

CYCLE CELLULAIRE

« Le rêve d'une bactérie c'est de devenir deux bactéries ! »

Chez les procaryotes, dès qu'il y a à manger, le but c'est de se diviser.

Chez les eucaryotes → Il faut recevoir un ordre pour se diviser, ordre qui passe par **une cascade d'évènements**.

Le rôle de division chez l'être humain est d'autant plus compliqué qu'une cellule (la cellule-œuf) devra donner 10^{14} cellules soit 2 années lumières d'ADN.

Ces chiffres sont là pour que vous compreniez que la division cellulaire est un **processus complexe et bien fait**. Il permet non seulement de générer des cellules mais aussi d'en assurer la diversité.

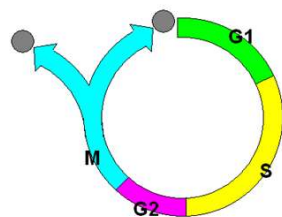
Le cycle cellulaire c'est ce qui permet d'arriver à la division, en passant par plusieurs étapes : **G1 → S → G2 → M**.

G1 → Préparation à la division

S → Réplication de l'ADN

G2 → Préparation à la mitose

M → Mitose



I. Les points de contrôle du cycle cellulaire

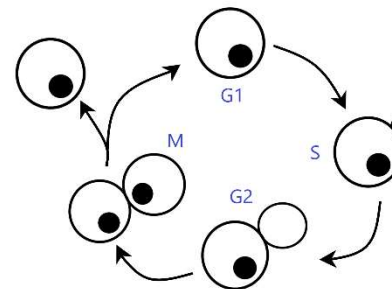
Il y a des points de contrôles (= checks points), il y en a partout et on ne les connaît pas tous. Pour que la cellule décide de se diviser, elle **se pose des questions** (généralement en fin de G1, car la duplication S nécessite beaucoup de choses) : Assez de réserve énergétique ? assez d'espace ? est-ce qu'elle a reçu l'ordre ? → Si tout est ok alors elle entame son cycle mais à la fin de chaque étape elle vérifie que tout se soit bien passé.

→ En fin de G1 elle fait le point, voit si tout s'est bien déroulé avant de rentrer en S. **S'il y a un problème elle ne part pas en S.**

Imaginons que la réplication soit bloquée en phase S à cause d'un problème (irradiation donnant une lésion de base, coupure simple brin, coupure double brin etc...), la cellule verra que la réplication s'est arrêtée et elle activera un check point, qui arrêtera le cycle complet. **On a constamment des lésions cellulaires**, à cause des UV, des rayons X...

Nous allons étudier notamment les lésions induites par les rayons UV (type soleil). Ces lésions sont majoritairement des pontages entre les bases d'ADN, formant des

dimères de pyrimidine, en gros, 2 pyrimidines (C ou T) consécutives d'un même brin d'ADN vont se lier par des liaisons covalentes, modifiant la structure 3D de l'hélice et empêchant la transcription de l'ADN !



On sait que **chaque phase du cycle cellulaire est définie par une morphologie différente** de la levure. On peut donc les irradier n'importe quand et situer le stade dans lequel elles se trouvent. Dans la cellule normale (sans mutation), qu'on irradie, on remarque que la cellule active son checkpoint,

s'arrête, **répare les lésions** et reprend son cycle. **Le cycle ne reprend que si les lésions sont réparées !**

Cas des cellules mutées **RAD** : Si on prend des cellules mutées RAD (ce sont des cellules qui ont un taux de survie faible par rapport aux cellules sauvages lorsqu'elles sont irradiées par des UVs), on remarque qu'elles finissent par mourir la majorité du temps. On prend pour détailler deux mutants RAD : RAD52 et RAD9.

A- RAD52

-On irradie une cellule **mutante RAD52** (cellule dont le gène RAD52 est muté)

-On s'aperçoit **qu'elle ne reprend pas ses divisions** après l'activation du checkpoint **contrairement à la cellule normale**.

-Elle finit par mourir.

Le check-point fonctionne correctement, puisque le cycle s'est arrêté, empêchant les cellules déficientes de proliférer. Mais la cellule **n'a pas pu réparer** les lésions causées par l'irradiation et a opté pour l'apoptose (mort qui équivaut à un suicide).

