

mini **manuel**

Biologie cellulaire

**L'essentiel du cours
Cours + QCM/QROC**

4^e édition

Jean-Michel Petit

Professeur à l'université de Limoges

Sébastien Arico

Pôle Biocancer Limoges

Raymond Julien

Professeur émérite

DUNOD

Les illustrations de cet ouvrage ont été réalisées par Sébastien Arico

Directeur d'ouvrage
Raymond Julien

<p>Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.</p> <p>Le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique</p>	<p>d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.</p> <p>Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).</p>
	

© Dunod, 2007, 2011, 2013, 2019

11, rue Paul Bert, 92240 Malakoff
www.dunod.com

ISBN 978-2-10-080054-4

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2^e et 3^e a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

Table des matières

1	Les cellules procaryotes et eucaryotes	1
1.1	La cellule des origines à nos jours	1
	La notion de cellule	1
	À la recherche de LUCA	1
1.2	Ressemblances et différences entre les cellules	6
1.3	Les cellules procaryotes	7
	Le colibacille, un modèle de cellule procaryote	7
	Des procaryotes aux eucaryotes : la théorie endosymbiotique	9
1.4	Les cellules eucaryotes	11
	La levure, un modèle de cellule eucaryote	13
	Les assemblées cellulaires et les organismes multicellulaires	14
	Points clés	26
	QCM-QROC	27
	Solutions	29
2	Membranes et organites cellulaires	31
2.1	La structure des membranes	31
	L'architecture des membranes	31
	L'organisation lipidique	32
	Les autres composants des membranes	34
	La membrane plasmique	35

2.2 Les communications intercellulaires	44
L'adhésion cellulaire	44
Les molécules d'adhérence	44
Les sélectines	46
La matrice extracellulaire	46
Les récepteurs cellulaires d'adhérence	48
Les jonctions intercellulaires	49
2.3 L'adressage et la maturation des protéines	51
Le trafic vésiculaire	51
Le contrôle qualité et le tri des protéines	54
2.4 La dégradation des protéines	59
2.5 Les échanges nucléocytoplasmiques	61
L'enveloppe nucléaire	61
La chromatine	63
Le trafic noyau-cytoplasme	63
2.6 La conversion de l'énergie	64
Le chondriome	64
Les chloroplastes	69
Points clés	73
QCM – QROC	76
Solutions	79
3 Cycle, division et mort cellulaires	81
3.1 Le cycle cellulaire	81
Les étapes du cycle cellulaire	82
L'interphase	82
La mitose	83
3.2 La dynamique du cytosquelette	87
Le cytosquelette	87
La formation du fuseau mitotique	93
Le remodelage des microtubules à l'anaphase	94

3.3 Le contrôle du cycle cellulaire	96
Les cyclines	96
Phosphorylation, déphosphorylation et protéolyse	98
Les points de contrôle du cycle cellulaire	100
Points de contrôle et état du chromosome	102
Le contrôle de la transition entre les différentes phases du cycle	103
La sénescence	105
3.4 La mort cellulaire	108
Apoptose, nécrose et autophagie	108
L'autophagie	109
Points clés	117
QCM - QROC	118
Solutions	121
4 Transduction et voies de signalisation	125
4.1 Les molécules de signalisation	126
Les différents modes de signalisation	126
Les notions de ligands et de récepteurs	127
L'interaction physique ligand-récepteur, élément primordial de la voie de signalisation	128
Les seconds messagers	129
4.2 Les récepteurs membranaires	129
Les récepteurs couplés aux protéines G	131
Les récepteurs à activité tyrosine kinase	135
Les récepteurs formant des canaux ioniques	138
4.3 Les récepteurs cytoplasmiques et nucléaires	140
4.4 Conservation des voies de signalisation	143
Points clés	145
QCM-QROC	146
Solutions	148

5	Les cellules souches et la différenciation	151
	5.1 Qu'est-ce qu'une cellule souche ?	151
	Le répertoire des cellules souches	154
	Les niches d'hébergement des cellules souches	157
	Définition des propriétés d'une cellule souche embryonnaire	157
	Définition des propriétés d'une cellule souche adulte	159
	5.2 Cellules souches et cancer	160
	Réparation tissulaire et renouvellement des cellules souches	160
	La transdifférenciation	161
	Le concept de cellule souche tumorale	162
	Changements épigénétiques et génétiques de la cellule souche tumorale	163
	5.3 Cellules souches en thérapeutique	164
	Cellules souches adultes	166
	Cellules souches embryonnaires	167
	Thérapie génique	168
	5.4 Les stratégies de reprogrammation des cellules	169
	L'obtention de cellules souches par transfert nucléaire	169
	L'induction de cellules souches pluripotentes	171
	Conversion directe et indirecte de lignées cellulaires	172
	Points clés	177
	QCM-QROC	178
	Solutions	180
6	La prolifération cellulaire et le cancer	183
	6.1 La prolifération cellulaire et le cancer	183
	L'origine des cellules cancéreuses	183
	La prolifération des cellules cancéreuses	185
	Les caractéristiques des cellules cancéreuses	185

6.2 Les bases moléculaires du cancer	187
Transformation et cancer	187
Les bases génétiques du cancer	188
Succession de mutations et développement tumoral	194
6.3 Progression tumorale et métastases	201
L'hétérogénéité cellulaire dans une tumeur	202
Altérations de l'adhésion cellulaire dans une tumeur et motilité des cellules tumorales	203
Les modifications des membranes basales et de la matrice extracellulaire	205
Métastases et colonisation de tissus	208
Points clés	211
QCM-QROC	213
Solutions	215
7 Méthodes d'exploration de la cellule	217
7.1 La culture cellulaire	217
Les milieux de culture	218
Les divers types de culture	219
Les sphéroïdes : un modèle de culture <i>in vitro</i> des tumeurs solides	221
7.2 Les méthodes microscopiques	223
La microscopie photonique	223
La microscopie électronique	225
7.3 La séparation des constituants cellulaires	228
La centrifugation	228
La chromatographie	230
L'électrophorèse	231
Le piégeage par billes magnétiques	233
7.4 Les techniques de marquage	234
Application de la radioactivité	234

Le marquage métabolique	235
Marquages par anticorps	236
Production d'anticorps	237
7.5 La cytométrie en flux	237
7.6 Techniques d'analyse des mouvements et des interactions moléculaires	239
7.7 Immunoprécipitation de la chromatine	241
Points clés	242
QCM - QROC	244
Solutions	245
Glossaire	247
Index	255

Les cellules procaryotes et eucaryotes

PLAN

- 1.1 La cellule des origines à nos jours
- 1.2 Ressemblances et différences entre les cellules
- 1.3 Les cellules procaryotes
- 1.4 Les cellules eucaryotes

OBJECTIFS

- Aborder la question de l'origine des cellules vivantes.
- Récapituler les caractéristiques des cellules procaryotes.
- Récapituler les caractéristiques des cellules eucaryotes.
- Aborder la question des assemblées cellulaires et la formation des organismes multicellulaires.

1.1 LA CELLULE DES ORIGINES À NOS JOURS

La notion de cellule

Le mot « cellule » désignait à l'origine ce qui n'est en fait que l'exosquelette, devenu inerte, des cellules végétales. En 1858, Rudolf Virchow, un pathologiste allemand conclut que toute cellule provient d'une cellule préexistante. La **théorie cellulaire** prenait dès lors son essor. Peut-on avec les connaissances d'aujourd'hui reconstituer le « portrait » de l'hypothétique première cellule dont toutes les autres seraient jusqu'à nos jours les descendantes ?

