protéine lamine B. Inscire la (ou les) proposition(s) appropriée(s) pour visualiser séparément dans les mêmes cellules les deux anticorps primaires en choisissant la lettre correspondante :

- 1- anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine;
- 2- anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine;
- 3- anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de chèvre couplés à la fluorescéine;
- 4- anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de souris anti-immunoglobuline de chèvre couplés à la fluorescéine ;
- 5- anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris couplés à la rhodamine.

A : 3,4,5

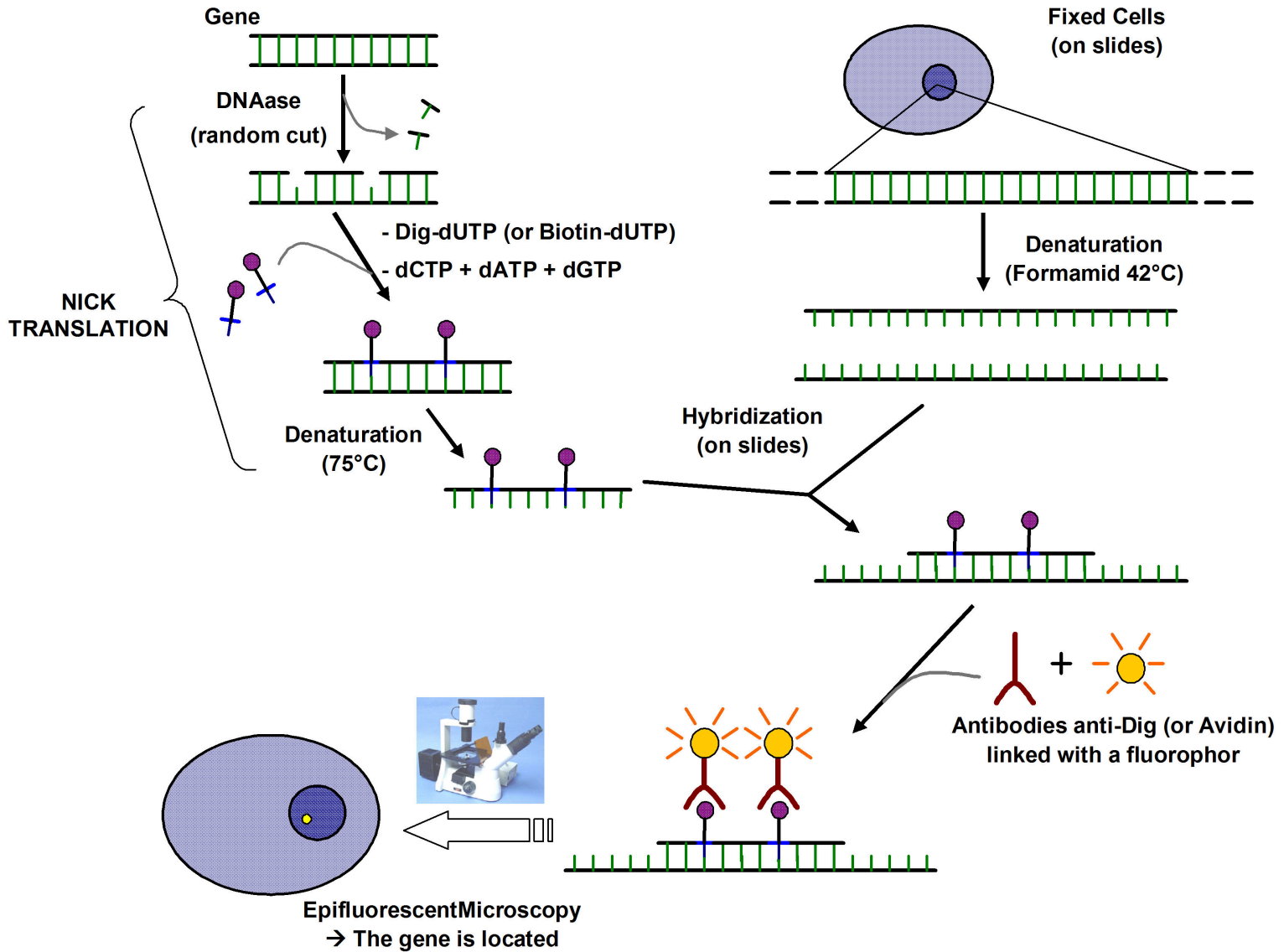
B : 4,5

C : 4

D : 5

E : 1,2,4

FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)