👤 Le check-point fonctionne (alors que RAD52 ne fonctionne pas) donc **RAD52 n'est pas impliqué dans le check-point !**

👤 La cellule se suicide, elle ne se répare pas, c'est donc le mécanisme de réparation qui est déficient ! → Le gène RAD52 code pour une protéine qui agit dans la **réparation de l'ADN** lésé par une irradiation.

CYCLE CELLULAIRE

B- RAD9

- On irradie une cellule mutante RAD9.
- On s'aperçoit que la cellule **ne s'arrête pas en G1** malgré l'irradiation et donc la présence de lésions.

La cellule mutante RAD9 **ne reconnaît pas le dommage** causé par l'irradiation. Elle est peut-être capable de réparer la lésion, mais elle est incapable d'activer le checkpoint : elle continue le cycle cellulaire mais elle accumule plein de défauts, et finalement la colonie meurt.

- ➔ La cellule n'arrête pas de se diviser malgré les lésions, le **check-point est défaillant**, donc RAD9 code pour une protéine impliquée dans le check-point !
- ➔ La cellule ne se répare pas, mais pas parce que le système de réparation est défaillant ! Celui-ci n'est pas activé car le check-point (défaillant) n'a pas pu détecter la lésion !

Les scientifiques se sont demandé si ces gènes (surtout RAD9) étaient valables pour des dommages autres que des dimères de pyrimidine en utilisant, plutôt que des UV, des radiations ionisantes (RI) qui créent des cassures dans les brins d'ADN. Ces lésions bloquent le cycle des cellules sauvages entre G2 et M.

➔ Ils ont irradié des cellules mutées RAD9 avec ces RI.

➔ Les cellules ne s'arrêtent pas en G2 malgré les RI et donc les lésions.

- ➔ Tout comme précédemment, la cellule ne s'arrête pas malgré les lésions, **le check-point est défaillant**, RAD9 a un rôle dans ce check-point G2/M.

Enfin, ils ont induit un dernier type de lésion, grâce au MMS (*pas la photo que tu reçois par message hein*), un agent alkylant (ça ajoute un résidu alkyl à l'ADN et empêche la réplication de celui-ci). Dans une cellule normale, une telle lésion bloque le cycle pendant la phase S.

➔ Ils ont irradié des cellules mutées RAD9 avec ces RI.

➔ Les cellules ne s'arrêtent pas en S malgré les RI et donc les lésions.

- ➔ Tout comme précédemment, la cellule ne s'arrête pas malgré les lésions, **le check-point est défaillant**, RAD9 a un rôle dans celui-ci.

On va étudier d'autres mutants comme celui du gène CDC9. Ce gène du cycle est impliqué dans la réplication (il code pour une ligase nécessaire à la maturation des

fragments d'Okazaki (les fragments obtenus lors de la réplication du brin d'ADN qui est dans le mauvais sens, vous verrez ça en biomol)). Cette mutation a comme particularité de faire **s'arrêter le cycle cellulaire en phase S**. Comme il s'agit d'une mutation (≠lésion) de l'ADN, le dommage n'est **pas réparable** : le défaut est **permanent**, le **cycle ne peut** normalement **pas reprendre**.

➔ Les scientifiques ont irradié une cellule mutante CDC 9 (dommage irréparable) qui était aussi mutante RAD9

➔ La cellule ne s'est pas arrêtée en S, malgré la défaillance de CDC9.

- ➔ Encore une fois, la cellule ne s'arrête pas malgré cette mutation endogène, RAD9 a donc aussi un rôle dans ce check-point.

En résumé :

Cellules sauvages :

- 👤 Irradiation UV : blocage transition G1/S
- 👤 Irradiation RI : blocage transition G2/M
- 👤 Agent alkylant : blocage pendant S
- 👤 Réplication incomplète/Dommage endogène : blocage pendant S

Cellules mutés RAD9 :

- 👤 Irradiation UV : progression en S (pas de blocage)
- 👤 Irradiation RI : progression en M (pas de blocage)
- 👤 Agent alkylant : progression en S (pas de blocage)
- 👤 Réplication incomplète/Dommage endogène : progression en S (pas de blocage)

➔ **Le gène RAD9 agit donc dans les 4 types de dommages (pontages, cassures, blocages et réplication incomplète) !**

Nous avons dit plus tôt que lors de ces check-points, la cellule se posait des questions. Voici les informations que la cellule vérifie pour 2 exemples de check-points :

G1/S	G2/M
Taille de la cellule	Taille de la cellule
Endommagement de l'ADN	Endommagement de l'ADN
Signalisation	Complétion de la réplication
Nourriture	

CYCLE CELLULAIRE

II. La transition G1/S

Comment fait-on après l'ordre pour passer (ou non) cette transition ?

