

MORT CELLULAIRE



DIVINE BIOCELL' - CHIARYOTYPE



I solemnly swear
I am up to no good.

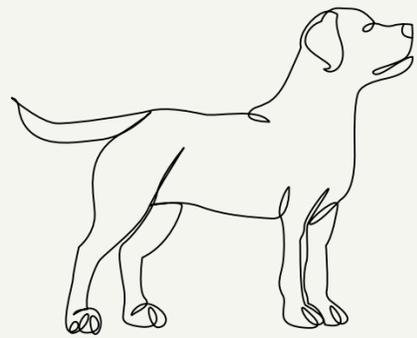


APOPTOSE



PROGRAMMÉE +++

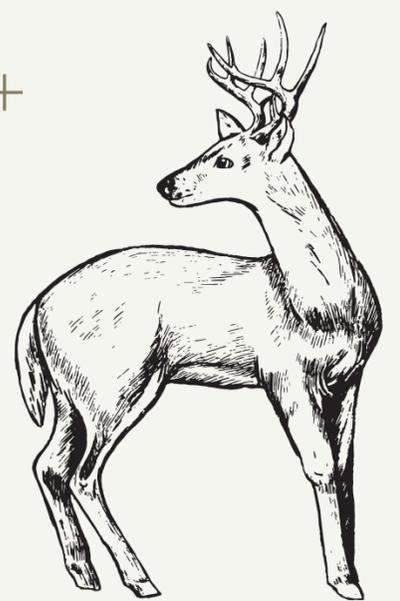
"Suicide cellulaire"



NÉCROSE



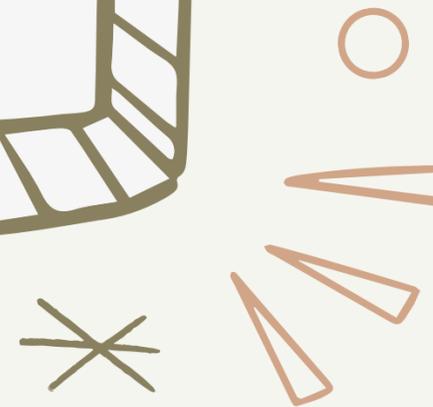
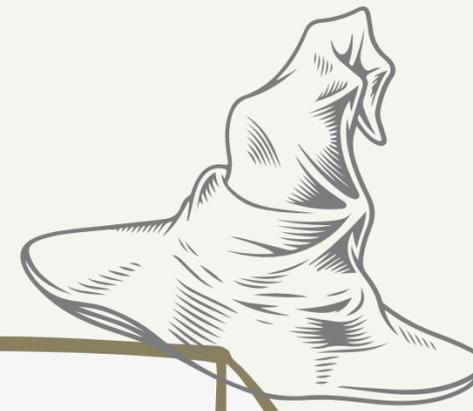
ACCIDENTELLE +++



La biocell c'est
la meilleure
matière :)

