

Volume masse et densité d'une cellule

Quand un organisme croît, cela peut être dû à l'augmentation du nombre de cellules ou à l'augmentation de la taille des cellules. Cette question a été discutée au début du 20^{ème} siècle par **T. Boveri (1904)** et les biologistes des plantes. Boveri a étudié la taille des cellules épithéliales et osseuses humaines et a montré qu'il n'y a pas de différence entre les nains et les géants. **EB Wilson** "The cell in development and heredity" considère que la croissance est due à la prolifération cellulaire due à la division **A modes**

Wilson note aussi que la taille des cellules peut être très différente pour des organismes différents. Les plus grandes cellules sont les neurones ou les corps des gros osseux (aureoles) et il y a un rapport 75000 avec les tailles des bactéries (1µm, coccus). Il attribue la taille des cellules à des grandes classes d'organismes: cellules plus grosses que pour les reptiles, les oiseaux ou les mammifères. La différence de taille peut être liée à l'activité. Les animaux paresseux et maladroits (crickets, santarelles) ont des cellules plus grosses que les animaux actifs (abeilles, guêpes) **Wilson**.

La taille des cellules varie fortement entre organismes et entre types cellulaires mais elle change peu dans un type cellulaire donné. Dans un tissu, la taille cellulaire est très uniforme **Ginzberg**. Cela pose la question des mécanismes qui fixent la taille cellulaire et de la raison pour laquelle elle doit être régulée.

Une première réponse est qu'il y a une taille favorable pour une fonction donnée. **Ginzberg et al** donnent 2 exemples. La cellule β du pancréas sécrète de l'insuline et il a été montré que le taux de sécrétion de l'insuline dépend du volume (plus que du métabolisme). Il y a un taux de sécrétion optimal. Les adipocytes synthétisent des lipides et les gros adipocytes ont une activité métabolique plus importante et synthétisent plus de lipides mais elles perdent leur sensibilité à l'insuline et la taille est fixée par un équilibre entre augmentation de volume et perte de sensibilité. D'autres types cellulaires ont une activité métabolique qui dépend de leur taille: hépatocytes et érythrocytes.

Les cellules cancéreuses ont une taille et une hétérogénéité de

taille plus importante que les cellules saines (diagnostic). Dans ces exemples ce n'est pas le microenvironnement qui fixe la taille mais une propriété intrinsèque de la cellule (reliée à sa fonction). Dans les mêmes conditions de culture les cellules saines n'ont pas la même variabilité de taille que les cellules cancéreuses.

D'autres facteurs pourraient réguler l'homogénéité de la taille des cellules comme des signaux extérieurs chimiques (facteurs de croissance) ou des contraintes mécaniques comme le confinement mais souvent ces facteurs ne sont pas obstruants.

La taille d'une cellule varie au cours du cycle cellulaire et deux paramètres sont importants pour fixer la taille : la vitesse de croissance et la longueur du cycle cellulaire. Pour de très nombreux cellules la croissance se fait surtout dans la phase G_2 du cycle cellulaire et c'est donc la durée de la phase G_2 qui est importante **Greenberg**.

Un article classique de **Killander et Zetterberg** montre sur des fibroblastes de souris que la distribution de taille est plus étroite à l'entrée de la phase S (après la phase G_2) qu'au début de la phase G_2 . Il montre aussi que la durée de la phase G_2 dépend de la masse initiale de la cellule. Cela suggère que l'entrée en phase S se fait pour une taille déterminée (avec du bruit) et que la cellule est un organe qui fixe la durée du cycle cellulaire en mesurant sa taille. Avec ce mécanisme les cellules plus petites passent plus de temps en phase G_2 que les cellules plus grosses qui doivent croître moins. Ce n'est pas le seul mécanisme possible : la cellule peut ajuster un volume fixé au volume initial (adder), ou fixer un temps de croissance (timer)⁽²⁾

La détermination du volume de la cellule requiert donc la régulation de la croissance et de la durée du cycle cellulaire (de la phase G_2) et ces deux paramètres sont couplés. Le volume dépend aussi de l'environnement de la cellule par exemple de la force tonique du milieu extérieur. On peut ainsi perturber l'environnement en faisant des chocs hypoosmotiques ou hyperosmotiques et la cellule change de volume.