→ On utilise des couples de protéines kinases : cyclines/CDK.

CDK = Cyclines Dépendant Kinases. Ce sont des kinases qui doivent être associées aux cyclines pour pouvoir phosphoryler un substrat précis.

Il existe plusieurs couples qui agissent comme des pédales d'accélérateurs sur la transition, ils la permettent.

A l'inverse, on a des pédales de frein (cf plus loin), qui bloquent la transition à des étapes spécifiques et donc le cycle.

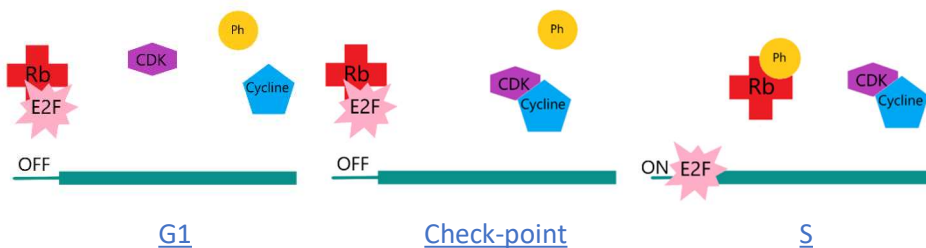
A- Les accélérateurs

Dans cette transition G1/S, agissent successivement deux couples cyclines/CDK : Cycline D/CDK4 ou 6 puis Cycline E/CDK2.

Ces couples sont les cibles de régulations par les voies de signalisation avec les **facteurs de croissances**, les cytokines etc...

Mécanisme générale :

- Notre couple **cycline/CDK** se forme
- Activation de la fonction kinase de la **CDK** qui va phosphoryler le gène **Rb**. Chez l'humain le rôle de Rb est de fixer le facteur de transcription **E2F** pendant la G1. Donc tant que Rb est actif, il fixe E2F et si E2F est libéré alors la cellule se retrouve en phase S.
- En phosphorylant Rb, la CDK l'inactive (une phosphorylation n'équivaut pas forcément à une activation).
- E2F se retrouve donc libéré de Rb.
- La cellule passe en phase S.



On vient de voir le fonctionnement général des couples cycline/CDK. Le problème est que pour être inactivé, il ne suffit pas que Rb soit phosphorylé, il faut qu'il soit **hyperphosphorylé**. C'est-à-dire qu'il doit être phosphorylé deux fois, donc par deux CDK différentes. Heureusement, on a 2 couples impliqués dans la transition G1/S !

Mécanisme détaillé :

Petit mnémo pour retenir les couples et l'ordre. La cycline D avant la E, c'est l'ordre alphabétique.

*Et la cycline D avec CDK 4 ou 6 vous pouvez retenir en vous disant qu'en médecine la **D4** est la **6^{ème}** année.*

*Enfin la cycline E est associée avec CDK2 parce que dans **deeeeeeux** on entend surtout le E.*

1) Cycline D/CDK4 (ou 6) :

→ Le couple Cycline D/CDK4 se forme.

→ Il est phosphorylé par la protéine CAK et donc activé.

→ CDK4 phosphoryle une première fois Rb (mais ce n'est pas suffisant).

2) Cycline E/CDK2 :

→ Le couple se forme.

→ Il est phosphorylé par CAK et donc activé

→ CDK 2 phosphoryle donc une 2^{ème} fois Rb qui libère enfin E2F.

Petit résumé :

Le couple cycline D/CDK 4 (ou 6) se forme → il est phosphorylé et activé par CAK → CDK 4 phosphoryle Rb → Le couple cycline E/CDK 2 se forme → il est phosphorylé et activé par CAK → CDK 2 **RE**phosphoryle Rb → Rb est inactivé et libère E2F → Entrée en S

CYCLE CELLULAIRE

B- Les freins

Nous avons parlé des mécanismes qui déclenchent la transition G1/S, cependant d'autres vont la bloquer : p15/p16 et p21/p27, ce sont des CDKi (=CDK inhibitors). Ils inhibent la transition en s'opposant à différentes étapes.