SOMMAIRE

- 1 APOPTOSE
- 2 NÉCROSE
- 3 DIFFÉRENCIATION ENTRE
CELLULES APOPTOTIQUES ET
NÉCROTIQUES



CARACTÉRISTIQUES D'UNE CELLULE APOPTOTIQUE

DÉCLENCHÉE DE MANIÈRE
EXTRA OU INTRA CELLULAIRE

PROCESSUS ATP-DÉPENDANT
+++

ABSENCE DE RÉPONSE
INFLAMMATOIRE

PROGRAMMÉE +++

ÉLIMINATION PAR
PHAGOCYTOSE



1

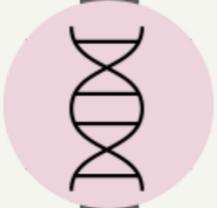
Q
C
M
+
+
+



Diminution du volume cellulaire et condensation +



Condensation de la chromatine en forme de croissant



ADN fragmenté



Création de corps apoptotiques par fragmentation



Membrane intacte (pas de libération de contenu) ++

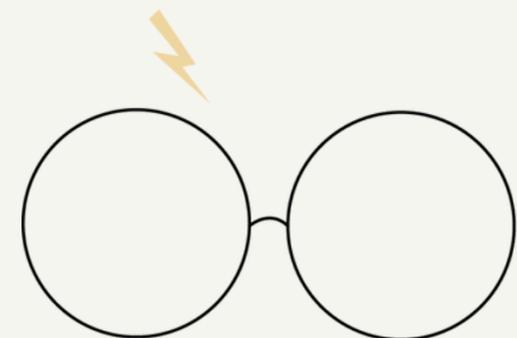


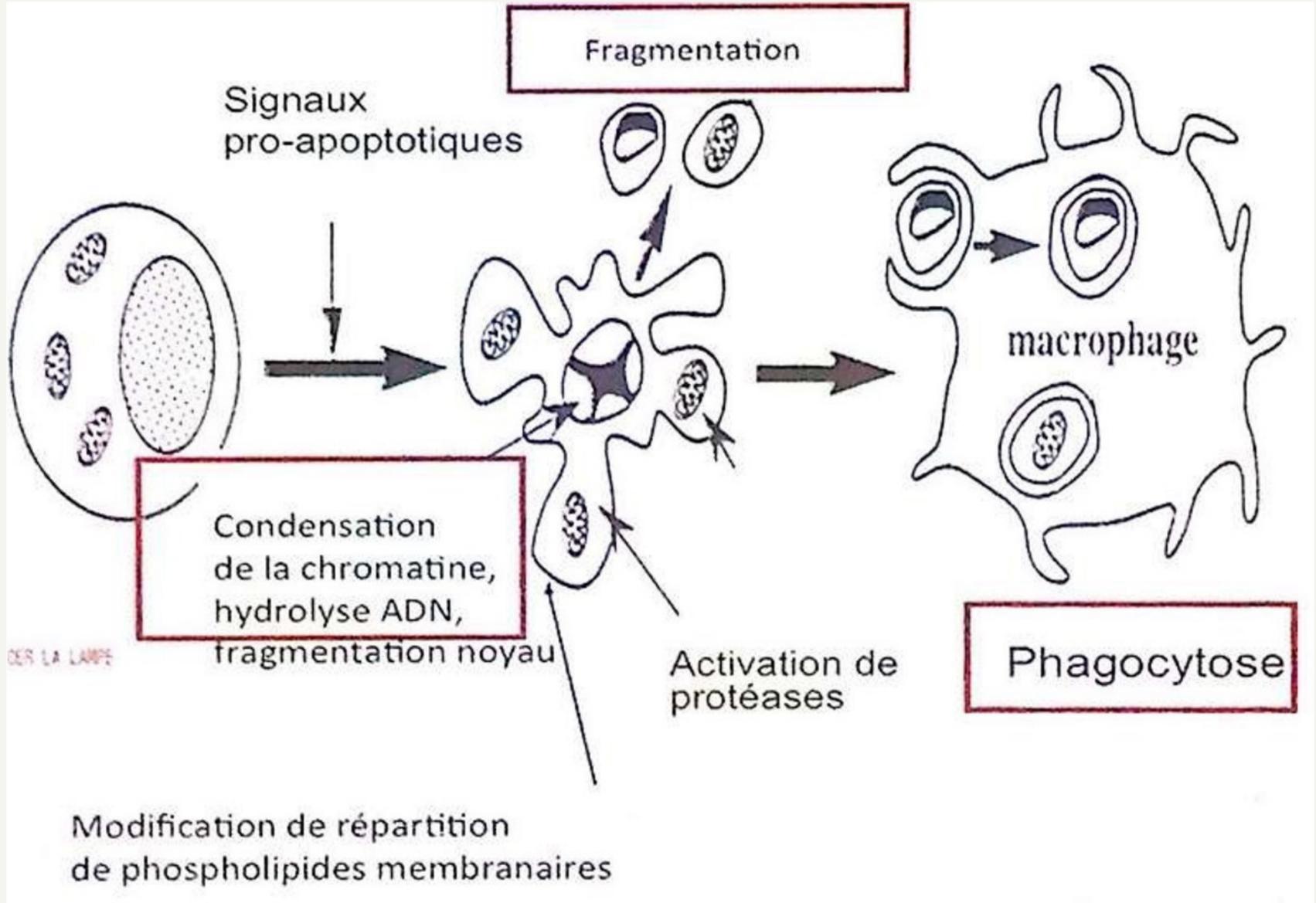
Implique une cellule isolée



Généralement, phénomène physiologique

CARACTÉRISTIQUES D'UNE CELLULE APOPTOTIQUE





GAUCHE : cellule normale

MILIEU : cellule apoptotique

DROITE : macrophage

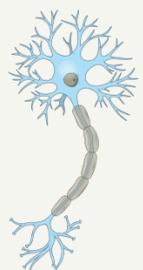


L'APOPTOSE EN PHYSIOLOGIE

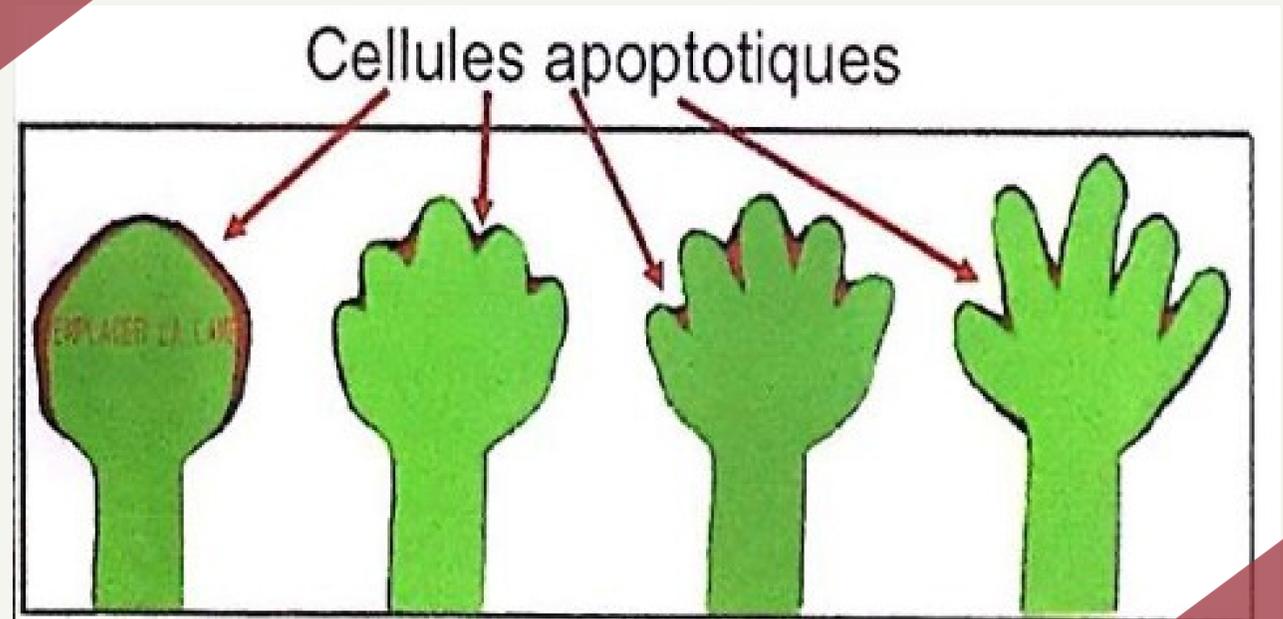
DÉVELOPPEMENT NORMAL DE L'EMBRYON



Modelage des doigts



Sélection neuronale

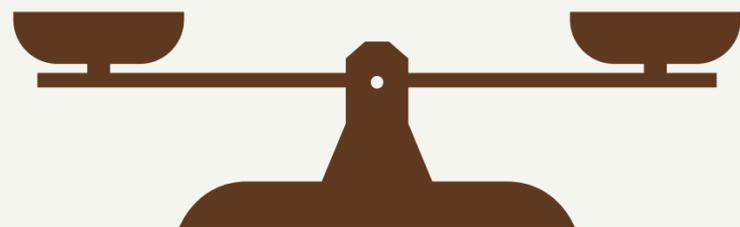


L'APOPTOSE EN PHYSIOLOGIE