La cellule est l'unité fondamentale de la vie.

À la recherche de LUCA

LUCA est l'acronyme de *Last Universal Common Ancestor*. Il désigne une simple et hypothétique cellule qui se serait formée il y a 3 à 4 milliards d'années et à partir de laquelle toutes les formes de vie auraient évolué. La preuve la plus convaincante qu'un tel événement a pu se produire est

inscrite dans le langage universel du code génétique (voir *Mini Manuel de Génétique*). En effet, une même logique structurale et fonctionnelle gouverne les divers types de cellules vivantes. Ainsi, la pratique du génie génétique montre qu'une bactérie est en mesure par exemple de fabriquer sans grande difficulté une protéine humaine pourvu qu'un gène humain ait été préalablement introduit dans son génome.

La première cellule fondatrice, apparue voici 3 à 4 milliards d'années, a évolué pour donner naissance aux eubactéries, aux archéobactéries et aux eucaryotes

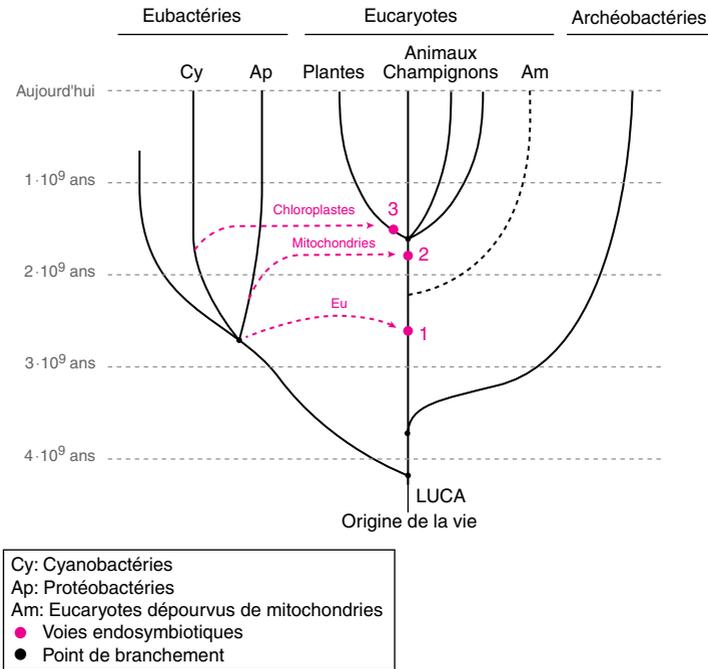


Figure 1-1 Arbre phylogénétique simplifié basé sur l'analyse des génomes.

Ce diagramme montre les relations entre LUCA et les trois domaines représentant les êtres vivants actuels. Animaux, végétaux et champignons seraient nés d'un processus endosymbiotique ayant conduit au sein d'une cellule hôte (Eu) hybride d'Archéobactérie et d'Eubactérie (point 1), elles-mêmes descendantes de LUCA à l'intégration de protéobactéries (Ap) (point 2) spécialisées dans l'utilisation de l'oxygène (devenues les mitochondries actuelles) et aussi (point 3) de cellules pigmentées (du type des cyanophycées actuelles) spécialisées dans la capture de l'énergie rayonnante (devenues les chloroplastes de la cellule végétale). Archéobactéries et eubactéries sont des procaryotes, mais les premières possèdent des histones comme les eucaryotes et ont des ribosomes (ARN et protéines) plus proches de ceux des eucaryotes que des eubactéries. Les points rouges (1, 2, 3) signalent les événements majeurs d'endosymbiose. Am : espèces sans mitochondries.

Une cellule unique ou une communauté de cellules ?

L'universalité du code génétique (voir les *Mini Manuels de Biologie moléculaire et de Génétique*) signifie qu'une relation physique existe entre tous les êtres vivants. Il est ainsi possible de construire l'arbre généalogique qui leur est commun. Pour remonter jusqu'à LUCA, la recherche s'est appuyée sur l'étude des ARN ribosomiaux qui sont des constituants essentiels de la machinerie de synthèse des protéines. Les séquences de ces ARN ont en effet été hautement conservées au cours de l'évolution et sans être identiques s'avèrent fortement similaires entre toutes les formes de vie actuelles. Ayant subi peu de changements au cours du temps, ces séquences sont, en théorie, idéales pour construire des arbres phylogénétiques.

La séparation, apparue très tôt entre les Archaeobacteria (archées) qui sont des organismes hautement résistants à des environnements extrêmes de forte salinité, de température élevée ou très acide, et les autres organismes vivants (eubactéries et eucaryotes), est aujourd'hui bien documentée (*Fig. 1-1*). L'hypothétique LUCA, plus petit dénominateur commun des trois domaines (eubactéries, archéobactéries et eucaryotes) aurait pu se former dans de tels environnements, rencontrés encore aujourd'hui, notamment dans les cheminées hydrothermales des dorsales océaniques. Cependant, d'autres études basées également sur les ARN ribosomiaux concluent à l'inverse à une formation de LUCA en eaux tempérées ou froides révélant ainsi la difficulté de choisir à de si longues distances et à l'aide d'une seule famille de gènes le début crédible d'un arbre phylogénétique robuste. S'appuyant sur la connaissance de séquences complètes de génomes, une hypothèse récente propose qu'à partir d'une « communauté ancestrale de proto-cellules » où l'échange de gènes par **transfert horizontal** aurait été la règle, une forme cellulaire dotée de la capacité à s'autoreproduire aurait émergé.

Pourra-t-on recréer LUCA *in vitro* ?

Le nombre minimum de gènes nécessaires pour reconstruire une cellule ancestrale fondatrice, dotée entièrement des propriétés élémentaires du vivant, avoisinerait 600. Recréer aujourd'hui LUCA *in vitro*, n'est donc pas ainsi considéré par les spécialistes du sujet comme une prouesse totalement illusoire (voir ci-après l'*encadré* « La biologie synthétique pour recréer la vie ? »). Mais, outre le fait qu'elle ne résoudrait pas exactement le problème de l'origine, même si elle en démontrait la possibilité, une telle éventualité laisserait ouverte la question de l'évolution ultérieure d'une telle structure cellulaire.

Un scénario parmi d'autres pour l'émergence d'une proto-cellule

L'un des scénarios imaginé par Gunther Blobel consiste en un retournement d'une **bicouche phospholipidique** au contact de laquelle diverses

macromolécules sont accolées assurant pour partie les fonctions élémentaires du vivant dans la transformation de l'énergie (le métabolisme), la réplication et la traduction des molécules informatives (acides nucléiques). La fermeture progressive de la vésicule aurait piégé les systèmes moléculaires. Une enveloppe à double membrane qui serait à l'origine des bactéries dites aujourd'hui à **Gram négatif** en aurait résultée. La survie de cette proto-cellule aurait nécessité l'insertion au sein de la bicouche lipidique de molécules hydrophobes, ancêtres des protéines transmembranaires assurant un minimum d'échanges de matière avec le milieu environnant (Fig. 1-2).