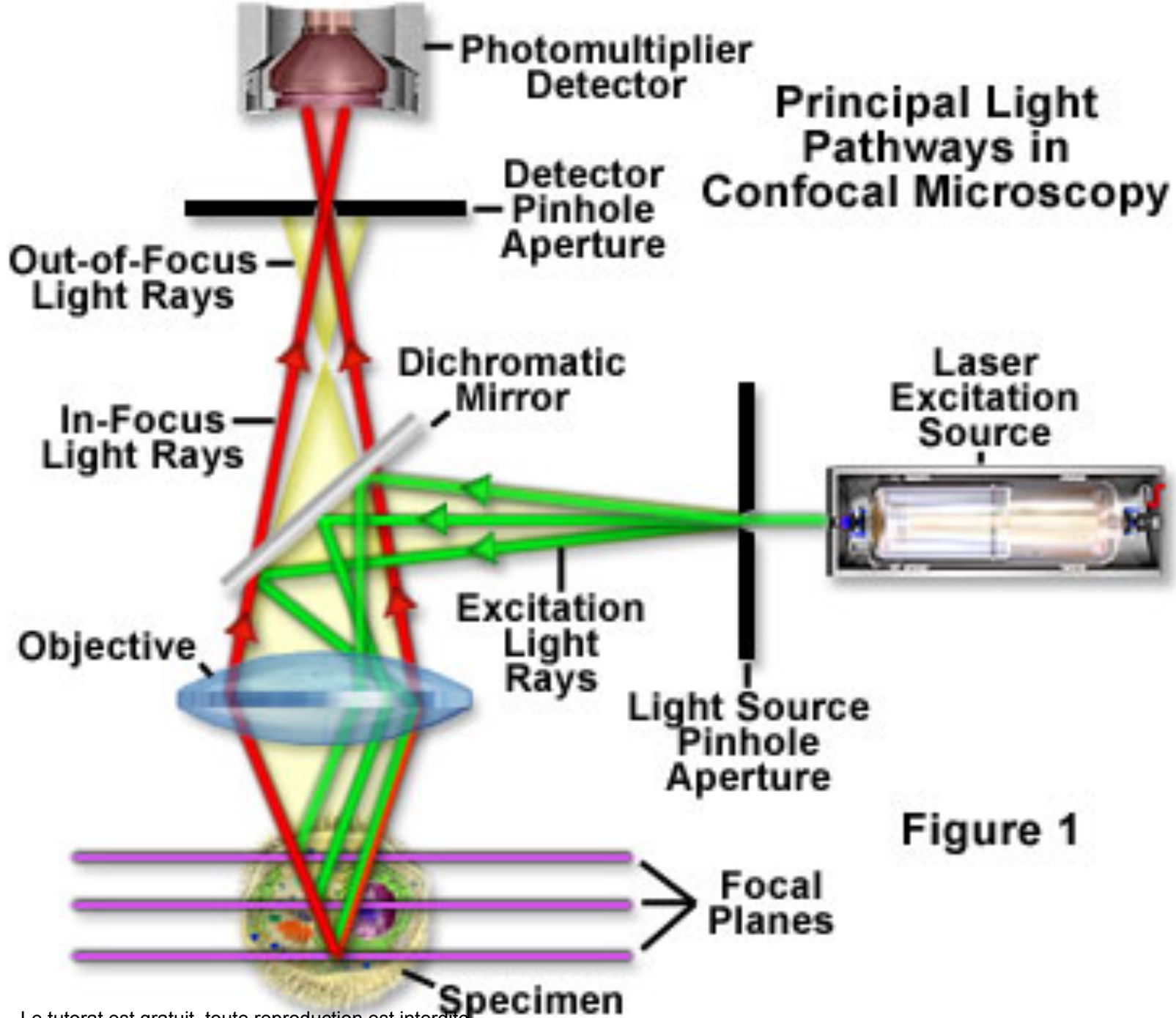
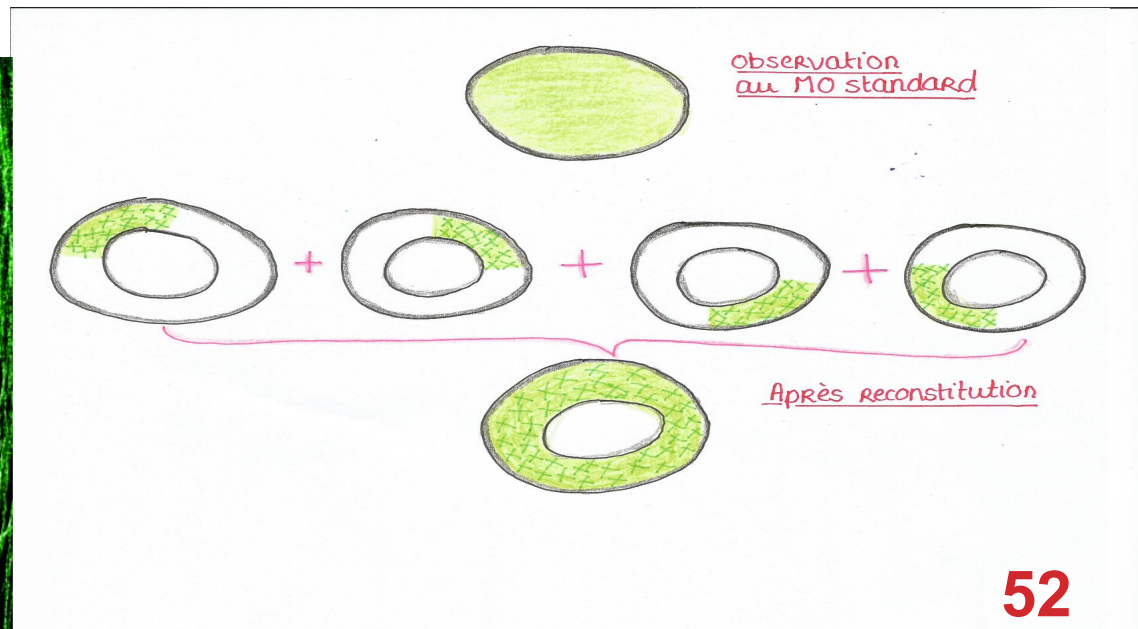
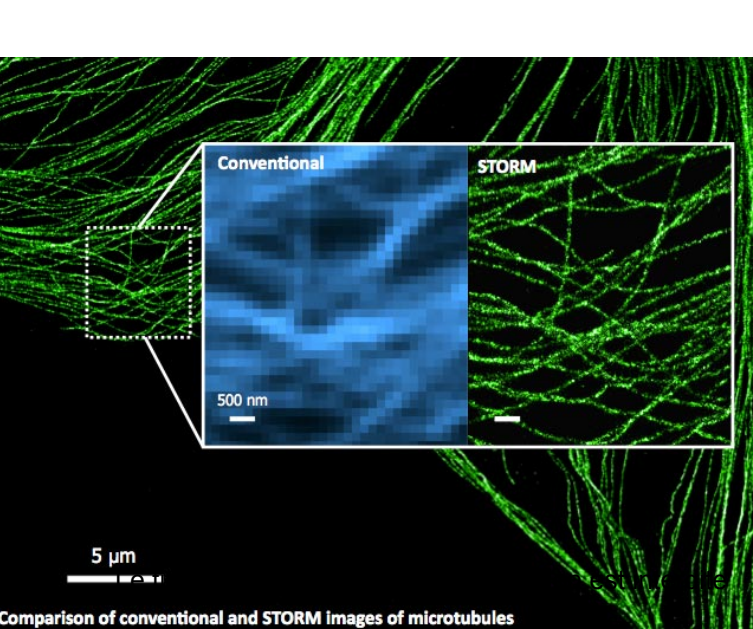