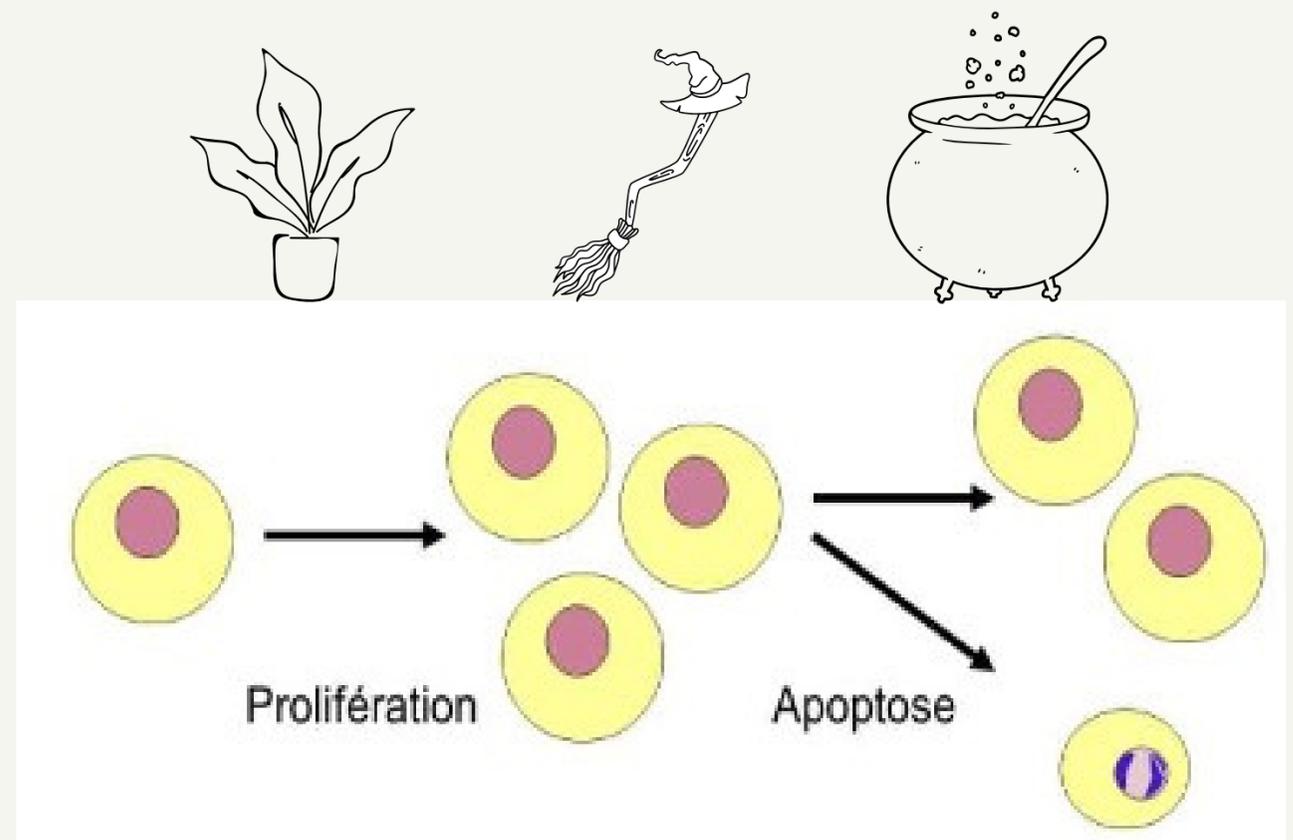
HOMÉOSTASIE CELLULAIRE

Prolifération

Apoptose

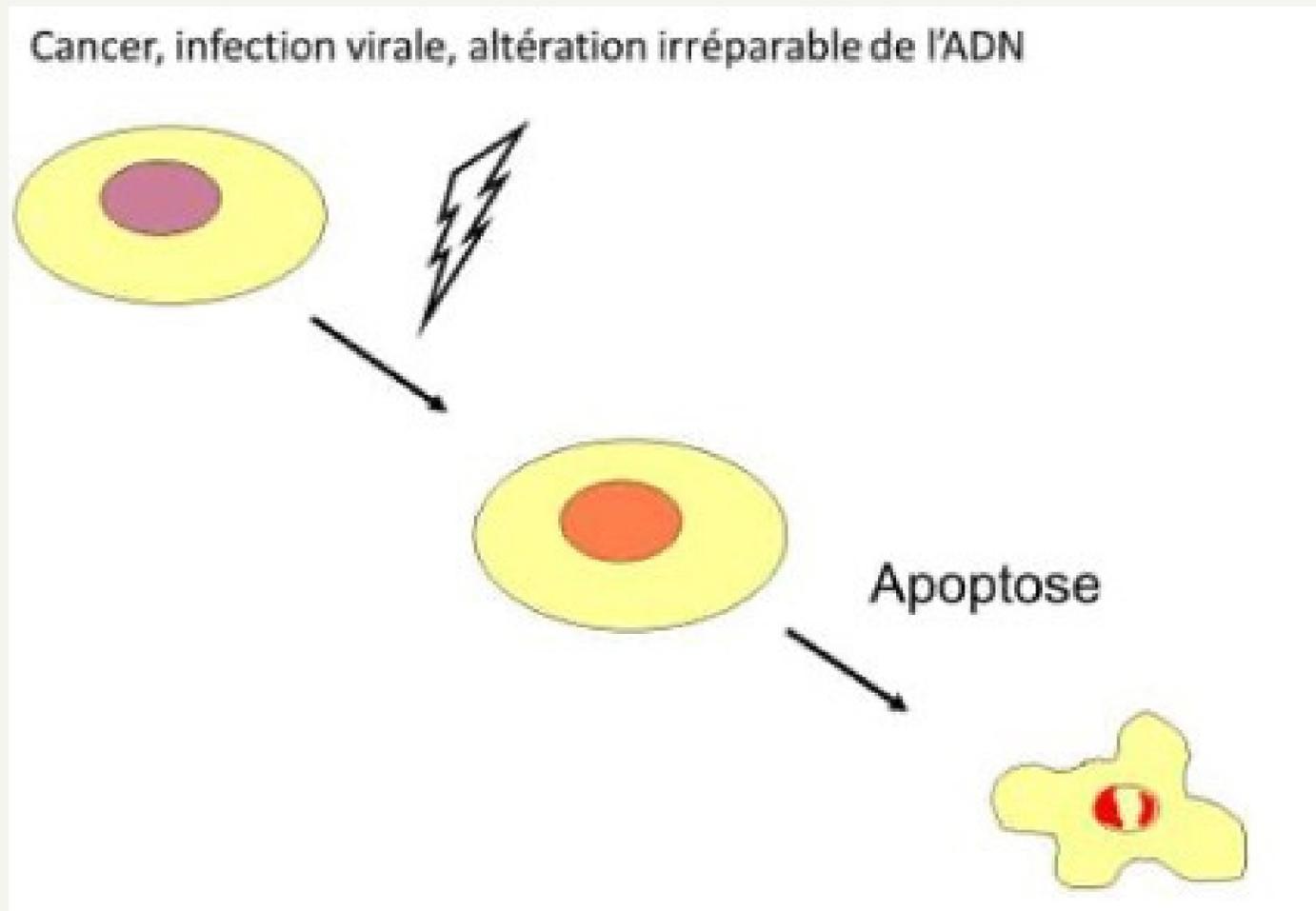


Exemple
des
lymphocytes



L'APOPTOSE EN PHYSIOLOGIE

ÉLIMINATION DES CELLULES MALADES

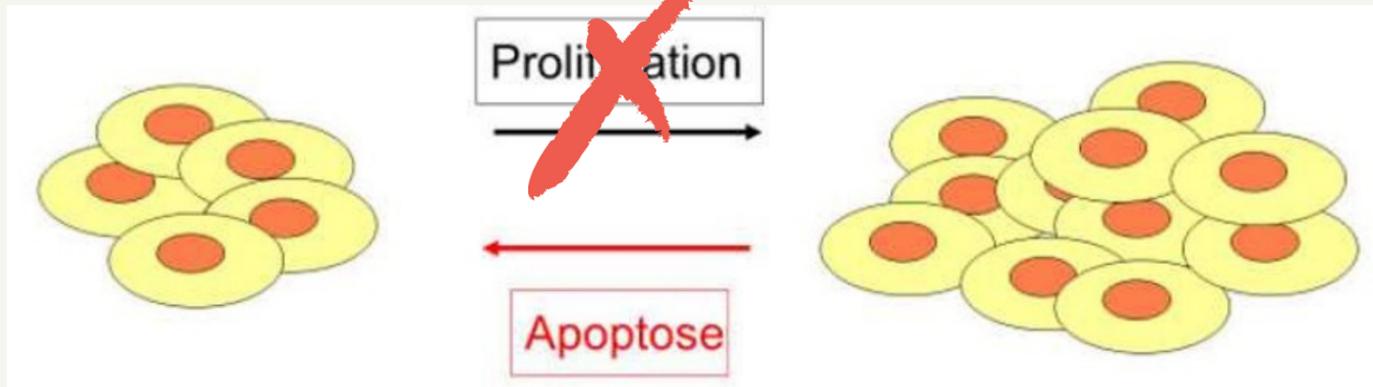


L'APOPTOSE DÉRÉGLÉE

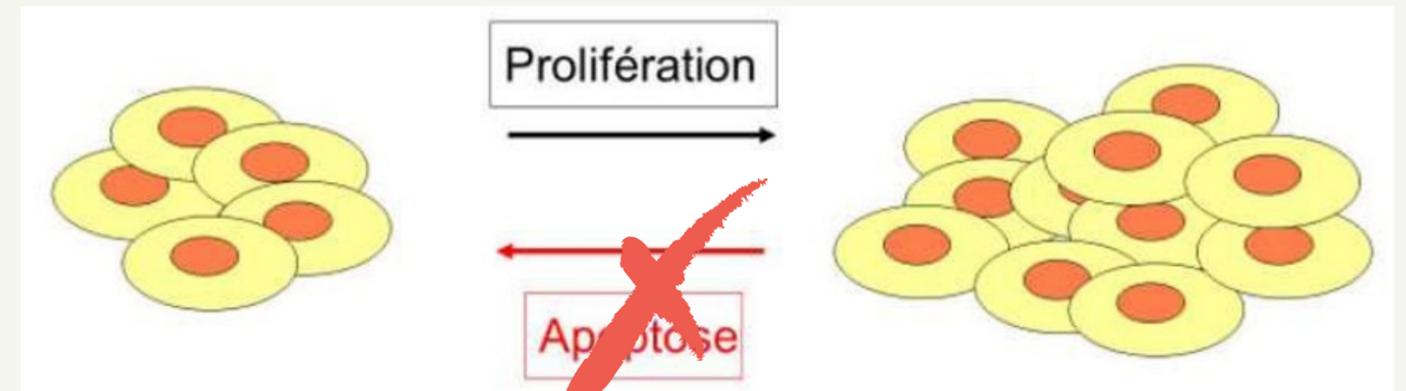
MALFORMATIONS



MALADIES NEURODÉGÉNÉRATRICES
SÉQUELLES D'UN INFARCTUS



MALADIES AUTO-IMMUNES
CANCÉRISATION



CARACTÉRISTIQUES DE LA NÉCROSE

- Déclenchée par des atteintes physiques ou chimiques
- À cause d'agressions sévères +++
- Processus ATP-INdépendant +++
- Présence d'une réaction inflammatoire

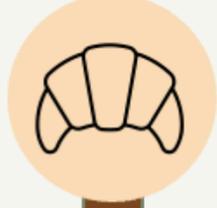
2

NÉCROSE

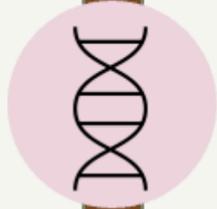
Augmentation du volume avec explosion ++



Dispersion



Pas de précision



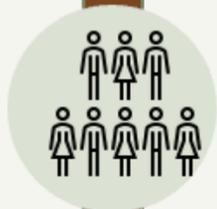
Explosion de la cellule



Membrane rompue



Ensemble de cellules



Situations pathologiques



APOPTOSE



P'tite révision express :

Quelles sont les caractéristiques de l'apoptose ?



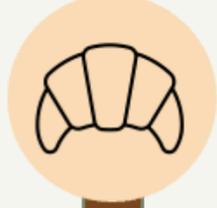
2

NÉCROSE

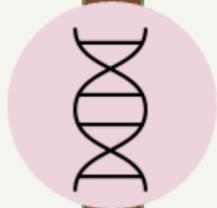
Augmentation du volume avec explosion ++