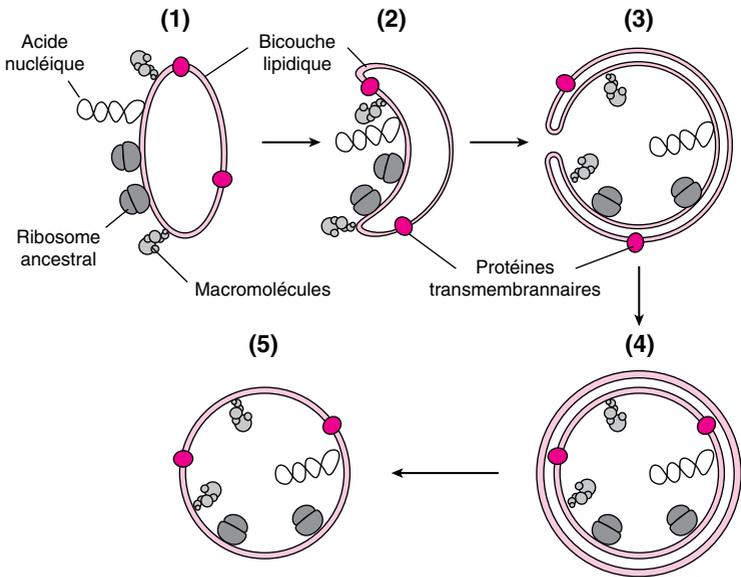


Figure 1-2 Interprétation très schématique des événements hypothétiques ayant conduit à la formation d'une cellule ancestrale appartenant ou non à une communauté primitive.

Sur la face externe d'une vésicule constituée d'une bicouche lipidique sont attachées certaines des macromolécules essentielles du vivant préalablement formées dans un monde abiotique (1). Le regroupement de ces molécules parallèlement au repliement de la vésicule aurait favorisé leurs interactions et l'émergence d'un métabolisme primitif (2). Après qu'un orifice ait assuré les échanges avec l'extérieur (3) la fermeture complète (4) aboutit à une cellule à deux membranes (Gram négatif), la perte de la membrane externe correspondant à l'ancêtre des cellules Gram positives (5). Suivant les systèmes moléculaires encapsulés, leurs échanges entre diverses « cellules » d'une même communauté, via les « gènes » (acides nucléiques) correspondants, ont pu favoriser l'émergence de l'organisme symboliquement appelé LUCA. L'hypothèse communément admise suggère que le même type de molécule (l'ARN vraisemblablement) assurait dans ce monde primitif les deux fonctions essentielles pour la vie : la fonction héréditaire (celle de l'ADN aujourd'hui) et la fonction catalytique (celle des protéines). Voir le terme « ribozyme » dans le *Mini Manuel de Biologie moléculaire*.



La biologie synthétique pour recréer la vie ?

Pourquoi recréer la vie ? Pour la comprendre répondent les tenants de la biologie synthétique. À l'instar des physiciens et chimistes qui pour comprendre le monde matériel non vivant s'efforcent, avec succès, de le reconstituer expérimentalement dans toutes ses dimensions, les biologistes, forts des progrès récents de leur discipline, s'engagent à leur tour depuis quelques années dans cette démarche.

Il y a ceux qui recherchent les moyens de recréer artificiellement les composants moléculaires de la matière vivante, en partant des composants du monde non vivant. Ils poursuivent la démarche initiale de Stanley Miller qui, dès 1952 dans une expérience célèbre, montra la possibilité d'obtenir des acides aminés, briques élémentaires des protéines, à partir d'eau (H_2O), de gaz carbonique (CO_2) et d'ammoniaque (NH_3), composants minéraux porteurs des 4 atomes principaux de la matière vivante (C, H, O, N). Les progrès accomplis depuis lors sont spectaculaires. Aujourd'hui en effet, pratiquement toutes les biomolécules peuvent être synthétisées artificiellement, y compris les plus complexes comme celles (les acides nucléiques) qui sont porteuses de l'information génétique nécessaire à la « synthèse » d'un être vivant élémentaire.

Pourtant, la vie, le vivant, ne résulte pas de la simple collection d'un ensemble de biomolécules, fut-il le plus complet possible. On sait en effet avec certitude que le rôle des biomolécules dans l'émergence des premières cellules vivantes ancestrales résulte d'un processus évolutif complexe d'auto-organisation encore largement incompris. Aussi, tenter de recréer la vie connue sur Terre en faisant l'impasse sur le processus, « la méthode naturelle » l'ayant engendrée, risque bien d'être voué à l'échec. C'est pourquoi d'autres biologistes s'emploient à décrypter ce processus en cherchant, partant du haut vers le bas en quelque sorte, à déconstruire une cellule actuelle afin d'en identifier les composants minimaux indispensables à une vie autonome. En commençant par identifier les informations minimales, c'est-à-dire le plus petit génome artificiel compatible avec cette vie. Puis à tester la dynamique cellulaire qu'un tel génome pourrait engendrer au sein d'un réceptacle cellulaire élémentaire préalablement dépourvu de toute information génétique.

Synthia est le nom donné par Craig Venter en 2010 à cet assemblage d'une cellule hybride minimale capable de se dupliquer en à peine 3 heures, composée d'un génome artificiel réduit à quelques

centaines de gènes « bactériens » au sein d'un « réceptacle cellulaire » issu de la bactérie *Mycobacterium mycoides*. Sommes-nous réellement en présence d'une cellule vivante artificielle ? Pas vraiment. Trop de composants naturels dont d'ailleurs certains à fonction encore inconnue participent à son fonctionnement. Obtenir une véritable cellule minimale synthétique consisterait à créer un génome artificiel minimal comportant 2 à 300 gènes à fonctions connues, à l'insérer à l'intérieur d'une bicouche phospholipidique avec les protéines codées par ces gènes, accompagnées par diverses autres molécules et ribosomes, toutes synthétisées *ex nihilo*, similaires par exemple à ceux très bien connus de la bactérie modèle *E. coli* (voir Fig. 1-2). Une telle cellule minimale de synthèse capable de se dupliquer constituerait assurément un véritable exploit. Certains contesteraient toutefois qu'il s'agisse réellement d'une « création », préférant saluer la « recréation » de la seule forme de vie connue à ce jour. Ayant cependant compris la méthode, la porte ainsi ouverte par la biologie de synthèse autoriserait les chercheurs à tenter de nouvelles (re)créations aux devenir bien difficiles à projeter.

La formation d'une « cellule » de la communauté primitive doit prendre en compte la nécessité d'une « encapsulation » des systèmes autorisant l'autoreproduction et les échanges avec le milieu environnant

1.2 RESSEMBLANCES ET DIFFÉRENCES ENTRE LES CELLULES

Le monde vivant actuel présente une grande diversité de cellules qui varient dans leur taille, leur forme, leur métabolisme ou leur aptitude à se déplacer. De nombreux organismes sont unicellulaires, d'autres forment des colonies ou vivent en symbiose avec d'autres organismes comme c'est le cas des bactéries fixatrices d'azote des légumineuses ou des bactéries intestinales participant à la digestion des aliments. Dans les organismes multicellulaires, les diverses cellules sont au contact direct les unes des autres. Malgré leurs différences, les cellules ont cependant de nombreuses propriétés structurales et métaboliques communes.

Deux principaux types cellulaires constituent aujourd'hui le monde vivant : les cellules procaryotes (eubactéries et archéobactéries) et les cellules eucaryotes (protistes, champignons, animaux et plantes).

Les cellules eucaryotes des protistes, champignons, animaux ou plantes ont la capacité d'ouvrir régulièrement leurs membranes afin d'intégrer des génomes nucléaires, des cellules entières ou d'autres structures de grande dimension au cours de processus comme l'ingestion, la fécondation ou l'hybridation. Elles referment ensuite leurs membranes et continuent leur cycle vital sans désordre apparent. Presque tous les processus cellulaires des eucaryotes impliquent également une motilité intracellulaire visible au microscope, un fait qui n'est jamais observé chez les procaryotes. Finalement, en matière de reproduction, les procaryotes procèdent à un transfert unidirectionnel de leur matériel génétique alors que les eucaryotes procèdent généralement à une fusion des cellules sexuelles parentales.

