



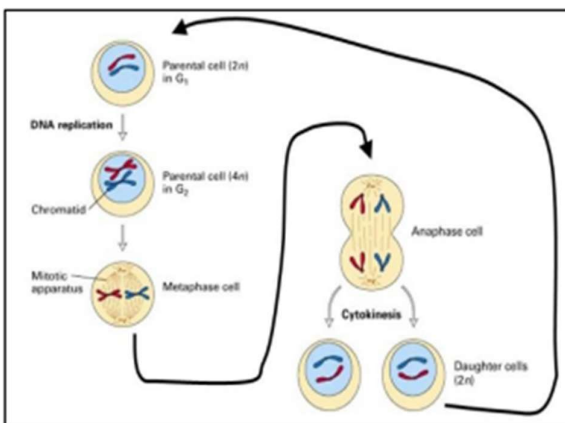
## Cycle Cellulaire

### Introduction :

**Citation :** « Le rêve d'une bactérie est de devenir deux bactéries » **François Jacob** (prix Nobel français de biologie moléculaire)

- Cellule **procaryote** (ex : bactérie) devient 2 **cellule procaryote** par défaut (la seule condition nécessaire c'est qu'il y ait assez de nutriment dans le milieu)
- Cellule **eucaryote** (ex : cellule de notre corps) ne se divise pas par défaut, mais répond à un **ordre/signalisation** pour devenir 2 cellules (division essentielle)

Ces évènements qui sont associés à cette **division cellulaire** s'appellent : le cycle cellulaire. Le but est qu'une cellule parentale donne deux cellules filles identiques.



- 1) Initialement, une cellule eucaryote **diploïde** (1 paires de chaque chz) en phase G<sub>1</sub>, il ont 2 fois les 23 chromosomes donc ils ont le double de chromosomes dit **2n**
- 2) Phase **S** (Synthèse) = phase de **réplication**,
- 3) Après la phase S, les cellules contiennent **4n** de chromosomes et rentrent en phase **G<sub>2</sub>**
- 4) Phase de **division** qui sépare les chromosomes en 2 cellules filles au cours de **l'anaphase** (mitose)
- 5) **Dernière** étape : **séparation** des cellules filles (avec les myosines de type II) qui contiennent **2n** chromosomes aboutissant à la **cytokinèse**

Le **cycle cellulaire** est :

- Un processus complexe
- Une séquence **ordonnée** d'événements
- Permet la **duplication des chromosomes**
- **Une copie de chaque** chromosome est ségréguée dans chaque cellule fille

### 1. Cycle cellulaire et mutants

#### A. Identification des mutants de progression du cycle cellulaire

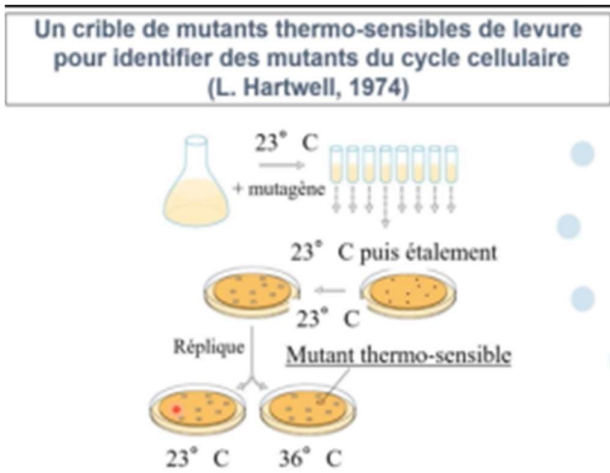
**Mutation conditionnelle :** Mutation dont l'effet **délétère** sur le cycle cellulaire ne s'exprimera que dans **certaines conditions**

On peut garder ces cellules mutées dans des **conditions favorables** pour qu'elles poussent normalement, mais on peut aussi étudier leur phénotype (lors du blocage cellulaire) en les mettant dans des conditions **moins favorables**.

Mutation thermosensible	Mutation cryosensible
Sensible aux <b>hautes</b> températures	Sensible aux <b>basses</b> températures

Température **permissible** : La mutation ne s'exprime pas, le phénotype est **sauvage** (=normal) ++  
 Température **non permissible** : lorsque la mutation s'exprime, le phénotype est **muté** ++

Partant de ce principe, ces mutations ont été identifiées et étudiées par un chercheur des cellules de levures (cellules **eucaryotes** unicellulaire, qui ressemblent dans leur fonctionnement de base à nos cellules à nous).