Dispersion



Pas de précision



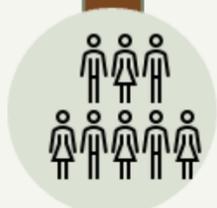
Explosion de la cellule



Membrane rompue



Ensemble de cellules



Situations pathologiques



APOPTOSE

Diminution

Condensation

ADN fragmenté

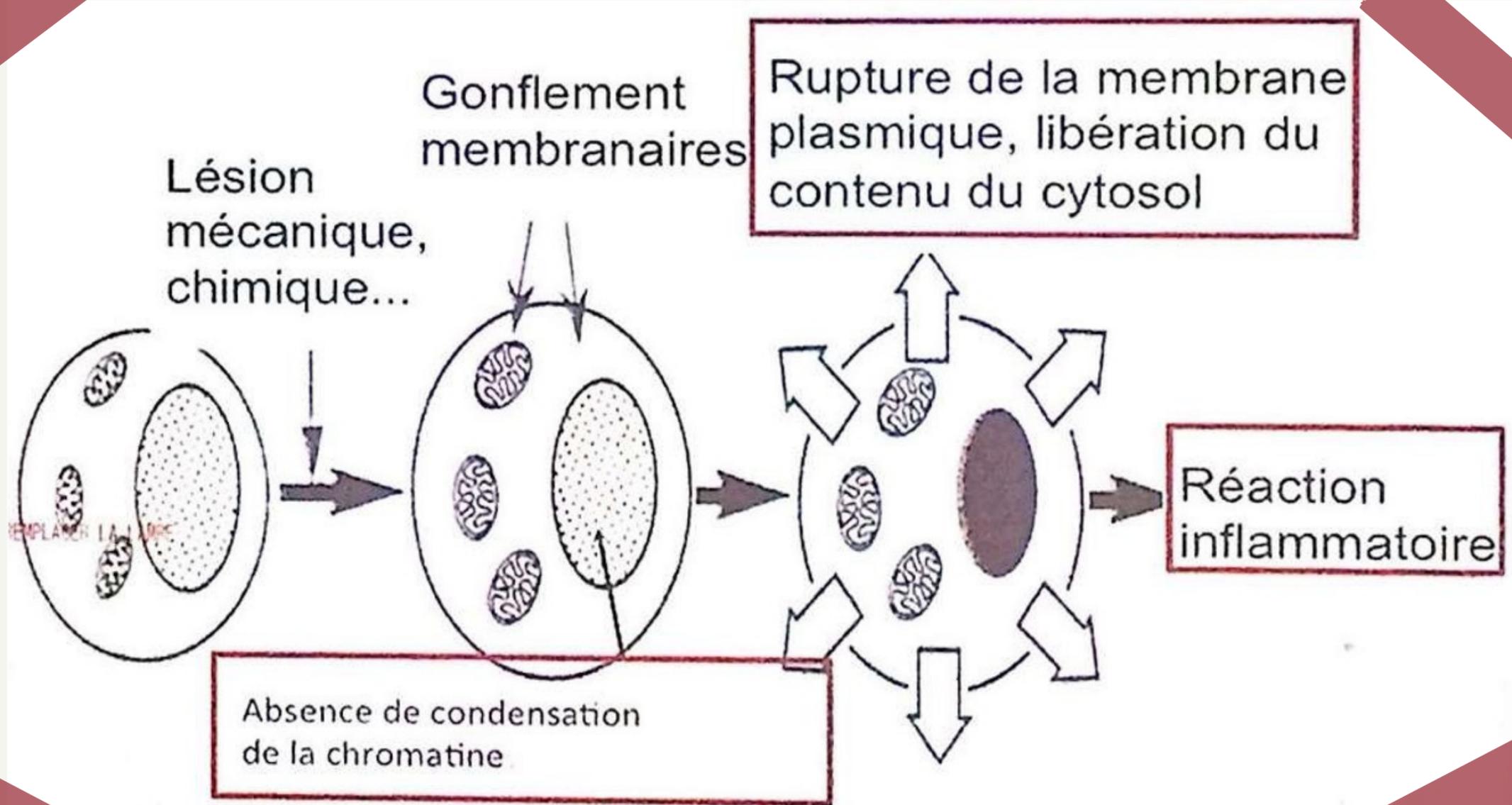
Création de corps apoptotiques

Membrane intacte

Cellule isolée

Situation physiologique





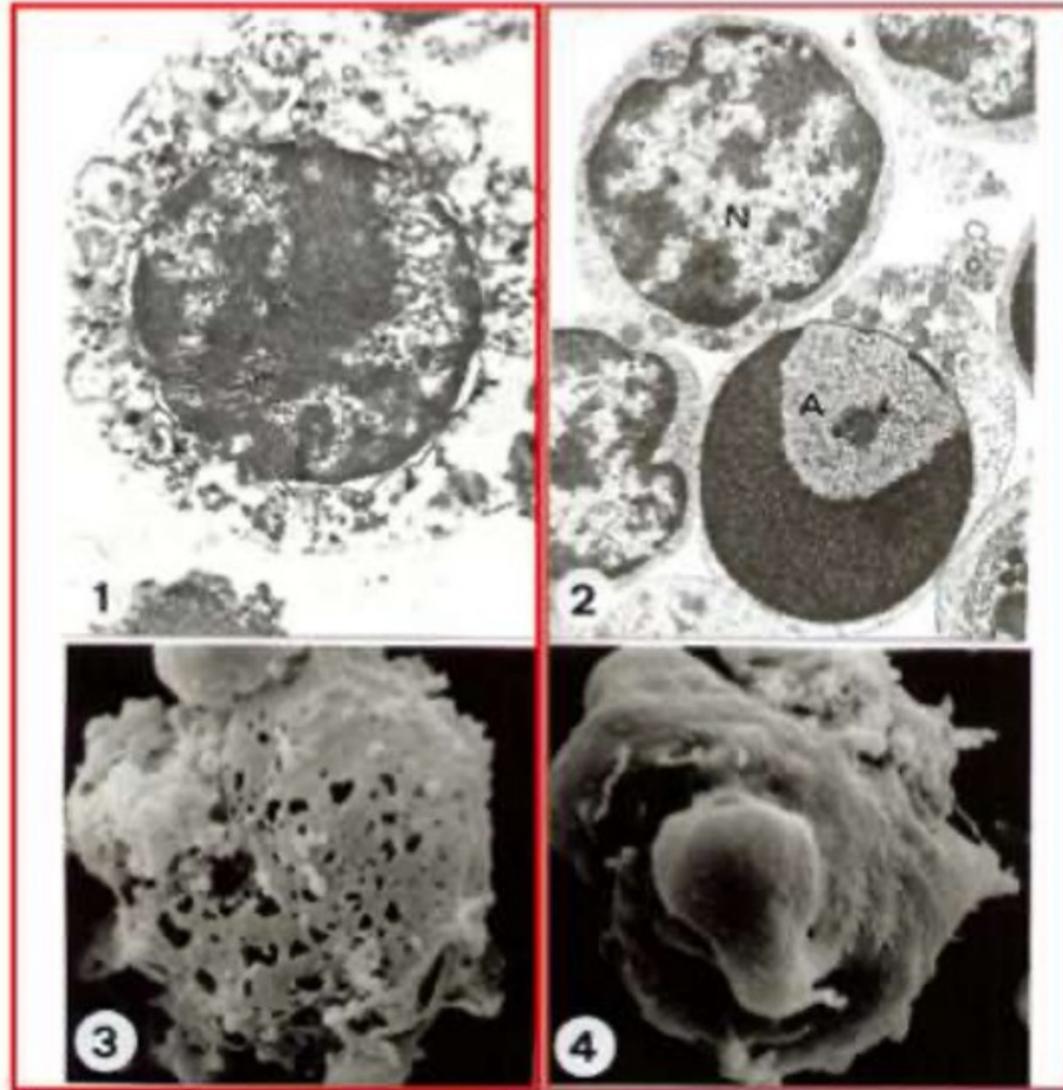
Gauche :
Cellule normale

Milieu :
Cellule nécrotique

Droite :
Cellule en explosion



Nécrose



Apoptose

Microscopie à balayage

Microscopie à transmission

QCM +++

MINI-SOMMAIRE



Comment reconnaître une cellule apoptotique via la fragmentation de l'ADN ?

- Électrophorèse d'ADN
- Technique du pic Sub-G1
- Technique par double marquage



Comment reconnaître une cellule apoptotique via les modifications membranaires ?

- Technique par double marquage IP + annexine



Comment reconnaître une cellule apoptotique via la protéolyse ?

- Voie intrinsèque
- Voie extrinsèque

3 FRAGMENTATION DE L'AN

1ÈRE TECHNIQUE : ÉLECTROPHORÈSE D'ADN DE CELLULES EN APOPTOSE



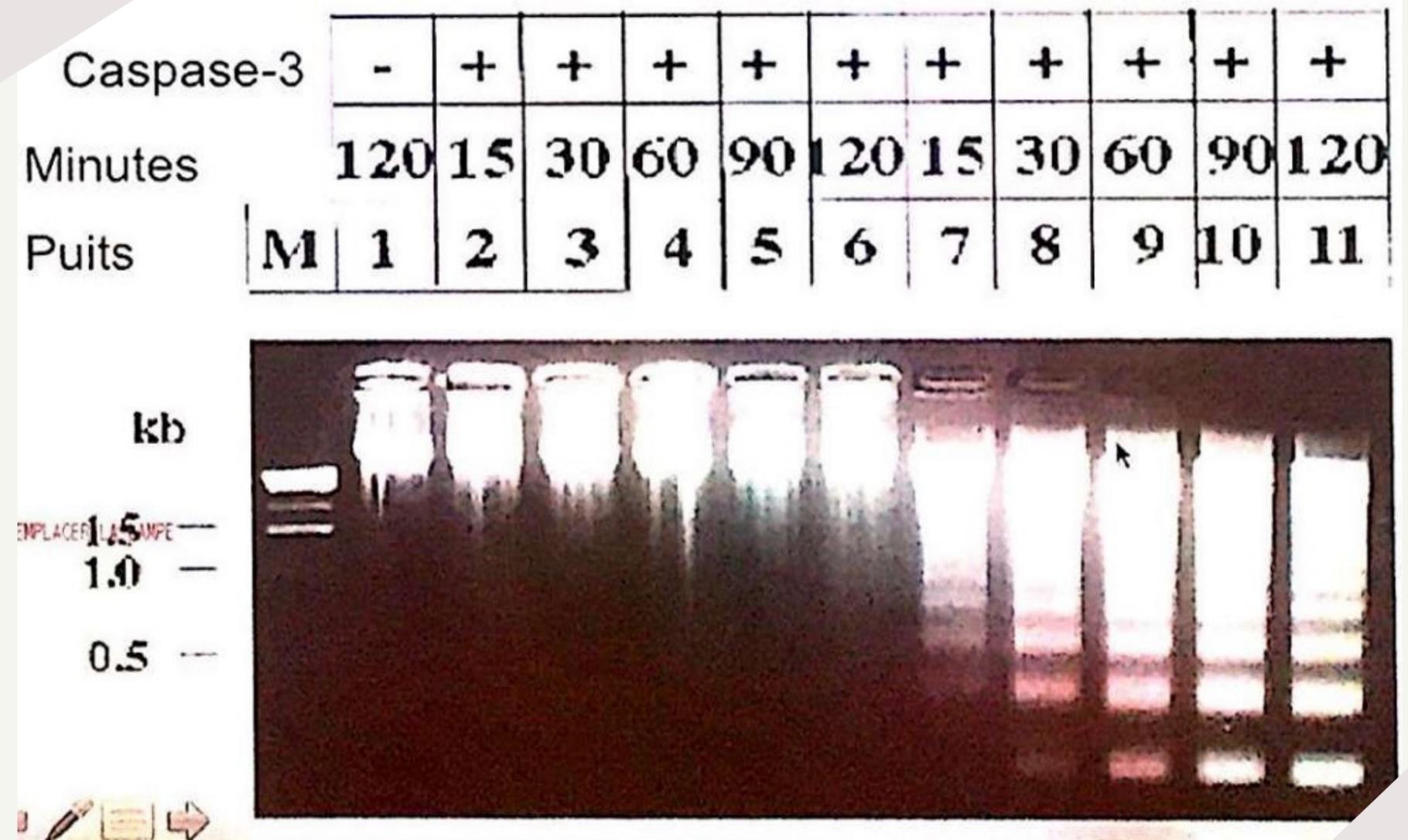
Induire la fragmentation de l'ADN



Avec du gel d'agarose



Avec ou sans caspase 3



3 FRAGMENTATION DE L'AN

2ÈME TECHNIQUE : PIC SUB-G1 (CYCLE CELLULAIRE)



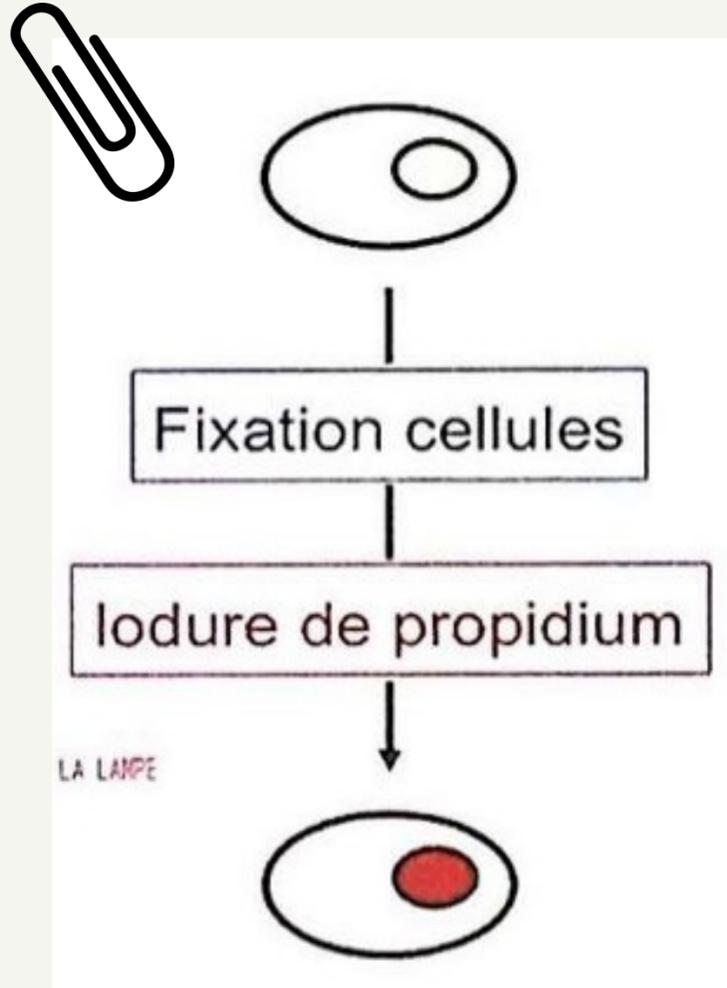
Marquer les cellules par cytométrie



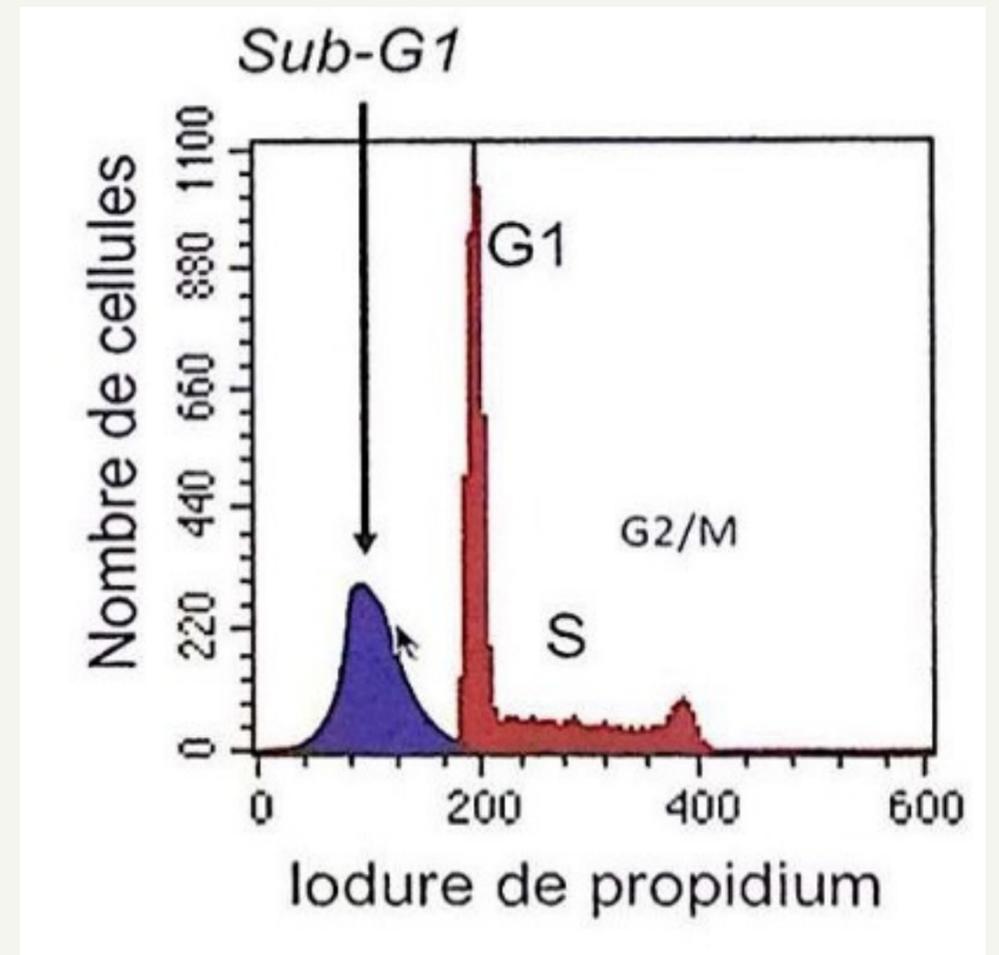
Fixer les cellules +++



Iodure de propidium



Pourquoi le pic G2 absorbe plus de iodure de propidium que le pic G1 ?