Les principales différences entre cellules procaryotes et eucaryotes ont leur origine dans les symbioses dont sont issus les eucaryotes. (Voir plus loin, la théorie endosymbiotique.)

1.3 LES CELLULES PROCARYOTES

Les cellules procaryotes ne possèdent pas de **noyau** défini. La **membrane plasmique** entoure un unique compartiment où se trouvent organisés, dans la phase « liquide gel » du milieu intérieur nommée **cytosol**, les divers systèmes moléculaires qui assurent les principaux métabolismes.

Le colibacille, un modèle de cellule procaryote

La bactérie *Escherichia coli* ou colibacille est le prototype de la cellule procaryote (Fig. 1,3). Hébergée naturellement dans l'intestin des mammifères, cette bactérie se présente sous la forme de très nombreuses souches, dont la plus célèbre, la souche K12, a fait l'objet d'innombrables études fondamentales et reste l'un des organismes les mieux connus aujourd'hui. Bien que sa masse sèche avoisine 3×10^{-13} g, un mammifère comme l'Homme peut en héberger jusqu'à 3 kg.

Escherichia coli possède, comme les autres bactéries Gram négatives, une paroi entourant la membrane plasmique et une membrane externe. Des filaments (fimbriae ou pili) assurent son adhésion à la surface d'autres cellules. Certains pili s'avèrent indispensables pour la **conjugaison**, phase durant laquelle une partie du matériel héréditaire, sous la forme d'un monobrin d'ADN est transmise d'une bactérie dotée d'un facteur de fertilité codé par un plasmide (bactérie mâle F+) à une bactérie dépourvue de ce facteur (bactérie femelle F-). La cellule ayant reçu ce nouveau patrimoine le met à profit pour accroître ses capacités de production. On parle de sexualité bactérienne en raison de

l'échange de matériel héréditaire. Le cytoplasme de *E. coli* contient de 1 à 4 molécules d'ADN circulaire et de $15 \text{ à } 30 \times 10^3$ ribosomes. *E. coli* se multiplie rapidement, une division toutes les 20 minutes dans les conditions idéales de culture. Ses besoins nutritionnels simples (eau, sels minéraux et une source d'énergie, glucose par exemple) en font une bactérie facile à cultiver. Un grand nombre de souches sont disponibles dans de nombreux laboratoires et auprès des banques de cellules. *E. coli* reste un modèle cellulaire très utilisé pour les recherches en biochimie et en biologie moléculaire.

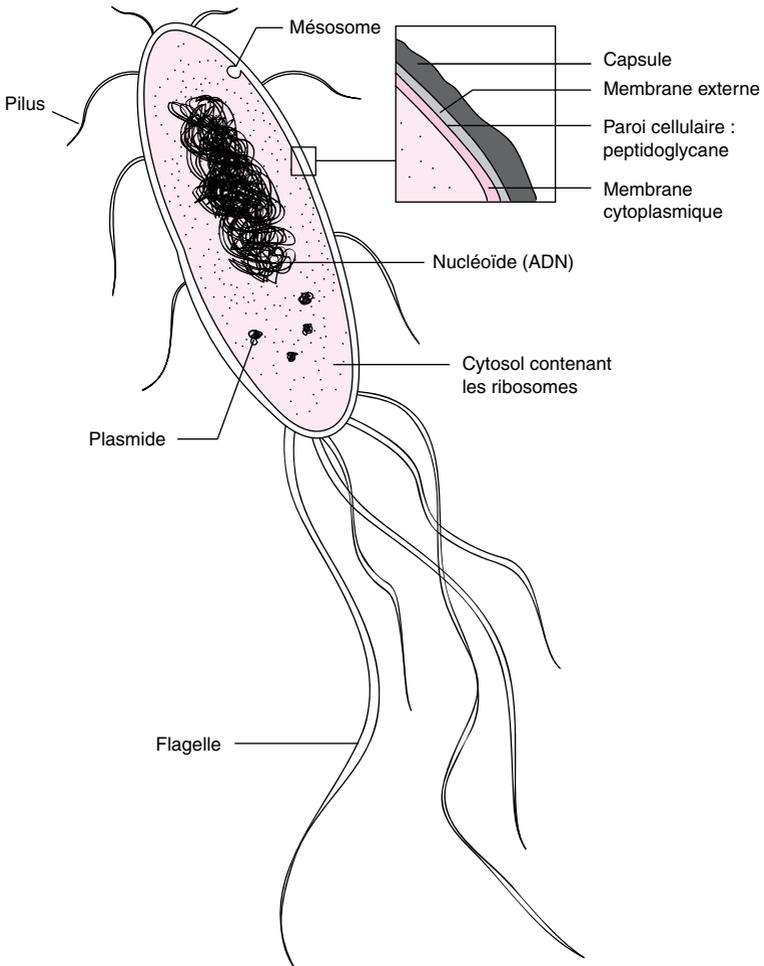


Figure 1-3 Schéma général d'une cellule bactérienne.

À noter que les conditions de culture utilisées au laboratoire conduisent très souvent à la perte des pili et des flagelles. Seules certaines espèces possèdent une capsule (par exemple *Klebsiella pneumoniae*).

Les connaissances acquises sur le génome haploïde et le métabolisme de *E. coli* en font un des principaux outils cellulaires du génie génétique.

Les bactéries colonisent tous les milieux terrestres, aquatiques et aériens, même les plus hostiles, et possèdent une capacité d'adaptation remarquable. Le nombre d'espèces est considérable (voir plus loin, *tableau 1-1*). Leur taille varie de 1 à 10 µm et leur capacité de multiplication est réellement extraordinaire avec un doublement de la population à chaque génération (formule 2^n avec n = nombre de générations). Dans des conditions favorables, à raison de trois générations par heure, une seule bactérie peut, en théorie au bout de 48 h, donner naissance à 2^{144} bactéries. Un événement heureusement jamais observé car les conditions nutritionnelles deviennent rapidement limitantes, des prédateurs en grand nombre existent et la mort bactérienne fait le reste.

Des procaryotes aux eucaryotes : la théorie endosymbiotique

Les premières cellules ancestrales utilisaient pour croître les molécules de leur environnement, un legs de la « soupe prébiotique ». Ces cellules dites **hétérotrophes** ont progressivement acquis l'aptitude à prélever l'énergie chimique de certains des composés de leur environnement et à l'utiliser pour les synthèses indispensables à leur survie et leur croissance. Elles étaient vraisemblablement **chimiorganotrophes**. Des voies métaboliques très simples se sont ainsi créées dans des conditions anaérobies (absence d'oxygène). La **glycolyse**, productrice d'**ATP**, présente dans toutes les cellules actuelles, constitue à cet égard, bien qu'elle ait subi d'importantes évolutions, l'exemple d'un métabolisme ancestral, réalisé en absence d'oxygène. La synthèse de pigments capables de mettre à profit l'énergie de la lumière solaire pour fixer le gaz carbonique ou l'azote et réaliser par transfert d'électrons la synthèse de molécules organiques plus complexes a constitué ensuite sans nul doute l'un des événements majeurs de l'évolution cellulaire. C'est la **photosynthèse**. Après d'autres composés hydrogénés, notamment H_2S , l'utilisation de l'eau (H_2O) comme donneur d'électrons a conduit à la libération d'oxygène (O_2) dans l'atmosphère terrestre primitive qui progressivement s'est enrichie en ce gaz. Les cyanobactéries sont les descendantes actuelles des premiers organismes ayant réalisé ce type de réaction.