Tous ces processus nécessitent que la cellule "mesure sa propre taille". 3 types de mécanismes sont illustrés sur la figure **Amodeo**.

- Une mesure géométrique par exemple en comparant la surface au volume ou la taille à un gradient de concentration interne

- une mesure externe par des contraintes externes qui affectent la croissance
 - une mesure par titrages de solutés en les comparant à une échelle interne.
- Nous venons des exemples de croissance régulée par la comparaison des concentrations entre une protéine qui croît avec le volume et une protéine dont la masse ne dépend pas ou peu du volume.

La réponse à un choc osmotique est une mesure externe (l'équilibre avec la pression osmotique externe). (EAT - Ethel Ashby Tumber).

Le but de ce cours est de discuter du point de vue d'un physicien les mécanismes et les paramètres qui fixent le volume d'une cellule. Nous discuterons 3 paramètres qui sont reliés : le volume de la cellule, la masse sèche de la cellule qui est la masse de toutes les molécules en solution dans l'eau et la densité de masse sèche qui est le rapport entre ces deux quantités. Nous discutons ensuite la croissance de la cellule c'est à dire la variation du volume au cours du temps et la durée du cycle cellulaire et les mécanismes de régulation. Je considérerai essentiellement les cellules eucaryotes (manifères) et à cause des contraintes de temps je ne discuterai que les cellules eucaryotes. Certains résultats peuvent cependant être appliqués aux bactéries et aux levures. Le dernier cours sera consacré au couplage entre croissance et métabolisme

I. Mesure du volume et du taux de croissance d'une cellule

1. Expériences

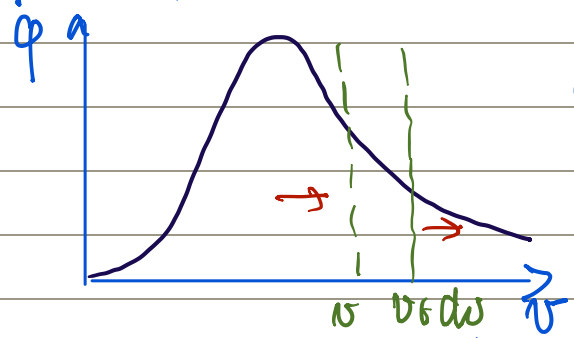
- De très nombreuses méthodes physiques permettent de mesurer le volume d'une cellule. Je vais en présenter 3 qui mesurent directement le volume de manière précise sans hypothèse sur la densité.
- Exclusion de fluorescence : L'idée est de mettre dans le milieu environnant la cellule un composé fluorescent qui ne pénètre pas dans la cellule. L'intensité de fluorescence "manquante" est proportionnelle au volume de la cellule. Gray, Cadair
- Résonateur mécanique. L'idée est de mesurer la masse de la cellule avec un résonateur avec une précision du femtogramme en utilisant des ondes microfluidiques. Le point est diminué de la force d'Archimède. En variant la densité de fluide autour de la cellule, on mesure le volume de la cellule et sa densité de masse on écrit

que la masse effective mesurée par le résonateur est $m_{eff} = m - \rho_f V$
 où ρ_f est la densité de masse du fluide. Cette masse s'annule si
 $\rho = \frac{m}{V} = \rho_f$ soit la densité de la cellule et la pente $m_{eff}(v)$ donne
 le volume V **Godwin, Glover, Bryson (S. Marullo)**

Diffusion Raman NORI: La diffusion Raman permet de mesurer après un
 calibrage approprié les cartes de densité de masse de l'eau, des lipides et des
 protéines qui forment 90% de la masse de la cellule. On utilise une microscopie
 à diffusion Raman stimulée et la carte de densité est à 3 dimensions **Oh et al.**

2. Méthode statistique du taux de croissance **Collins et Richmond**

Si on étudie une population de cellule non synchronisées, le taux de
 croissance volumique $\frac{1}{V} \frac{dV}{dt}$ est différent du taux de division h . Collins
 et Richmond présentent une méthode statistique pour mesurer ce taux à
 partir de 3 distributions de taille: la distribution de volume de la population,
 $\phi(t, v)$, la distribution de volume des cellules qui viennent de se diviser
 $\phi_n(t, v)$ et la distribution de cellules trémittiques qui vont se diviser
 $\phi_m(t, v)$. Toutes ces distributions croissent exponentiellement comme e^{ht} .