+ en + de fluorescence

3 FRAGMENTATION DE L'AN

3ÈME TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE



Distinguer les cellules apoptotiques de nécrotiques par cytométrie



PAS de fixation des cellules +++



Deux colorants :

Iodure de propidium

AVEC perméabilisation

Hoechst

- Ordonnée

- SANS perméabilisation

3 FRAGMENTATION DE L'AN

3ÈME TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE

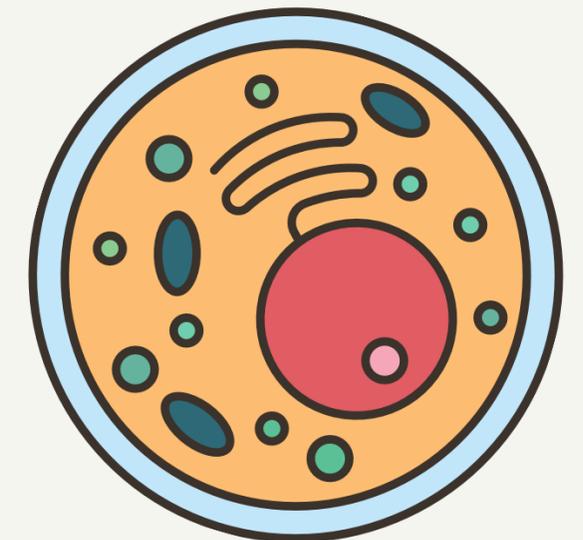
Quel(s) type(s) de cellules (apoptotiques, nécrotiques, normales) colorent chaque colorant (Hoechst et IP)



RAPPEL :

Cellule apoptotique : membrane intacte donc NON perméable

Cellule nécrotique : membrane NON intacte due à l'explosion donc perméable



3 FRAGMENTATION DE L'AN

3ÈME TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE

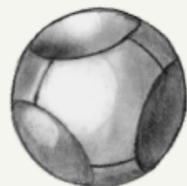
Quel(s) type(s) de cellules (apostoliques, nécrotiques, normales) colorent chaque colorant (Hoechst et IP)