La présence d'oxygène a permis ensuite aux cellules et organismes d'oxyder totalement les molécules ingérées. Alors qu'en **anaérobiose**, le glucose est partiellement transformé en acide lactique ou en éthanol,

il est complètement dégradé en eau et gaz carbonique en présence d'oxygène, avec une production élevée d'énergie sous la forme d'ATP, selon un protocole proche de celui mise en œuvre par les organismes photosynthétiques. C'est l'**aérobiose** ou **respiration cellulaire**. Dans cet environnement enrichi en oxygène, certains organismes anaérobies ont développé une stratégie de survie en s'associant étroitement aux organismes aérobies et en vivant ainsi avec eux en **symbiose**.

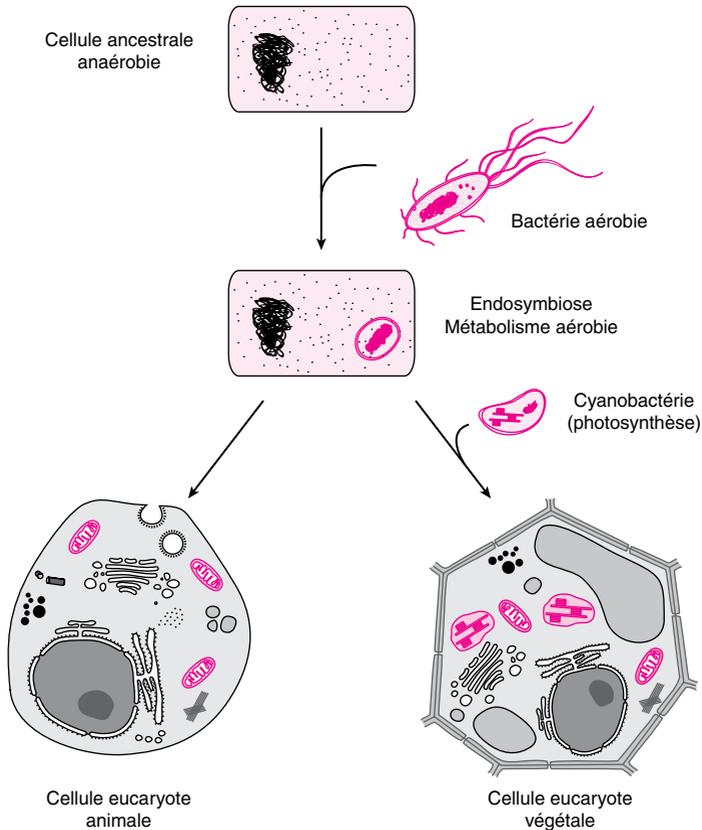


Figure 1-4 Schéma illustrant la théorie endosymbiotique de l'origine des cellules eucaryotes animales et végétales.

L'endosymbiose de la bactérie aérobie confère à la cellule hôte anaérobie une nouvelle compétence pour la synthèse d'ATP. La cyanobactérie endosymbiote permet à la nouvelle cellule d'utiliser également l'énergie lumineuse pour son métabolisme et la synthèse de ses structures. Au cours de l'évolution, les bactéries symbiotiques se sont transformées pour devenir les mitochondries et les chloroplastes des cellules actuelles. (Voir également la Fig. 1-1.) L'ordonnement des différentes phases successives de ce processus endosymbiotique est encore mal connu.

La théorie endosymbiotique demeure l'explication la plus plausible de l'origine des cellules eucaryotes.

Selon cette théorie, les mitochondries et les chloroplastes, organites assurant aujourd'hui la synthèse d'ATP dans les cellules eucaryotes dérivent respectivement de l'**endosymbiose** de bactéries aérobies et de cyanobactéries qui ont colonisé une cellule ancestrale anaérobie elle-même descendante de LUCA (*Fig. 1-4*). On constate encore aujourd'hui que les deux types d'organites se divisent comme les bactéries par scissiparité à partir d'organites préexistants. Ils possèdent leur propre ADN et toute la machinerie de synthèse des protéines codées par les gènes correspondants. Parmi les multiples preuves en faveur de cette théorie, on relève notamment les homologues de séquence entre ADN bactériens et mitochondriaux, ADN cyanobactériens et chloroplastiques, les similitudes entre les ribosomes d'organites et ceux des bactéries, les ressemblances structurales entre chloroplastes et cyanobactéries.

Au cours de l'évolution, les cellules symbiotes ont subi d'importantes modifications. La quantité d'ADN a énormément diminué et la plupart des protéines d'organites sont aujourd'hui codées par le génome nucléaire, synthétisées dans le cytoplasme puis importées dans l'organite. Les organites ne sont donc plus capables d'autonomie et sont devenus entièrement dépendants de leurs cellules hôtes respectives.

1.4 LES CELLULES EUCARYOTES

Au contraire des cellules procaryotes, les cellules eucaryotes possèdent un vrai **noyau** délimité par une **enveloppe nucléaire**. Au sein du **cytoplasme** délimité par la **membrane plasmique**, les organites subdivisent le **cytosol** et constituent autant de compartiments différents, dotés de membranes internes (*Fig. 1-5*). La cellule eucaryote varie en taille moyenne de 10 à 100 μm avec quelques exceptions remarquables (certains œufs).

La plupart des eucaryotes sont multicellulaires (animaux, plantes). Certains sont également (champignons, moisissures) ou exclusivement (protistes) unicellulaires.

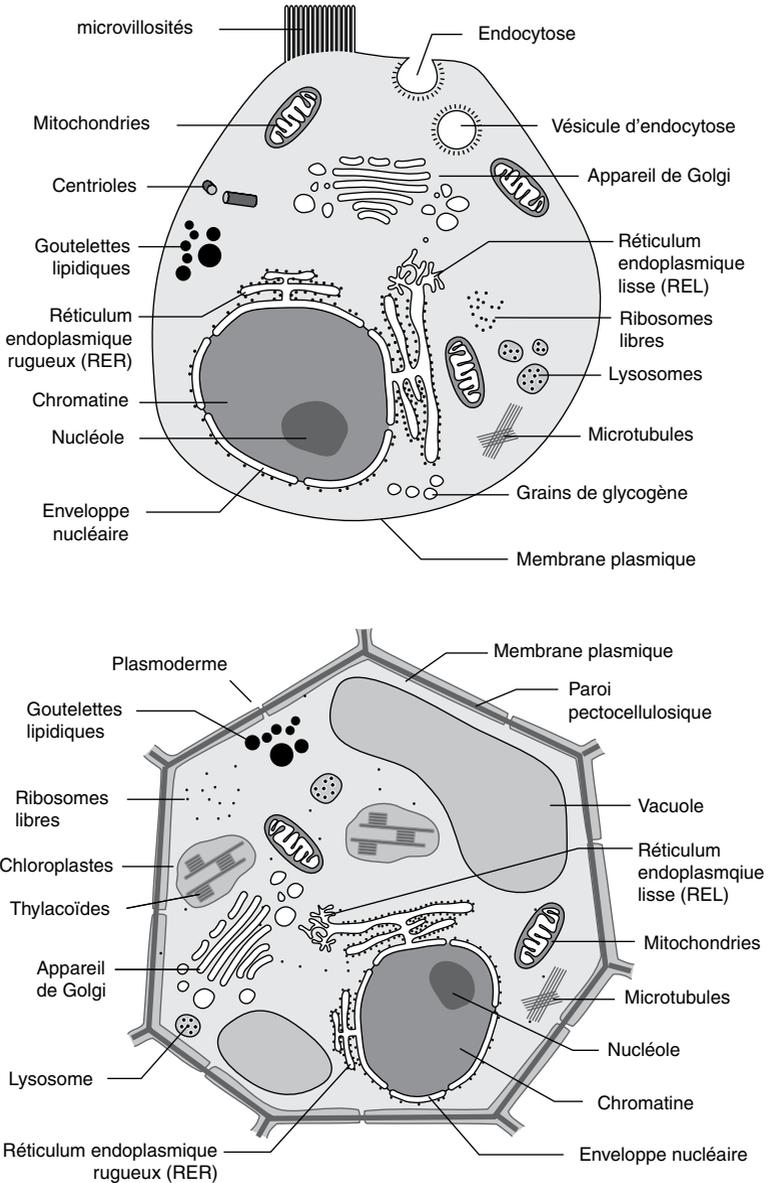


Figure 1-5 Représentation schématique d'une cellule animale (a) et d'une cellule végétale (b).