→ p15/p16 bloquent la formation du couple Cycline D/CDK4

→ p21/p27 bloquent la phosphorylation des deux couples par CAK.

Les protéines p15/16/21/27 (le numéro correspond à leur poids moléculaire) etc sont très importantes dans les cancers notamment, si elles sont défaillantes, la cellule ne peut pas arrêter son cycle et continue à proliférer malgré les dommages. Les CDKi sont en réalité elles-mêmes contrôlées par d'autres éléments.

→ p16 est inhibé par l'oncogène BMI1. Oncogène car si le frein p16 est bloqué la transition se fait et donc la prolifération augmente. (*il faut surtout comprendre le principe de l'oncogène*)

→ p21 est quant à lui plutôt activé par p53 (celle-ci elle est importante)

C- Les altérations

On peut avoir différentes altérations mais toutes aboutissent au même résultat : une suractivation de la prolifération !

→ Amplification de cycline D :

+ de cycline D = + de couple cycline D/CDK 4 = + de phosphorylation de Rb et donc + de libération de E2F.

→ Altération de p16 :

P16 est un frein donc si on altère le frein la voie n'est pas inhibée et est donc **suractivée**.

→ Altération de p21 :

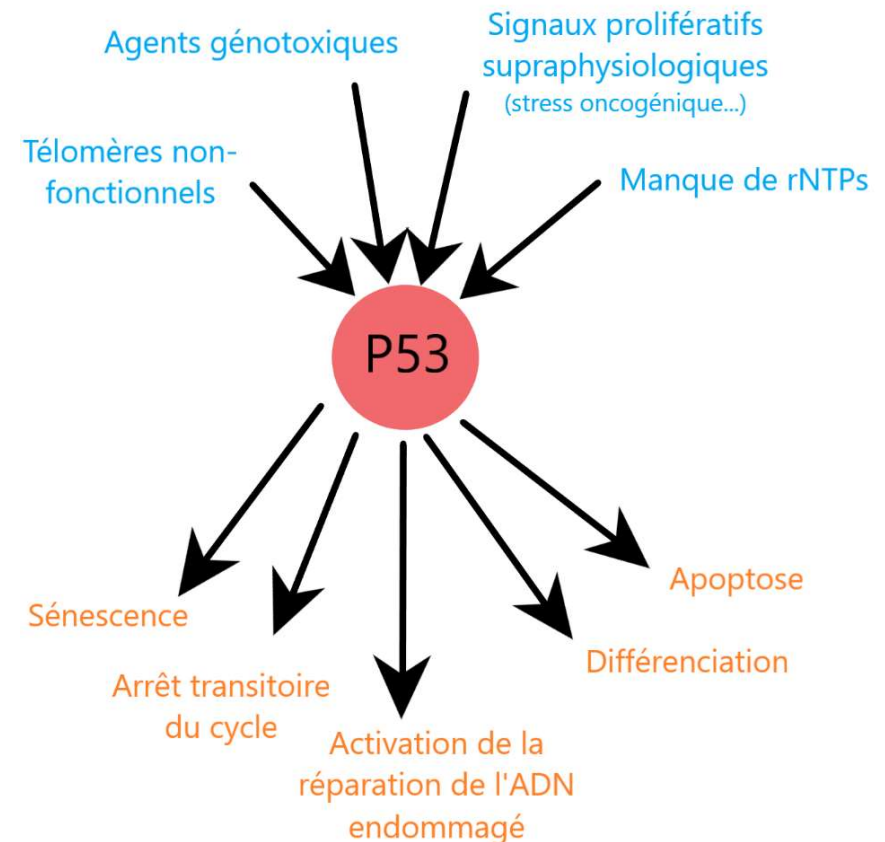
Tout comme p16, p21 est un frein donc s'il est altéré, **suractivation**.