Iodure de propidium



Cellules **NÉCROTIQUES**
uniquement



Hoechst

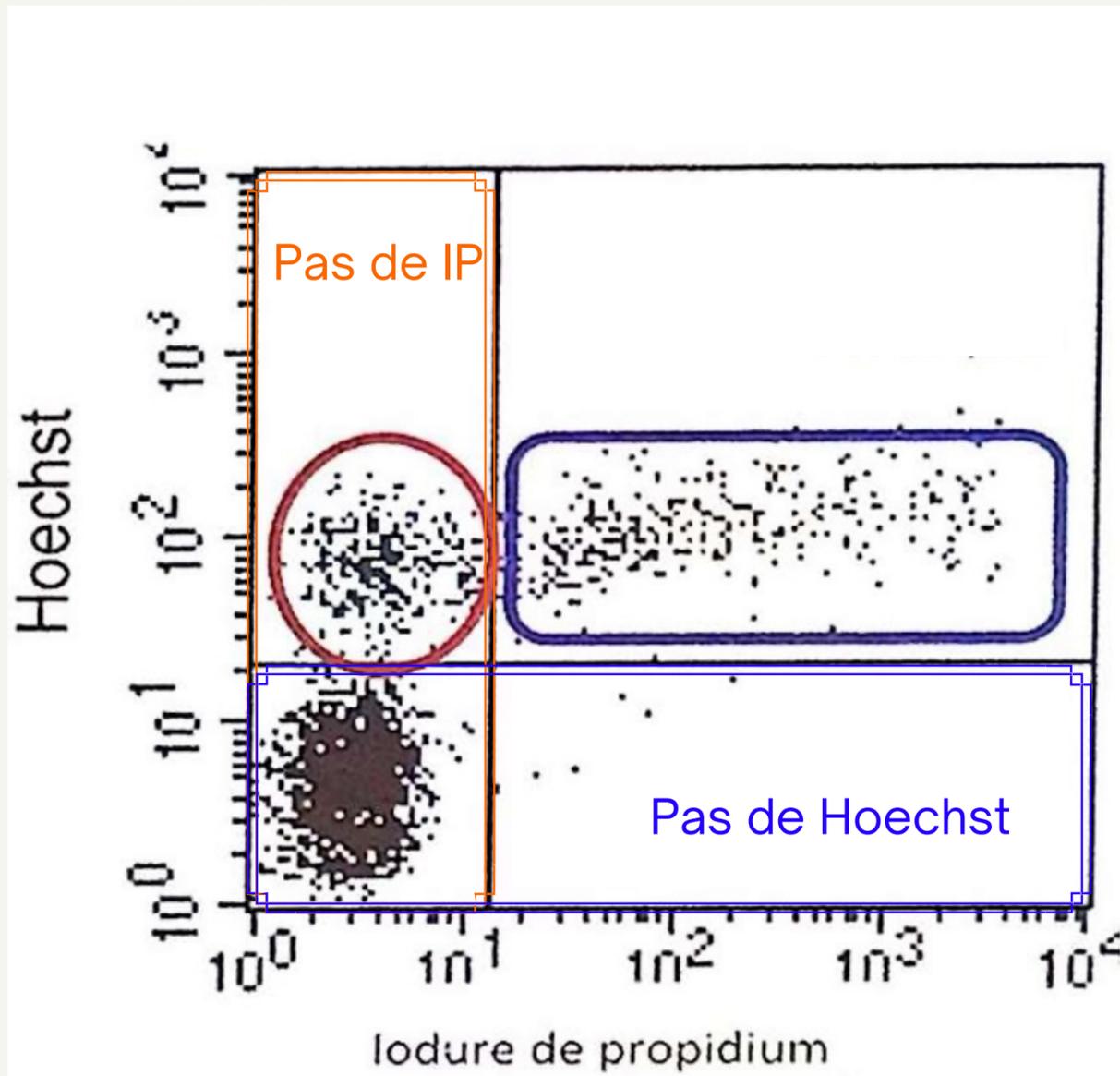


Cellules normales,
apoptotiques et nécrotiques



3 FRAGMENTATION DE L'AN

3ÈME TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE

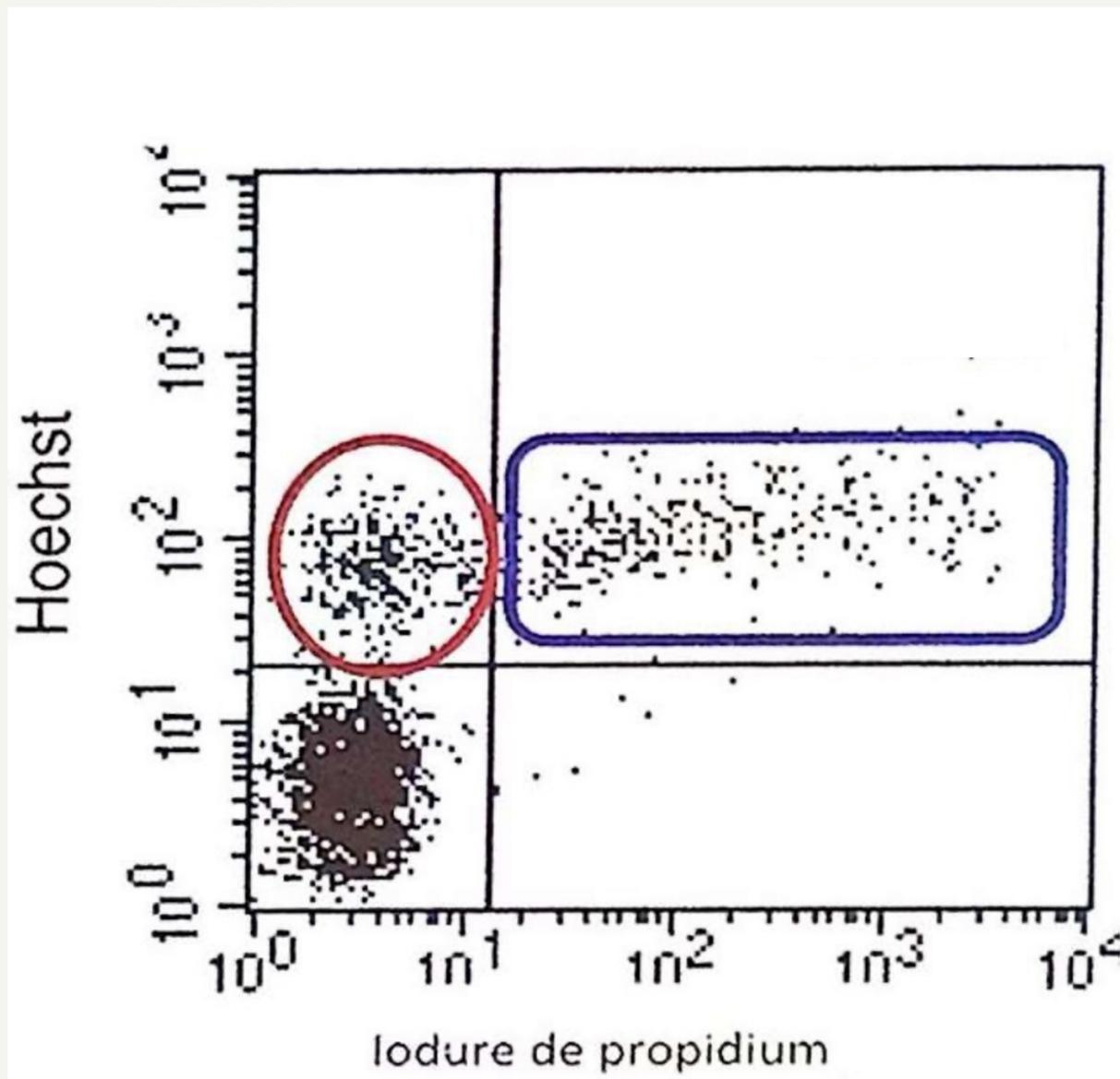


+ on monte, + les
cellules sont colorées
par Hoechst

+ on va vers la droite, +
les cellules sont
colorées par IP

3 FRAGMENTATION DE L'AN

3ÈME TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE



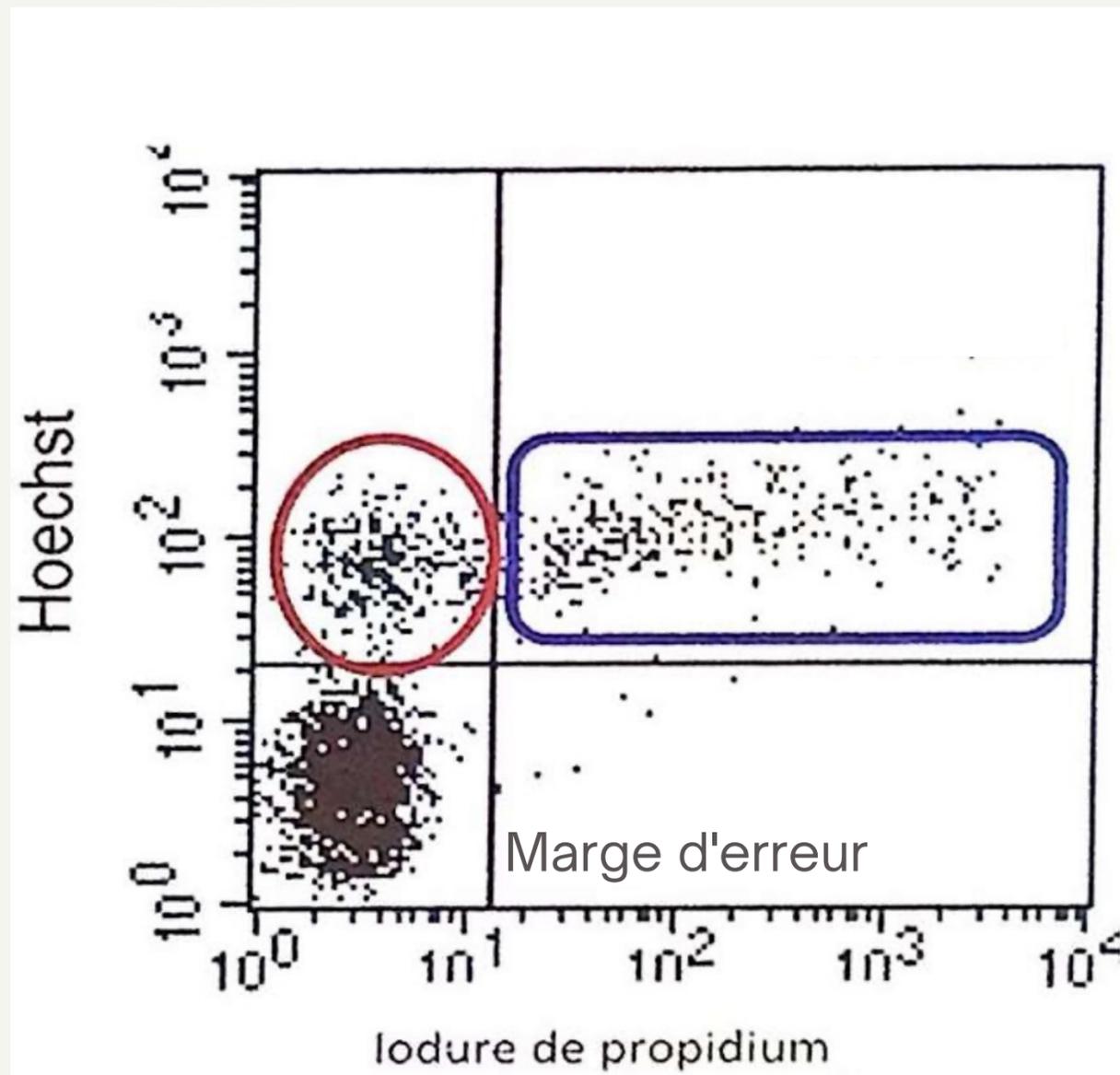
Quel type de cellules représente :

- cercle rouge
- rectangle bleu



3 FRAGMENTATION DE L'AN

3ÈME TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE



Quel type de cellules représentent :

- cercle rouge
- rectangle bleu

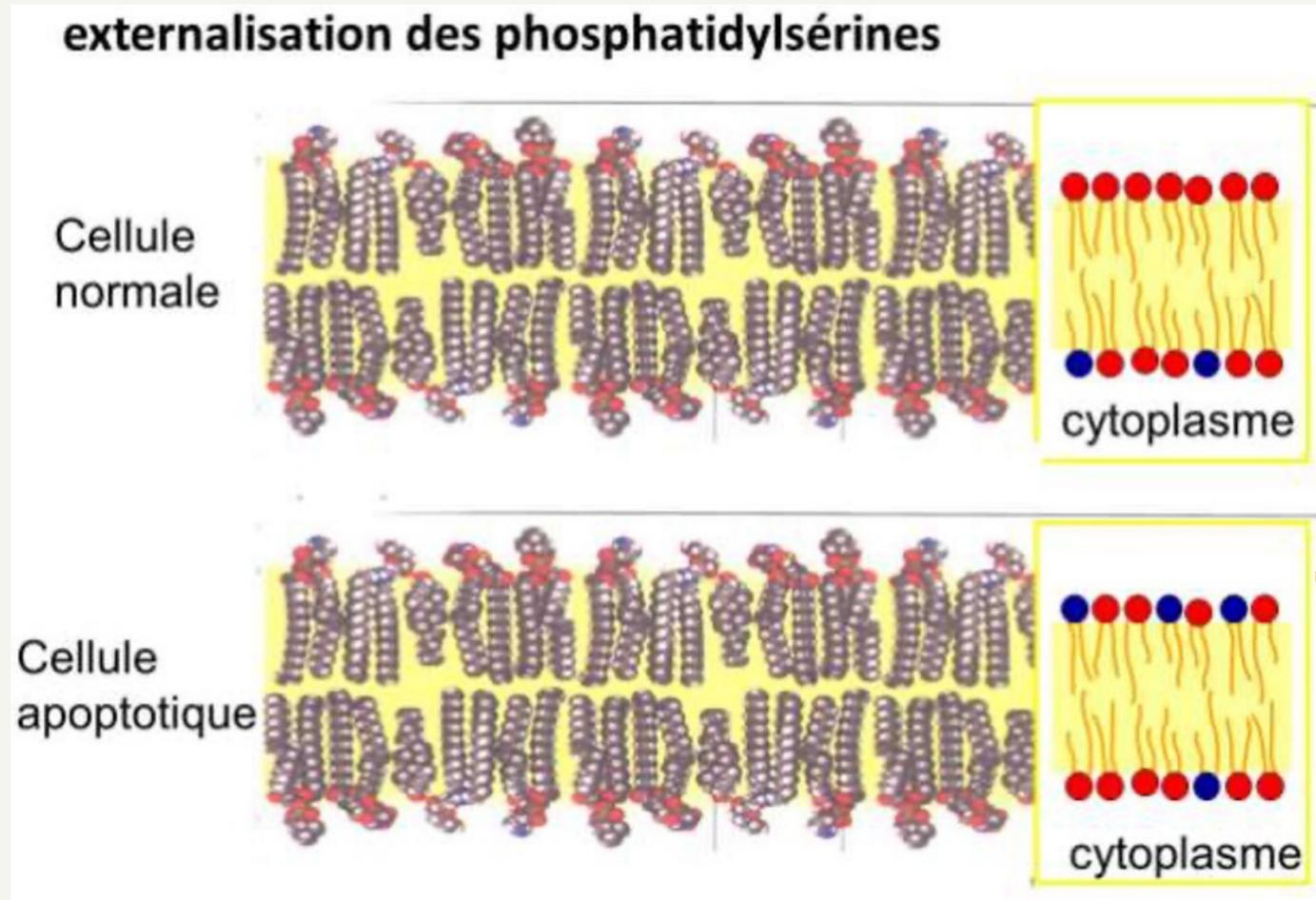


- Au-dessus et à gauche = fixation Hoescht
- Au-dessus et à droite = fixation Hoescht + IP
- Cercle = cellules APOPTOTIQUES
- Rectangle = cellules NÉCROTIQUES

QCM +++

3

MODIFICATIONS MEMBRANAIRES



Phosphatidyl-sérine (PS) au niveau du feuillet INTERNE ++

Flip-flop

PS au niveau du feuillet EXTERNE ++

Cellule reconnue par les cellules phagocytaires

Phagocytose

N
O
R
M
A
L
E

A
P
O
P
T
O
T
I
Q
U
E

3

MODIFICATIONS MEMBRANAIRES

TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE IP + ANNEXINE



Distinguer les cellules apoptotiques de nécrotiques



PAS de fixation des cellules +++



Deux colorants :

Iodure de propidium

Annexine 5

AVEC perméabilisation

- AVEC perméabilisation

- Reconnaît la PS +++

3 MODIFICATIONS MEMBRANAIRES

TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE IP + ANNEXINE

Quel(s) type(s) de cellules (apoptotiques, nécrotiques, normales) colorent l'annexine 5



RAPPEL :

Cellule apoptotique : membrane intacte mais extériorisation de la PS

Cellule nécrotique : explosion de la membrane

Cellule normale : membrane intacte avec la PS sur le feuillet interne



3

MODIFICATIONS MEMBRANAIRES

TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE IP + ANNEXINE 5

Quel(s) type(s) de cellules (apoptotiques, nécrotiques, normales) colorent l'annexine 5