La levure, un modèle de cellule eucaryote

Les levures sont des unicellulaires eucaryotes considérés comme des moisissures. Utilisée pour fabriquer le pain, la bière ou le vin, *Saccharomyces cerevisiae*, l'espèce la plus connue, se reproduit rapidement de façon sexuée et asexuée (Fig. 1-6). Elle possède un génome de petite taille, comportant 6 000 gènes environ. La levure peut proliférer à l'état **haploïde** ce qui autorise l'expression d'un caractère récessif, propriété ignorée des organismes exclusivement **diploïdes** soumis à la règle de la **dominance** d'un allèle. L'emploi des techniques dites de **complémentation** (apport d'un gène sauvage par transformation de la levure) a autorisé la sélection de mutants bloqués

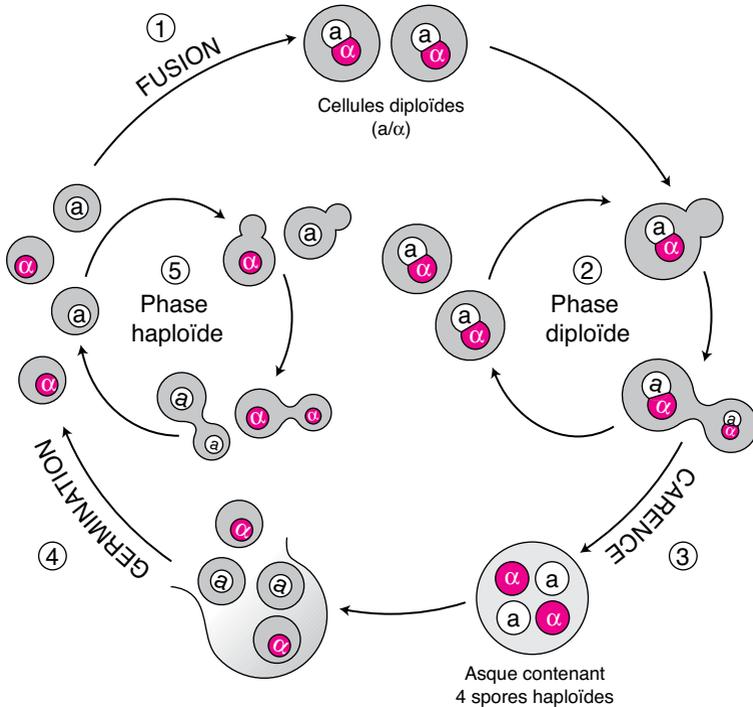


Figure 1-6 Reproduction sexuée et asexuée de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

(1) Deux cellules de type sexuel opposé (a et α) peuvent fusionner pour former une cellule diploïde (a/α) à $2n$ chromosomes ; (2) les cellules diploïdes peuvent se multiplier d'une façon asexuée, par bourgeonnement mitotique ; (3) si les conditions nutritionnelles deviennent défavorables une méiose peut intervenir donnant naissance à un asque contenant 4 ascospores (dont 2 de chaque type sexuel) possédant chacune n chromosomes ; (4) après leur libération les spores peuvent se développer et (5) se multiplier de façon asexuée en de multiples cellules haploïdes.

à un stade du cycle cellulaire (mutants *cdc* pour cell division cycle) lorsqu'ils sont cultivés à une température restrictive. L'apport du gène sauvage restaure l'aptitude à se diviser même à température restrictive. Des gènes humains transférés dans des mutants *cdc* bloqués en phase G2 du cycle permettent ainsi à la mitose de s'accomplir pleinement. Ce type d'expérience et d'autres, démontre l'existence entre les cellules eucaryotes appartenant à différentes espèces, d'une très forte homologie des gènes et des processus contrôlant le déroulement du cycle cellulaire et renforce l'idée de l'origine commune des cellules eucaryotes (voir *chapitre 3*, régulation du cycle cellulaire).

Les assemblées cellulaires et les organismes multicellulaires

Dans diverses circonstances environnementales ou physiologiques, les cellules procaryotes et eucaryotes appartenant à de nombreuses espèces se rassemblent, pour une espèce donnée, en communautés ou en réseaux dont les finalités sont éminemment variables, même si elles résultent dans la plupart des cas de la nécessité pour une cellule de communiquer, pour vivre, avec d'autres cellules. La cellule isolée fournit rarement les clés de compréhension de son fonctionnement dès lors que celui-ci dépend et c'est très souvent le cas de l'environnement constitué par les autres cellules.

Il est de plus en plus indispensable d'appréhender le fonctionnement des cellules au sein des tissus, des organes, voire de l'animal ou de la plante dont elles sont les unités de base.

Et à ce titre il s'agit de bien percevoir que la dimension temporelle s'avère indispensable à prendre en compte. La **différenciation** des tissus, la **morphogenèse** d'un organe complexe comme le système nerveux ou bien la réponse immunitaire présentent ainsi de nombreux points communs touchant la différenciation cellulaire en réponse à des signaux, ou la migration de tout ou partie des cellules, ou bien évidemment la constitution d'assemblées cellulaires. De nombreux exemples seraient nécessaires pour illustrer cet aspect essentiel bien qu'encore balbutiant de la biologie cellulaire.

Association de cellules procaryotes : l'exemple des myxobactéries

Les myxobactéries se rencontrent principalement dans les sols tempérés à proximité de la racine de végétaux. Ces bactéries prédatrices hydrolysent par leurs enzymes sécrétées les macromolécules

de leur proie. Elles sont capables de se déplacer par glissement à la manière des engins à chenilles. Lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, les myxobactéries s'assemblent en corps multicellulaires qui adoptent selon les espèces, la forme d'arborescences très variées. Les cellules du sommet se différencient en **spores** qui donnent naissance à une nouvelle colonie lorsque les conditions redeviennent favorables. Le reste des arborescences est constitué de cellules mourantes ou mortes. Un tel comportement démontre l'existence d'un système de communication intercellulaire, de mécanismes de coopération et de spécialisation entre cellules individualisées d'un organisme procaryote, considéré à tort comme primitif.

