

ANDRÉ ADOUTTE
FRANÇOISE BUSSEREAU-PLUNIAN

Biologie cellulaire : approches moléculaires

Problèmes corrigés
sur le transit intracellulaire des protéines,
le cycle cellulaire et le cytosquelette

SV

Enseignement
des
Sciences de la Vie

MASSON 

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	1
Techniques utilisées	3
Immunocytochimie et immunotransfert	3
Génie génétique	8
 Première partie. – TRANSIT INTRACELLULAIRE DES PROTÉINES	11
Introduction	13
1. Rôle des séquences signal	25
1. Construction d'une protéine hybride	25
2. Étude de la souche bactérienne pop3186	26
3. Étude d'un mutant de la souche pop3186	28
2. Exportation de protéines bactériennes	33
1. Isolement du mutant SecB	33
2. Mode d'action du gène SecB	34
3. Rôle de la protéine SecB	35
3. Translocation des protéines dans le réticulum endoplasmique	41
1. Obtention de protéines de fusion	41

2. Comportement de cellules transformées par les plasmides hybrides	42
3. Obtention de souches mutantes	43
4. Étude du mutant sec61	43
5. Études complémentaires	45
4. Dissection génétique du transit sécrétoire chez la levure	49
1. Étude de trois enzymes	50
2. Étude des mutants « sec »	52
5. Rétention des protéines dans le réticulum endoplasmique	57
1. Séquence consensus	57
2. Transit des protéines dans le RE	59
3. Obtention d'anticorps	59
5. Étude des hybridomes	61
6. Double marquage	61
6. Rôle des protéines COPs dans le transit intracellulaire	67
1. Séquences consensus	67
2. Localisation d'une protéine dans le RE	68
3. Obtention de mutants défectifs dans le recyclage	72
7. Rétention des protéines membranaires dans l'appareil de Golgi de la levure	77
8. Localisation des protéines virales sur la membrane plasmique des cellules polarisées	87
1. Comportement des cellules MDCK infectées par des virus à enveloppe	87
2. Localisation des glycoprotéines à la surface des cellules	88
3. Immunocytochimie	90
4. Ancrage de protéines dans la membrane	91
5. Comportement d'un mutant de la protéine HA	91
9. Adressage des protéines membranaires des lysosomes dans les cellules polarisées	97
1. Validation du modèle cellulaire	98
2. Expression à l'équilibre des deux molécules à la surface cellulaire	99
3. Dynamique du transport de AC17	100
10. Biogenèse des ribosomes des chloroplastes	107
1. Synthèse en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique	107
2. Obtention d'anticorps spécifiques de certaines protéines	109
3. Immunoprécipitation	109

Conclusion	113
Deuxième partie. – ARCHITECTURE DE LA CELLULE ET SA DIVISION	117
A. Cycle cellulaire	119
Introduction	119
1. Génétique du cycle cellulaire	123
1. Étude du cycle cellulaire chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	123
2. Recherche de mutants cdc (<i>cell division control</i>) du cycle cellulaire	125
3. Étude à température non permissive du phénotype des mutants cdc	126
4. Recherche du moment d'action durant lequel l'expression du gène est nécessaire ..	128
2. Synthèses protéiques au cours du développement de l'œuf	135
3. Mise en évidence des cyclines	141
1. Étude sur l'œuf de <i>Spisula solidissima</i> , la palourde (mollusque)	141
2. Étude sur l'œuf de <i>Xenopus laevis</i> , un crapaud (amphibien)	148
4. Localisation cellulaire des cyclines et des protéines associées	157
1. Localisation des cyclines par immunofluorescence	157
2. Rôle de la cycline A	158
3. Détection de protéines associées aux cyclines	160
5. Universalité et conservation des gènes	165
1. Un gène de levure est interchangeable avec un gène humain	165
2. Comparaison entre des gènes homologues et entre leurs protéines correspondantes ..	167
6. Cyclines de levure	179
1. Les cyclines CLN	179
2. Les gènes CLB	182
3. Comparaisons entre les cyclines de levure	186
Conclusion	193
B. Cytosquelette	195
Introduction	195
1. Analyse biochimique et génétique de la fonction des kinésines	201
1. Étude de la kinésine	202

2. Étude des différents domaines de la chaîne lourde de la kinésine	203
3. Mise en évidence de kinésines impliquées dans le cycle des champignons	204
2. Approche génétique de la fonction des kératines	213
1. Étude des kératines humaines	213
2. Étude des maladies génétiques	215
3. Centre organisateur des microtubules	221
1. Étude de la protéine KAR1	223
2. Étude de la protéine CDC31	227
3. Étude d'autres gènes et protéines associées au SBP	227
Conclusion	233
Index	235

ANDRÉ ADOUTTE
FRANÇOISE BUSSEREAU-PLUNIAN

Biologie cellulaire : approches moléculaires

La biologie cellulaire, essentiellement cytologique à l'origine, tire parti aujourd'hui des développements de la biologie moléculaire, la génétique et la biochimie. Elle aboutit ainsi à une vision intégrée de l'organisation cellulaire.

Plutôt qu'un exposé exhaustif, cet ouvrage présente une série de problèmes, dont les solutions raisonnées font appel à la diversité des mécanismes métaboliques, génétiques et structuraux. Ces problèmes sont basés sur des données réelles et récentes, afin d'appliquer les principes de base de la biologie cellulaire dans leur cadre expérimental.

Trois thèmes centraux sont proposés, du fait de leur importance théorique ou leur actualité scientifique : le transit intracellulaire des protéines, le cytosquelette et les moteurs cellulaires, le cycle cellulaire.

La plupart des problèmes réunis dans cet ouvrage ont été effectivement posés lors d'examens de maîtrise ou de magistère. Leurs solutions constituent des modèles de raisonnement en biologie cellulaire, qui permettront à l'étudiant d'éprouver sa compréhension des principes, des mécanismes et des phénomènes décrits.

Membre correspondant de l'Académie des sciences, André Adoutte est professeur à l'université Paris-Sud (Orsay). Il y assure la direction du département de biologie. Il y enseigne la biologie cellulaire et moléculaire en maîtrise, en magistère et dans différents DEA.

Françoise Bussereau-Plunian est maître de conférences à l'université Paris-Sud (Orsay), où elle enseigne la biologie cellulaire et moléculaire en PCEM et DEUG B, ainsi qu'en licence et maîtrise. Elle poursuit ses recherches au laboratoire Information génétique et développement.

SV

Enseignement
des
Sciences de la Vie

ISBN 2-225-85360-6



9 782225 853609