Cellule apoptotique : OUI
PS est extériorisée donc accessible à l'annexine 5 même sans perméabilisation



Cellule nécrotique : OUI
PS est extériorisée à cause de l'explosion



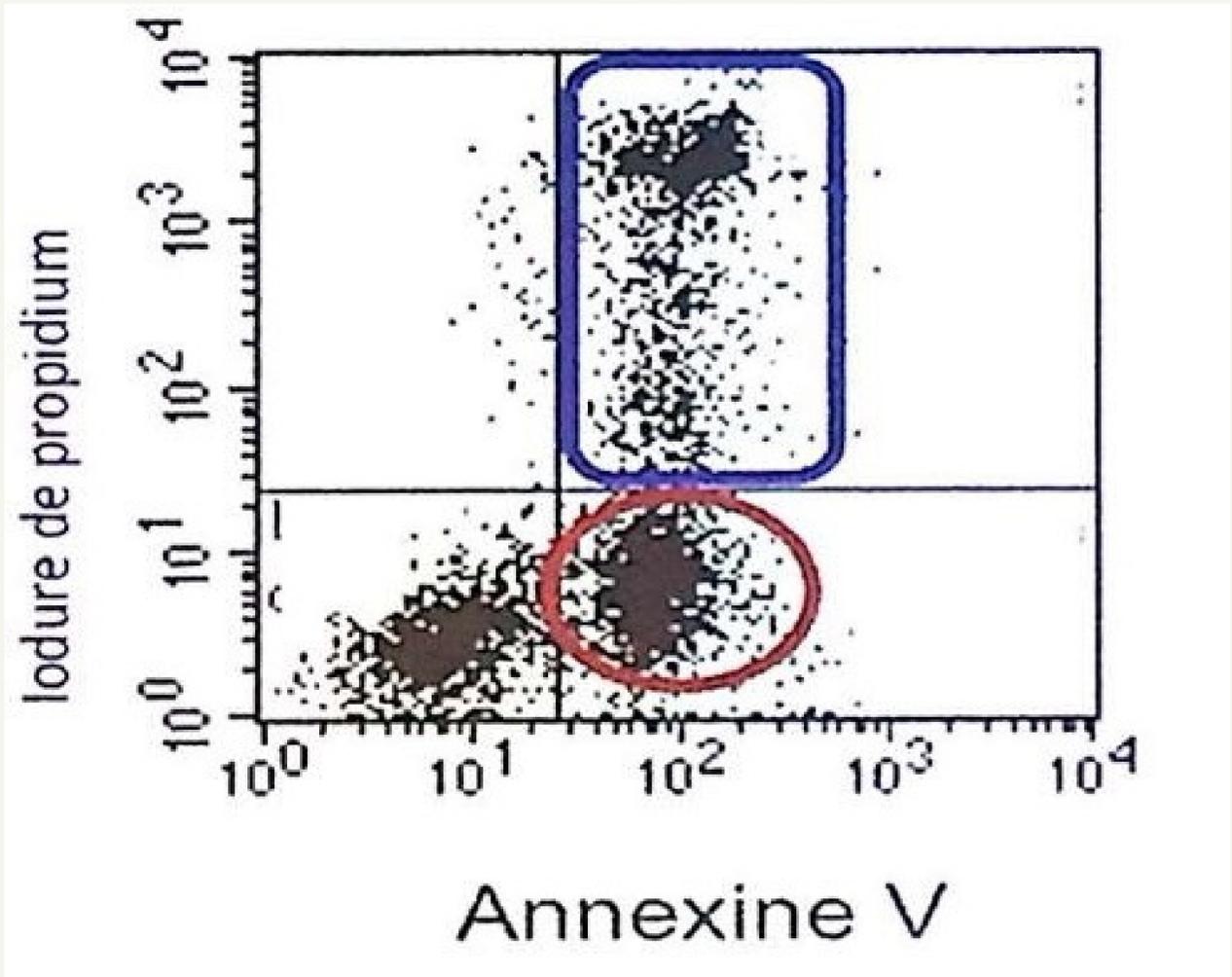
Cellule normale : NON
Membrane intacte et pas d'extériorisation de la PS, donc non accessible



RAPPEL : IP fixe QUE les cellules nécrotiques

3 MODIFICATIONS MEMBRANAIRES

TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE IP + ANNEXINE 5



Quel type de cellules représentent :

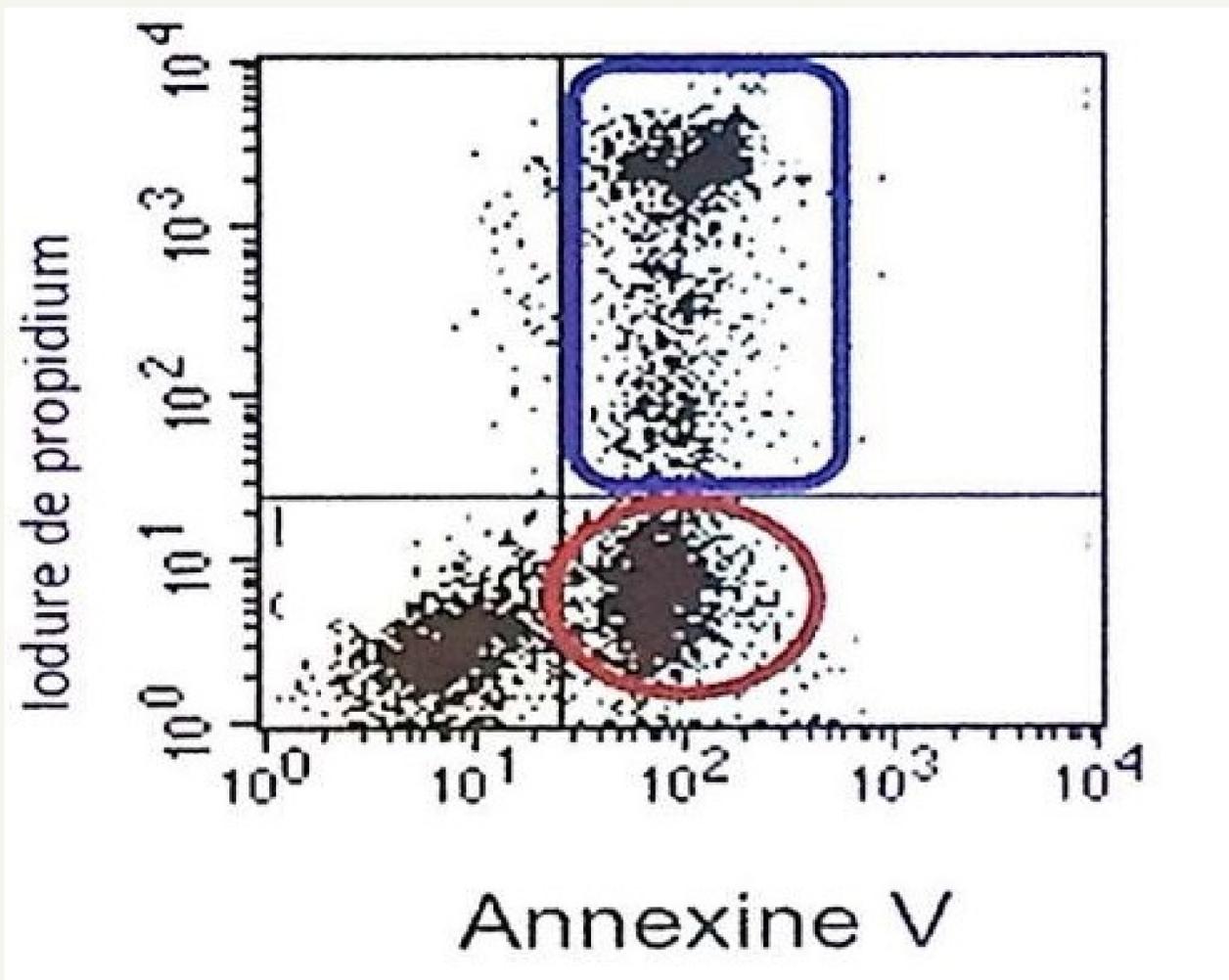
- cercle rouge
- rectangle bleu

?



3 MODIFICATIONS MEMBRANAIRES

TECHNIQUE : DOUBLE MARQUAGE IP + ANNEXINE 5



Quel type de cellules représente :

- cercle rouge
- rectangle bleu



- En-dessous et à droite = fixation Annexine 5
- Au-dessus et à droite = fixation Annexine 5 + IP
- Cercle = cellules APOPTOTIQUES
- Rectangle = cellules NÉCROTIQUES

QCM +++



P'TIT RÉCAP +++

RÉCAP +++++	HOESCHT	IP	ANNEXINE
NORMAL	+	-	-
NÉCROTIQUES	+	+	+
APOPTOTIQUES	+	-	+



Protéolyse

→ Élément qui déclenche réellement l'apoptose



Récepteurs de mort ou l'auto-activation vont activer des caspases



Caspases **initiatrices**
8, 9, 10

Rôle :
Cliver les pro-caspases effectrices pour les rendre actives



Caspases **effectrices**
3, 6, 7

Rôle :
Cliver des protéines spécifiques (comme PARP)