Association de cellules eucaryotes : l'exemple des dictyostélides

Ce sont des moisissures visqueuses amiboïdes unicellulaires dont la plus célèbre, *Dictyostelium discoideum*, est un organisme modèle pour l'étude de processus fondamentaux de communication, de différenciation cellulaire, et d'**apoptose** (voir chapitre 3). Ces cellules eucaryotes se nourrissent de bactéries et dans les conditions normales vivent et se divisent sous la forme d'amibes individualisées (cycle végétatif). Cependant lorsque la ressource alimentaire s'amenuise, jusqu'à 100 000 amibes s'agrègent par **chimiotactisme** et amorcent un cycle développemental caractérisé par un assemblage multicellulaire obéissant à un **signal** d'AMPc agissant de manière complexe. Il en résulte un pseudoplasmodium (« slug ») en forme de limace présentant une partie antérieure et une partie postérieure. Il est sensible aux variations de lumière et de température et possède une capacité de mouvement par **pseudopodes**. Normalement à partir de cette « limace » un corps fructifère s'échafaude comportant une tige de cellules mortes portant un ou plusieurs sacs de spores dormantes protégées par des parois résistantes. Ces spores redonnent des amibes si les conditions nutritionnelles redeviennent favorables (*Fig. 1-7*).

Le mécanisme initial qui engendre la formation de cet organisme multicellulaire est radicalement différent des premières étapes du développement embryonnaire des métazoaires. Cependant les étapes ultérieures mettent en jeu des communications intercellulaires dans les deux cas. Beaucoup de ces mécanismes sous-jacents sont apparus dans des cellules précurseurs ancestrales et ont été conservés au cours de l'évolution (voir chapitre 4). Des processus aussi fondamentaux que le **tri cellulaire différentiel**, le patron de formation, l'expression de gènes induite par des stimuli, la régulation en fonction du type cellulaire sont ainsi communs aux dictyostélides et aux métazoaires.

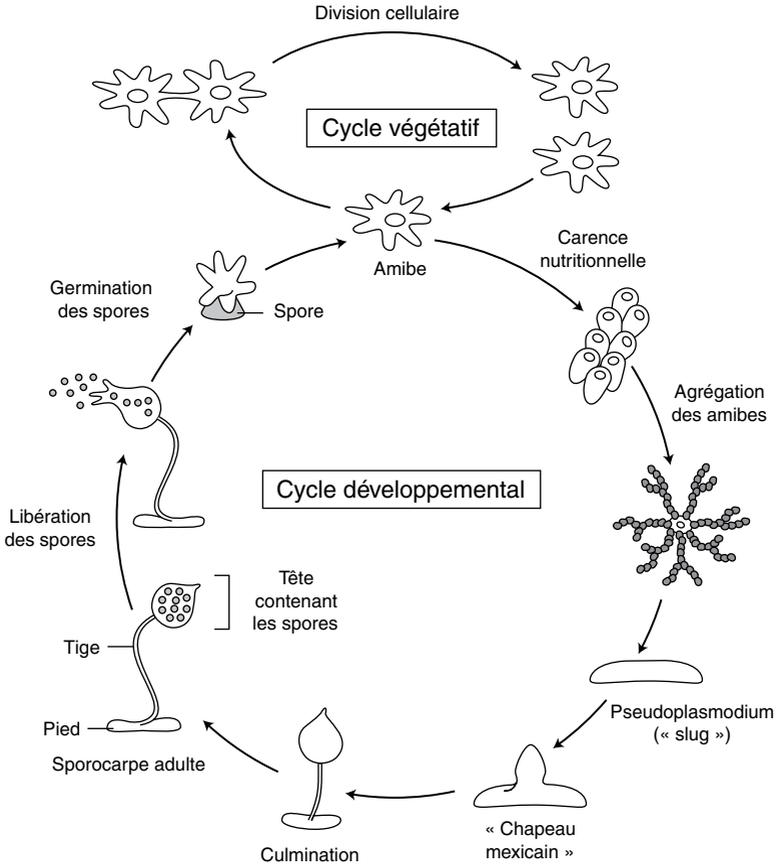


Figure 1-7 Cycle vital de *Dictyostelium discoideum*.

La notion de lignage, de spécialisation et de mort cellulaire

Chez les métazoaires, à la suite de la première division de la cellule œuf, les divisions successives engendrent des lignées de cellules descendantes qui, au fur et à mesure de l'écoulement du temps, se différencient les unes des autres, se spécialisent en diverses fonctions et s'organisent en tissus et organes. Plusieurs milliards de cellules restent ainsi assemblées pour former un individu adulte. Chez un mammifère, elles se distribuent en quelque 200 types cellulaires distincts. Au sein d'un tissu normal, toutes les cellules n'ont donc pas la même fonction. Les premières cellules initiatrices d'un tissu sont souvent désignées par le terme de **cellules souches** (voir chapitre 5). Une telle cellule, en se divisant, donne naissance à une autre cellule souche et à une deuxième cellule qui s'engage dans un processus de

différenciation spécifique du tissu considéré. Ce mécanisme débute, d'ailleurs, dès la première division de la cellule œuf. Il est désigné par le terme **lignage cellulaire**. Le premier organisme eucaryote pluricellulaire, pour lequel fut connu le lignage cellulaire complet depuis la première cellule jusqu'au stade adulte, est un petit ver rond, un nématode, répondant au nom charmant de *Caenorhabditis elegans* (Fig. 1-9). Il est devenu le modèle le plus achevé des processus de développement qui interviennent depuis la première cellule (P0 ou zygote) de l'animal jusqu'au stade adulte et à sa mort. Comme chez tous les organismes ayant une reproduction sexuée, deux lignées cellulaires fondamentales se différencient chez *C. elegans* dès les premières divisions : la **lignée germinale** (cellules P) et la **lignée somatique** (les autres cellules). Celle-ci se subdivise ensuite en plusieurs branches qui donnent naissance progressivement aux lignées somatiques spécifiques de chaque tissu ou organe (Fig. 1-8).

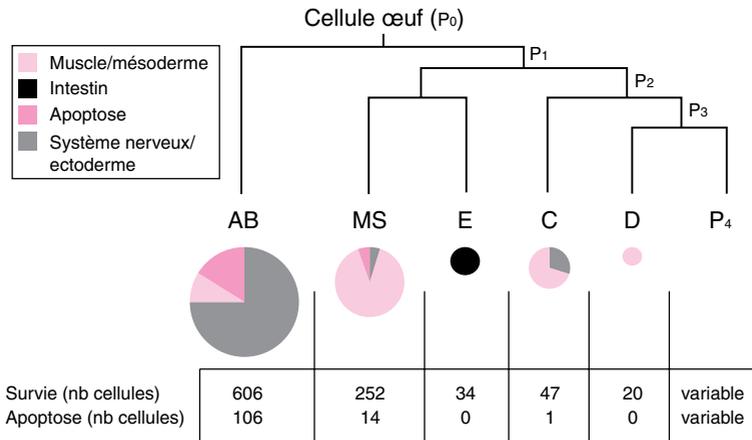


Figure 1-8 Schéma récapitulant les 5 premières divisions à l'origine du nématode *C. elegans*.

Chaque trait horizontal (ici 5) désigne une division cellulaire. Chaque trait vertical (ici 10) désigne une cellule. Les cellules sont désignées par des lettres conventionnelles. Les cellules souches P (P₁ à P₄) donnent naissance à la lignée germinale aboutissant aux gamètes mâles et femelles du nématode hermaphrodite. Les cinq lignées somatiques qui sont engendrées à partir des cellules souches AB, MS, E, C et D contribuent de manière variable à l'édification des tissus et organes de l'animal adulte dont le corps très simple est formé au total de 959 cellules somatiques ; 121 autres cellules meurent par apoptose au cours du développement, la plupart lors de la formation du système nerveux.