$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial v} \left(\phi v \frac{dv}{dt} \right) = \underbrace{h}_{\text{ajoute cellules}} \frac{d\phi_n}{dt} - \underbrace{h}_{\text{diminue cellules}} \frac{d\phi_m}{dt}$$

soit $\frac{\partial}{\partial v} \left(\phi v \frac{dv}{dt} \right) = h [\phi_n - \phi_m - \phi]$

et en définissant $\Phi = \int_0^v \phi dv$ $\phi v \frac{dv}{dt} = h [\Phi_n - \Phi_m - \Phi]$

On calcule ainsi $\frac{1}{V} \frac{dV}{dt}$ si on connaît les 3 distributions **Tzuel et al.**

II Densité de masse sèche des cellules

la densité de masse sèche est le rapport de la masse sèche au volume
 $\rho_s = \frac{M_s}{V}$. De nombreux résultats montrent que ρ_s varie peu au cours du
 cycle V cellulaire (il y a des exceptions) **Liu et al.**

la densité ρ_s mesure l'encasement dans la cellule et affecte de
 nombreux paramètres: la cinétique des réactions chimiques, l'assemblage
 et le désassemblage des protéines, le métabolisme ou même le

Rappair surface/volume et tous les phénomènes membranaires **Nernst et Amon.**

Des changements de densité peuvent se produire en réponse à un changement de l'environnement mais aussi dans un certain nombre de conditions physiologiques : la densité décroît quand la cellule entre en sénescence mais croît en cas d'apoptose. elle peut changer lors de la différenciation cellulaire ou du changement de l'état métabolique. La cellule doit donc réguler sa densité. Un exemple simple est la réponse de la cellule à un choc osmotique ou plus haut. Dans un choc hypertonique la densité croît mais la cellule importe des ions pour contrebalancer cet effet osmotique (ou de glycérol pour les levures).

III Physique du volume cellulaire

La réaction du volume cellulaire à une perturbation extérieure dépend beaucoup de l'échelle de temps à laquelle on la mesure :

- Les équilibres mécaniques sont instantanés (pas d'inertie)
- Les équilibres osmotiques (échanges d'eau et d'ions) se font sur des échelles de temps de l'ordre de la minute. A ces échelles, on fait considérer que la composition de la cellule est constante et le volume instantané est fixé par l'équilibre osmotique. Ces effets osmotiques sont bien décrits par le modèle "Pompes et fuites" (Pump and leak) de **J. Hoffman et D. Tosteson**. L'article historique de **Kay et Blaustein** donne un historique intéressant tout en regrettant que ce modèle n'ait pas la même reconnaissance que celui de Hodgkin et Huxley (**Kay et Blaustein**)
- A temps plus long la croissance cellulaire doit être prise en compte et le couplage avec le cycle cellulaire. Le volume suit alors adiabatiquement la croissance en s'adaptant. La cellule a aussi une réponse active pour répondre aux perturbations extérieures **Cadant et al.**

Deux questions qui ont été abordées dès les premiers travaux **Hertwig et Borov** sont celles de la fluidité et du volume du noyau. Au départ du temps le volume du noyau est proportionnel.

nel à celui de la cellule : le rapport karyoglasionique intracellulaire par Hertwig est constant. Et les deux volumes sont proportionnels à la glorie.

Une exception intéressante concerne les premières divisions de l'oeuf de C. Elegans M. Weiss. Les cellules ne croissent pas mais se divisent dans la coquille et le volume à la même division est $V/2^n$. Le volume du noyau n'est pas proportionnel à celui de la cellule mais plutôt à son aire

1. Pour les amphibiens
2. M. Coentine : traitement du bruit
3. Échanges d'ions quelques minutes