3 PROTÉOLYSE

LE RÔLE DES MITOCHONDRIES



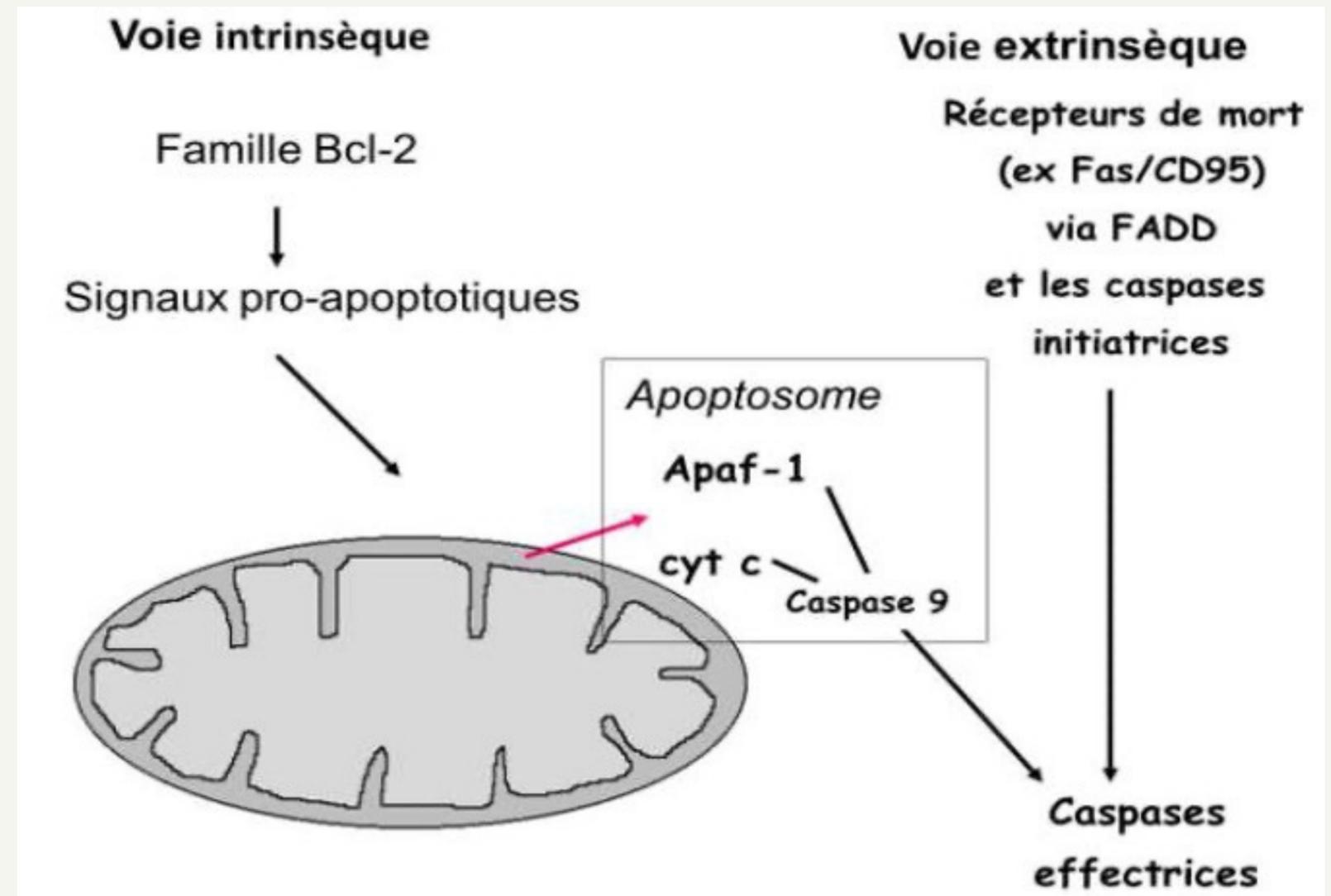
Réservoir à **cytochrome C** +++



2 voies pour l'apoptose :

→ Voie INtrinsèque

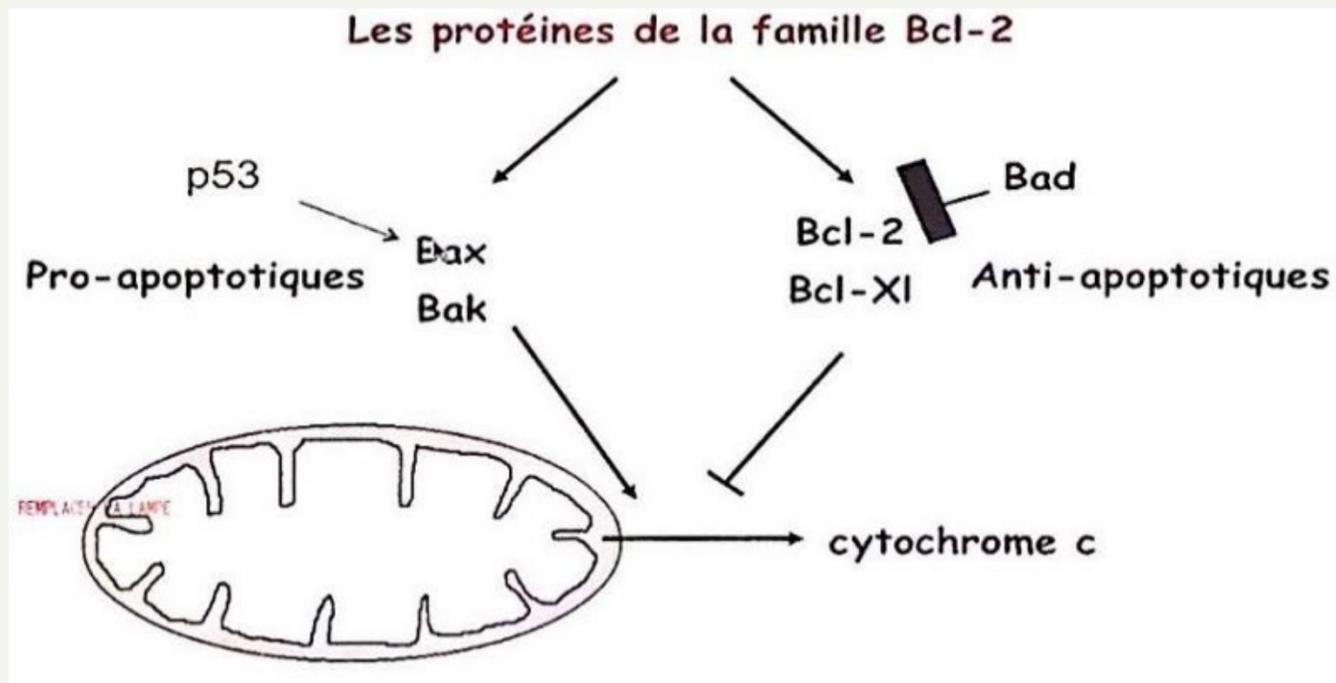
→ Voie EXtrinsèque



3 PROTÉOLYSE

VOIE INTRINSÈQUE

- Signaux INTRA-cellulaire
- Mitochondrie-dépendante ++
- Activation de la famille BCL2



Protéines de la famille BCL2	
PRO-apoptotique	ANTI-apoptotique
BAX ++ (Cible de p53, induit la sortie du cytochrome C)	BCL2 ++ (Bloque la sortie du cytochrome C)
BAK	BCL-X
BAD (Inhibe BCL2)	

Cytochrome C + APAF1 = Apoptosome

3 PROTÉOLYSE

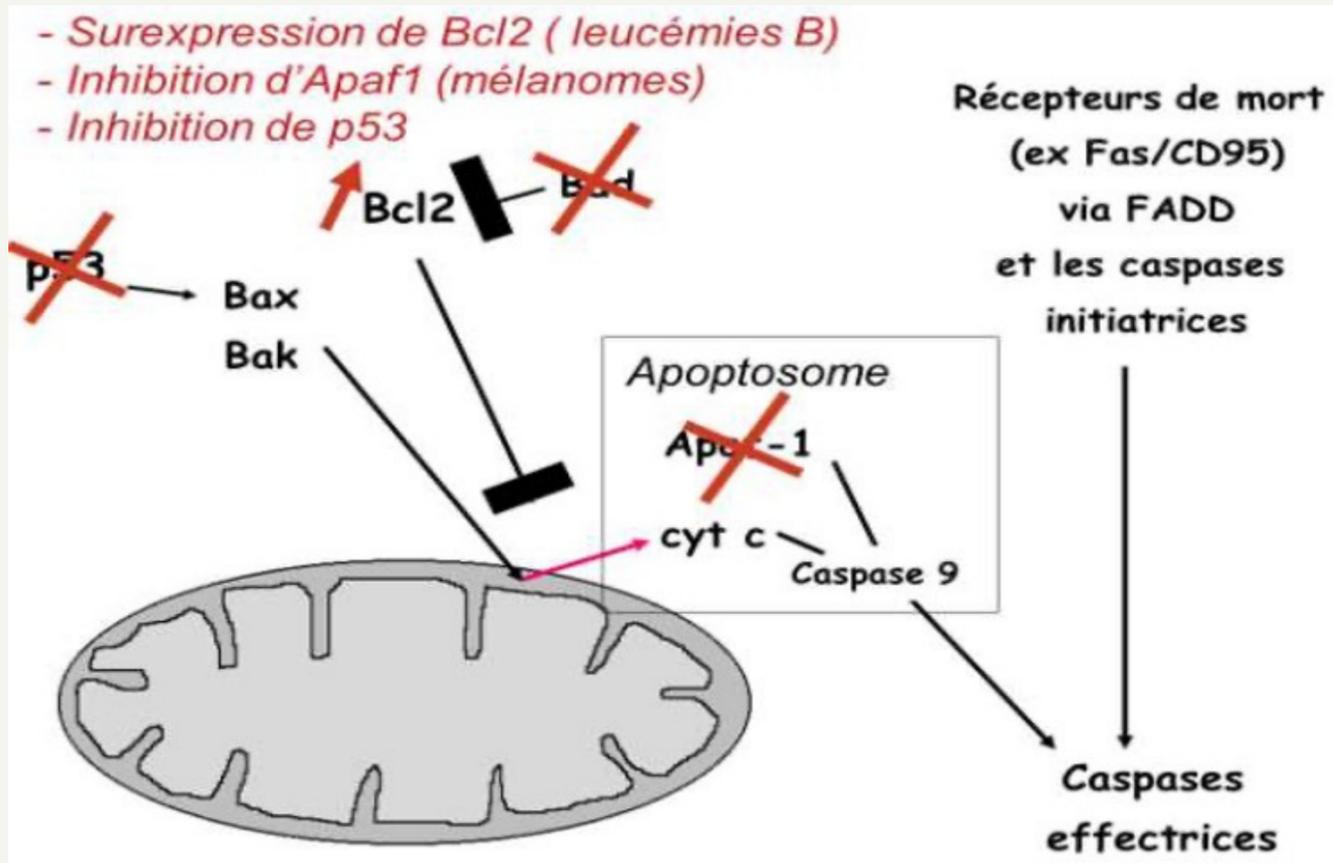
VOIE EXTRINSÈQUE

P'tit détail tombé en QCM...

- 1 Signaux extérieurs par récepteur de mort de la famille de **TNF (Fas/ CD95 ++)**
- 2 Activation protéines intra -cytosolique comme **FADD**
- 3 Activation protéines **initiatrices**
- 4 Activation protéines **effectrices**
- 5 **Fragmentation** de la chromatine, la lamine, le cytosquelette...



☹ **CANCER** ☹



Surexpression des protéines anti-apoptotiques

Inhibition de p53

Inhibition de l'apoptosome