La multiplication cellulaire ou prolifération n'est pas le seul mécanisme par lequel sont constitués les tissus d'un organisme pluricellulaire. Un autre phénomène important, compris dans ses grandes

lignes depuis peu, fait intervenir la **mort cellulaire programmée** ou **apoptose** de certaines des cellules qui naissent au cours des divisions successives (voir *chapitres 3, 5 et 6*). Ce ne sont pas évidemment les cellules souches qui meurent, car leur existence permanente est la garantie que le tissu qui les héberge se renouvellera. En ciblant certaines cellules, ce phénomène d'apoptose contribue à l'organisation spécifique du tissu, à sa morphologie et à l'établissement des connexions et des interactions entre les cellules qui assurent le fonctionnement correct de l'ensemble.

Les organismes multicellulaires modèles

Un adage bien connu des biologistes affirme que les questions relatives aux processus vitaux sont résolues plus facilement si l'on s'adresse pour leur étude à l'organisme approprié le plus simple possible. C'est ainsi que malgré l'existence de millions d'espèces vivantes (*tableau 1-1*), les biologistes étudiant les organismes multicellulaires ont choisi de porter leurs efforts sur quelques organismes modèles parmi lesquels on peut citer : le nématode *Caenorhabditis elegans*, la mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster*, le poisson-zèbre *Danio rerio*, la souris *Mus musculus*, commensale des humains.

TABLEAU 1-1 ESTIMATION DU NOMBRE D'ESPÈCES VIVANTES
CONNUES À CE JOUR ET PROBABLEMENT EXISTANTES.

Groupe	Espèces connues	Espèces probables
Virus	5 000	500 000
Bactéries	4 000	400 000
Champignons	70 000	1 000 000
Protozoaires	40 000	200 000
Végétaux	250 000	300 000
Vertébrés	45 000	50 000
Nématodes	15 000	500 000
Mollusques	70 000	200 000
Crustacés	40 000	150 000
Arachnides	75 000	750 000
Insectes	950 000	8 000 000

■ Le nématode *Caenorhabditis elegans*

Il se cultive sur des boîtes de Pétri où il se nourrit de bactéries qu'il « broute » en solitaire ou en groupe en se déplaçant par reptation sur la gélose. Un cycle complet de développement allant de l'embryon à l'adulte sexuellement fertile est accompli en 48 h environ (Fig. 1-9). L'adulte **hermaphrodite** peut produire seul jusqu'à 300 individus en quatre jours et plus de 1 000 descendants par croisement avec un mâle, forme assez rare de cet animal. L'adulte vit 15 jours. Si les conditions environnementales deviennent défavorables, l'animal peut se transformer en une forme dormante résistante aux conditions extrêmes. L'obtention de mutants incapables d'entrer en **phase dormante** a débouché sur l'identification de gènes ne s'exprimant que dans certains neurones évaluateurs des conditions environnementales, et aussi de gènes contrôlant la croissance du corps et de gènes qui contrôlent la durée de vie. Activés chez l'adulte, ces gènes augmentent la durée de vie de l'animal. Faits remarquables, leurs homologues mammaliens pourraient avoir un rôle comparable.

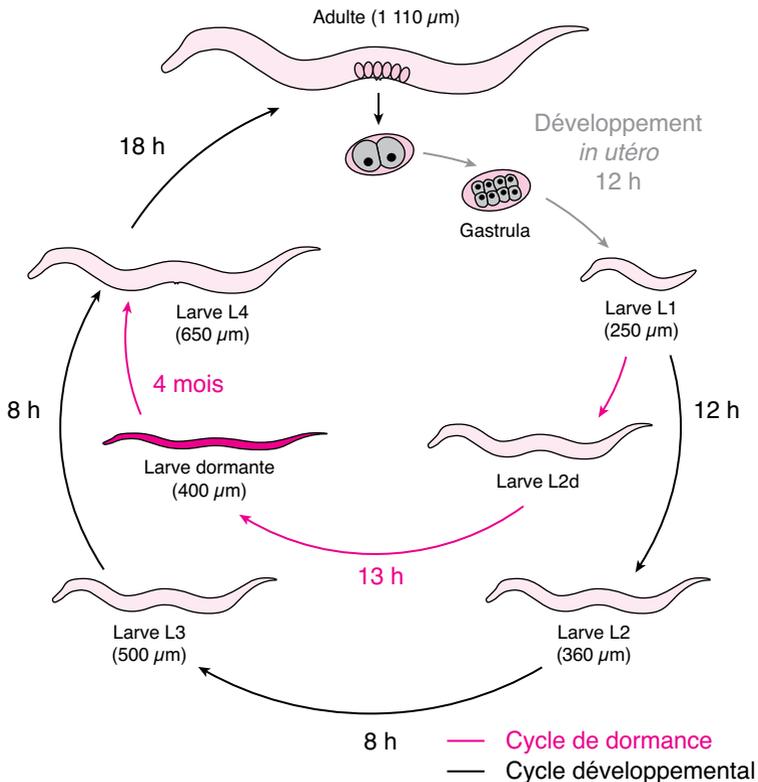


Figure 1-9 Cycle vital du nématode *C. elegans*.

Parmi les gènes contrôlant la formation et la différenciation des 22 cellules de la vulve de *C. elegans*, ceux qui codent les composants d'une **voie de signalisation** impliquée dans la **prolifération cellulaire** ont aidé à l'identification des homologues mammaliens de la famille des **oncogènes** et des **suppresseurs de tumeurs** (voir *chapitre 6*).

Le nématode est recouvert d'une cuticule transparente de sorte que les cellules sont directement visibles et leur faible nombre rend possible la description précise du lien réunissant le type de mutation avec la transformation spécifique de la cellule de vulve.

C'est également chez le nématode que furent identifiés les gènes *ced* (pour *cell death*) qui contrôlent la mort cellulaire programmée, un processus cellulaire génétiquement contrôlé aussi important que la prolifération cellulaire pour le développement des organismes, y compris chez l'homme. Des gènes humains homologues substitués à ceux du nématode restaurent l'expression d'un gène *ced* muté. D'intenses recherches sur le sujet sont en cours pour mettre au point de nouvelles démarches thérapeutiques avec l'objectif de contrôler les cancers et les maladies neurodégénératives (voir *chapitre 6*).

C'est enfin chez le nématode qu'ont été découverts les rôles étonnants de certains petits ARN, dans la dégradation ciblée des ARN messagers à séquence homologue (mécanisme de l'**ARN interférence**) et ceux des **micro-ARNs** dans la régulation de l'expression des gènes, y compris chez les végétaux et les animaux, dans les réarrangements du génome chez les protistes et la régulation de la structure de la chromatine chez la levure. Plusieurs micro-ARNs mammaliens récemment découverts conduisent à généraliser les fonctions de ces nouveaux petits **ARN non codants** (voir *Mini Manuels de Biologie moléculaire* et de *Génétique*).

■ La mouche *Drosophila melanogaster*

L'embryogenèse de la mouche comporte une série précoce et ultrarapide de divisions nucléaires. Au troisième stade larvaire commence la transformation de la larve en **pupe** avec la formation en surface, de chaque côté de l'axe antéro-postérieur, des paires de **disques imaginaux** comportant chacun au plus une centaine de cellules, véritables territoires embryonnaires précurseurs des appendices et organes (bouche, yeux, pattes, ailes, antennes, parties génitales) qui chez la larve mature représentent plusieurs milliers de cellules avant de devenir les structures adultes au cours de la **métamorphose** (*Fig. 1-10*). Le développement des disques imaginaux est un modèle de la manière dont fonctionnent les **gradients** de molécules de signalisation pour contrôler les processus complexes de façonnage des organes.