Figure 1



MICRO-SCOPIE À SUPER RÉSOLUTION

- Distance de résolution due aux propriétés de diffraction d'une onde empêche de distinguer deux points vraiment proches
- Principe : allumer les fluorochromes dans la cellule successivement selon leur localisation



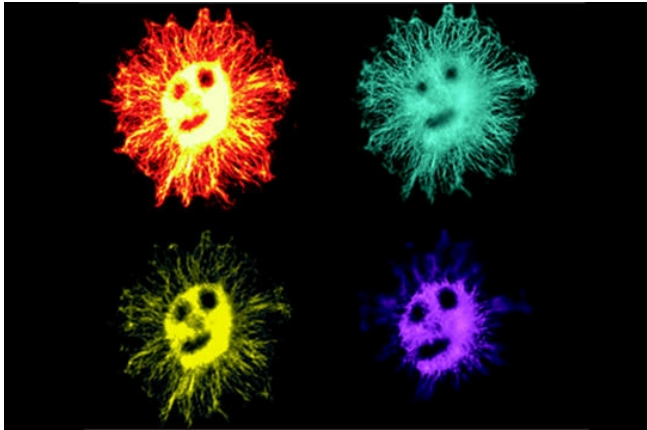
CONTRASTE DE PHASE



- Permet de visualiser les cellules en augmentant le déphasage entre la lumière incidente et la lumière émise
- On utilise les propriétés de **réfraction de la cellule**

INCONVENIENT	AVANTAGES
<ul style="list-style-type: none">- Perte de brillance et de luminosité	<ul style="list-style-type: none">- Image contrastée- Cellule vivante- Microscopie time lapse

MERCI À TOUS ! VOUS ÊTES LIBRES ☺



Choubi (C1)

Bittoucell (C1)

-Alexis (C2)

Mika (C2)



LA BIOCELL : C'EST LA VIE

Bonnes révisions...