III. L'importance de p53

A- Les rôles

p53 est un élément essentiel de la lutte contre tous les stress et surtout contre les cancers. C'est un grand suppresseur de tumeur et **il est muté dans 50% des cancers**.

p53 est un facteur de transcription qui intègre de nombreuses voies de signalisation de réponse au stress (les bleus) et entraîne, en fonction, la réponse adaptée (en orange), qui démarre avec l'activation d'un gène, p21 pour l'arrêt du cycle par exemple



CYCLE CELLULAIRE

Il existe plusieurs voies d'activation de p53, dont 2 principales :

→ En présence d'un agent génotoxique :

En cas de présence d'agents génotoxiques, la voie des kinases effectrices CHK1/CHK2 (vous la détaillerez plus sur le cours de la signalisation) est activée. Cela va permettre d'activer p53 en la phosphorylant.

→ En cas d'une suractivation d'oncogènes :

P14/ARF est surexprimée et va aller inhiber MDM2 (inhibiteur de p53 vu à la partie d'après). Donc on a **une inhibition de l'inhibiteur de p53**, cela va donc permettre la **stabilisation de p53** (p53 est continuellement synthétisé et éliminé par MDM2, mais dans ce cas sa quantité est stable car plus de MDM2).

→ P53 sert aussi de jauge de niveau de stress. Plus P53 s'accumule, plus la cellule sait qu'elle subit un stress important !

B- La régulation

MDM2 régule p53 qui régule p21 qui régule CAK qui régule les couples cyclines/CDK qui régulent Rb qui régule E2F.

MDM2 est une **ubiquitine ligase**. C'est un **inhibiteur de la stabilité de p53**. En temps normal, p53 est synthétisé dans le noyau, mais MDM2 qui s'y balade, kidnappe p53 dès qu'il le rencontre, lui accroche une ubiquitine et l'emmène dans le cytoplasme pour qu'il soit inactivé dans le protéasome (un recoin du cytoplasme qui détruit les protéine ubiquitinées), donc en temps normal, p53 est inactivé juste après sa synthèse. Cependant dans le cas où la cellule détecte un stress oncogénique, elle va appeler p14/ARF qui va venir emmener MDM2 dans le nucléole (un petit coin du noyau loin de p53). p53 se retrouve alors libre d'agir dans le noyau !

P14/ARF est un inhibiteur de MDM2 !

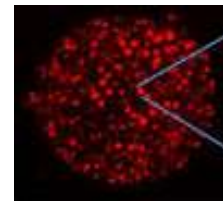
IV. La réplication

On a fini la transition G1/S on est en S. Maintenant la cellule doit répliquer son ADN. Pour ça il lui faut des **origines de réplication** (des départs). Si on n'utilisait qu'une seule origine par brin d'ADN pour répliquer notre génome il nous faudrait plusieurs années. Il faut donc **plusieurs origines**.

GENOME	TAILLE	VITESSE	DUREE	ORIGINE	DUREE AVEC 1 ORIGINE
E. Coli	4,6 Mpb	60 kb/min	40 min	1	Compatible
Levure	14 Mpb	3 kb/min	20 min	330	40 h
Humain	3 Gpb	3 kb/min	7 h	30 000	>1ans

Ce tableau est juste là pour illustrer (vraiment ne m'apprenez pas ça). On remarque que plus un organisme est gros et évolué, plus la réplication est longue, donc le nombre d'origines de réplication augmente, pour aller plus vite !

A- Les foyers de réplication



Sur cette image, on a réussi à marquer les origines de réplication de l'ADN. Elles sont réparties dans l'ensemble du noyau **en foyers**.

Chez la levure, on retrouvera des **séquences d'ADN spécifiques** au niveau des origines de réplication.

Ce n'est pas du tout le cas **chez l'Homme** : il n'y a **pas de séquences consensus**. On ne sait pas encore exactement comment fonctionnent les origines de réplication au niveau du génome humain, mais on sait que des **cellules différenciées différentes ne vont pas utiliser les mêmes origines de réplication**.

Par exemple un mélanocyte et un myocyte n'auront pas des origines de réplication identiques.

On sait aussi que **la localisation de ces origines sur notre génome va varier** au cours du **développement** et de la **différenciation**. C'est à dire que les origines de réplication qui étaient utilisées par nos cellules quand on était embryon ne sont pas les mêmes origines que nous utilisons maintenant !

La détermination des origines de réplication, retrouvées environ tous les 100kpb, n'est pas codée génétiquement, mais plutôt épigénétiquement (ce n'est pas l'info qui est contenue dans le chromosome c'est plutôt la façon dont ce K se dispose, l'état de la chromatine (vous verrez ça dans le cours sur le noyau)). Ce processus épigénétique peut tout de même être déprogrammé.

CYCLE CELLULAIRE

B- La régulation des origines de rep en fonction du développement

Dans le développement précoce, on n'a **pas de transcription** (rappel, c'est le passage d'ADN à ARN) car l'ovocyte a déjà un stock d'ARN messager de nombreuses protéines. Celle-ci ne commence qu'à partir de la **gastrulation**.

Suite à la fécondation, les divisions vont être **extrêmement rapides**, les cycles cellulaires effectués ne vont être qu'une alternance de phase S et M (il n'y a presque pas de phases G1 et G2 car il n'y a presque rien à synthétiser), cela dure jusqu'à la gastrulation. Quand on commence à différencier les tissus, **on utilise moins d'origines** et des origines différentes. → Le nombre d'origines diminue avec la différenciation !

Le plasmide cependant, n'aura **qu'une seule** origine de réplication pouvant se placer **n'importe où**, sauf si un facteur de transcription se fixe quelque part sur ce plasmide, dans ce cas, l'origine de rep. sera préférentiellement associée à celui-ci.

C- Initiation de la réplication

La réplication ne doit avoir lieu **qu'une seule fois par cycle cellulaire**, c'est pour ça que l'on a besoin du **permis de répliquer**, donné à un moment précis du cycle cellulaire. Le permis de répliquer est retiré directement après : cela permet **d'éviter la re-réplication**.

La re-réplication crée une **instabilité** du génome très forte. Il existe donc des mécanismes stricts qui empêchent les origines d'être utilisées plusieurs fois lors de la même phase S.

Le permis de répliquer :

→ D'abord, on observe la fixation d'un complexe multi-protéique sur l'ADN avant la phase S, c'est le complexe ORC (Origine Replication Complex), il va y avoir ensuite la fixation sur ce complexe d'une première molécule nommée CDT1 et ensuite une deuxième protéine nommée CDC6.

Une fois que ce complexe **ORC – CDT1 – CDC6** est formé on obtient la permission de répliquer. Cela se traduit par l'activation des hélicases, dont le rôle est d'ouvrir la molécule d'ADN pour initier la réplication (vous verrez bien toutes les étapes de la réplication en biomol). Elles se mettent en place, ouvrent l'ADN au niveau de l'origine de réplication, l'ADN polymérase arrive et avec elle, la **gémimine** : c'est elle

qui va empêcher cette origine de réplication de s'ouvrir une deuxième fois, afin d'éviter la re-réplication. La gémimine a comme rôle de **retirer CDT1**, le complexe ORC-CDT1-CDC6 est divisé, la permission de réplication n'est plus. La fourche de réplication ne s'ouvrira pas une seconde fois pendant cette phase S.

- ☞ Certaines cellules anormales vont **sur-exprimer CDT1** (comme les cellules cancéreuses, notamment dans les cancers colo-rectaux) : la réplication va être anarchique, on pourra observer une re-réplication au niveau des origines de réplication.
 - ↳ Cependant, si on sur-exprime la gémimine dans cette situation, on se rend compte que tout revient à la normale. Cela confirme son rôle inhibiteur de CDT1.
- ☞ Par ailleurs, on se rend compte que la **gémimine** est parfois **sous exprimée** dans les cancers.
 - ↳ Au final, qui dit moins de gémimine, dit moins de molécules pour retirer CDT1 et donc + de CDT1.

D- Contrôle de la méiose

CDC6 intervient aussi durant la maturation des ovocytes pour leur permettre d'être fécond lors de la rencontre avec un spermatozoïde. On s'est aperçu en 1967 (ballec des dates) qu'il existait un facteur qui régulait la capacité de réplication de l'ADN dans les ovocytes, et il s'agit bien de CDC6. CDC6 a donc un rôle crucial en permettant à l'ovocyte d'être compétent pour la fécondation, via le permis de répliquer.

Pour finir une dédicace aux pouilleux, c'est votre année !

Et comme une promesse est une promesse, petite dédicace aussi à Côme !

Le tutorat est gratuit, toute vente ou reproduction est interdite.