Car en P1 : on apprend qu'une fois, mais on révisé 100 fois

Tutoresquement vôtre



LA MINUTE QCM



TUT' BIOCELL 2012-2013

QCM 1 = LA CELLULE

- A. Le REG (réticulum endoplasmique granuleux) est impliqué dans la synthèse des lipides**
- B. Le cytosquelette permet le déplacement des vésicules au sein de la cellule**
- C. Le cytosol est la phase liquide où baignent les organites dont il fait parti**
- D. Le peroxysome effectue la digestion intracellulaire**
- E. Aucune réponse n'est exacte**

QCM 1 = LA CELLULE

A. FAUX. REG est impliqué dans la modification des protéines

B. VRAI

C. FAUX, le cytosol n'est PAS un organite !

**D. FAUX, il s'agit de la définition du lysosome.
Le peroxysome est impliqué dans la
détoxification de la cellule**

E. FAUX

REPONSE B !!!! 😊

QCM 2: LA CELLULE, TOUJOURS ELLE !

- A. L'appareil de golgi est composé de saccules empilés en dictyosomes**
- B. Au microscope, il n'est pas rare d'observer plusieurs RE par cellule**
- C. L'ADP est la source principale d'énergie de la cellule**
- D. Le noyau possède des pores pour laisser sortir l'ARN**
- E. Aucune de ces réponses n'est exacte**

QCM 2: LA CELLULE, TOUJOURS ELLE !

- A. FAUX!** La cellule possède un appareil de Golgi formé de dictyosomes empilés en saccules!
- B. VRAI**, c'est le golgi qui est unique dans la cellule
- C. FAUX**, ATP et non ADP (voir la bioch)
- D. VRAI**
- E. FAUX**

REPONSE B & D

QCM 3:

- A. Les protéines seraient, d'après la théorie endosymbiotique, apparues avant l'ADN**
- B. Les eucaryotes sont toujours pluricellulaires**
- C. La levure est une bactérie saprophyte (= non pathogène)**
- D. Dans n'importe quelle cellule, la traduction s'effectue après la transcription**
- E. Aucune de ces réponses n'est exacte**

QCM 3

- A. FAUX.. Tout est vrai sauf qu'il s'agit de la théorie du monde ARN
- B. FAUX. Les eucaryotes peuvent être aussi unicellulaires (ex levures)
- C. FAUX. Les levures ne sont pas des bactéries !
- D. FAUX. Chez les procaryotes, la traduction est co-transcriptionnelle !
- E. Bah VRAI 😊

RÉPONSE E

QCM 4: LE CYCLE CELLULAIRE

- A. Pendant la phase S, j'observe la duplication de l'ADN**
- B. La division du noyau est appelée caryocynèse**
- C. La mitose s'effectue pendant l'interphase**
- D. En G1, je peux observer des chromosomes à une chromatide**
- E. Aucune de ces réponses n'est exacte**

QCM 4: LE CYCLE CELLULAIRE

A. FAUX. J'observe la réplication de l'ADN & la duplication des CHROMOSOMES !

B. VRAI (mémo = Caryos = noyau en grec)

C. FAUX. Et c'est plutôt n'importe quoi ! La mitose et l'interphase constituent le cycle cellulaire. L'interphase est elle même composée de G1, S & G2

D. VRAI

E. FAUX

RÉPONSE B & D

QCM 5: LE FRET

- A. Le FRET intermoléculaire permet d'observer des complexes protéiques**
- B. Le FRET est un transfert radiatif entre le premier et le deuxième fluorochrome**
- C. Si j'utilise la GFP et la fluorescéine, j'observerai uniquement une fluorescence verte**
- D. Une des condition du FRET est une distance inférieure à 10 nm**
- E. Aucune de ces propositions n'est exacte**

QCM 5: LE FRET

A.VRAI

B.FAUX. NON RADIATIF !!!!!

C.VRAI mais je ne pourrai pas les distinguer

D.FAUX 10 nm (ouais ouais ouais !!!)

E.FAUX

RÉPONSE A & C

QCM 6: TU FRAP OU TU FLIP?

- A. Dans ma méthode, on utilise une irradiation temporaire, je suis?**
- B. Je permet de visualiser la réapparition de la fluorescence, je suis?**
- C. Je permet de calculer la vitesse de diffusion des molécules**
- D. Je permet d'étudier la dynamique des molécules**
- E. La zone d'observation est la même que la zone photoblanchie**

QCM 6: ALORS QUI SUIS JE?

A.Le FRAP

B.Le FRAP

C.Le FLIP

D.Le FRAP

E.Le FRAP