**EXPERIENCE DE LI HARTWELL**



- 1) Il a fait pousser des levures à 23°C en présence d'un mutagène pour augmenter le nombre de mutations
  - 2) Il les a étalées pour avoir des colonies à 23°C (température permissible)
  - 3) Il a fait des **répliques** de cette boîte sur une autre boîte à 36°C (par un geste très simple) donc a une **température non permissible** ou la mutation thermosensible **s'exprime**.
- Ce qui est observé normalement : Les cellules poussent et forment des colonies aussi bien à 23°C qu'à 36°C (schéma)  
Ce qu'il a observé : Certaines colonies poussent à 23°C mais sont absentes de la boîte à 36°C (événement rare) car certaines cellules ont eu une mutation thermosensible qui ne s'exprime que quand la T° augmente

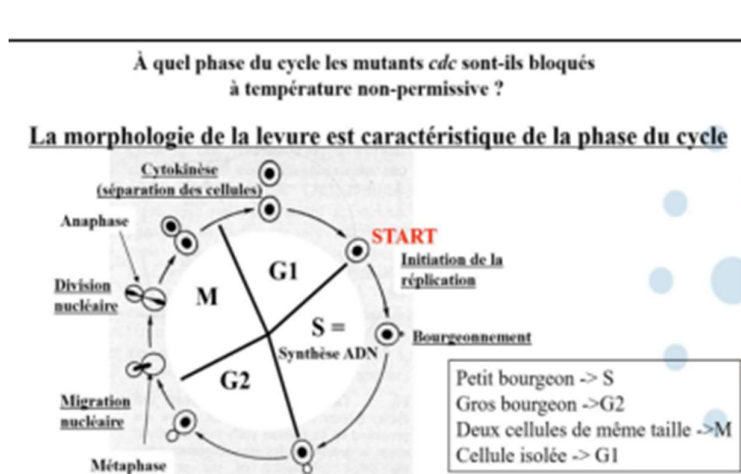


**Explication et conclusion** : Par la présence d'un **mutant**, une partie de la colonie l'exprimant est incapable de se diviser lorsque les températures **s'élèvent**, c'est donc un mutant **thermosensible**. Ce chercheur a isolé une série de gènes (d'abord génétiquement, puis fonctionnellement), qu'il a appelée de manière générale : **les gènes CDC (Cell Division Cycle)**.

B. Isolement des souches mutantes dans 32 gènes essentiels pour la progression de la division cellulaire = gènes CDC

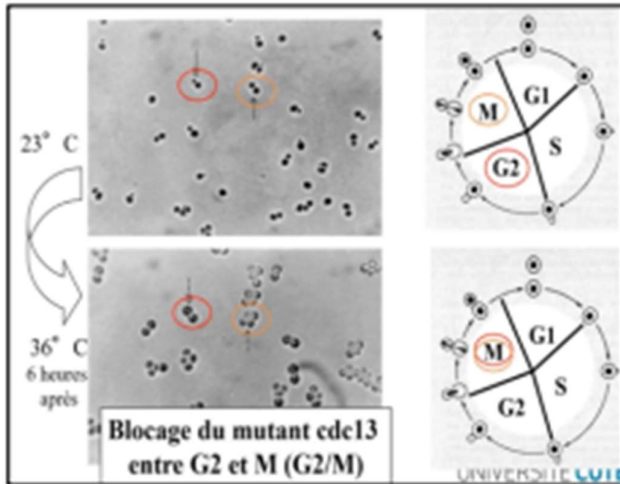
Question : À quelle phase du cycle les mutants CDC sont-ils bloqués, lorsqu'ils sont transférés à température non permissible ?

Pour connaître la phase du cycle lors de laquelle nos cellules mutantes vont s'arrêter, on va d'abord analyser à l'aide d'un microscope une levure de boulanger sans mutation pour pouvoir différencier les phases du cycle cellulaire. La levure de **boulangier** ou levure à **bourgeon** est un organisme cellulaire qui se divise de manière **asymétrique**, ce qui est particulièrement utile. Au microscope on voit donc :



PHASE G1	La cellule fille isolée va progressivement émerger.
PHASE S	Progression du bourgeon pour obtenir à la fin un petit bourgeon
PHASE G2	Gros bourgeon
PHASE M	Au début de la phase M, ce bourgeon va grandir pour donner 2 cellules filles de même taille (environ)

C. Détermination microscopique des différentes phases du cycle cellulaire : exemple du mutant cdc13



A température <b>permissive</b>	Division normale des cellules (différentes phases du cycle)
A température <b>non permissive</b> (présence de mutations)	😊 Si la cellule était En phase <b>M</b> , la cellule est capable de <b>compléter</b> le cycle cellulaire (2 cellules)
	😞 Si la cellule était en phase <b>G2</b> , la cellule est <b>bloquée</b> , car elle ne peut <b>pas</b> continuer le cycle cellulaire à cause de la <b>mutation CDC13</b>

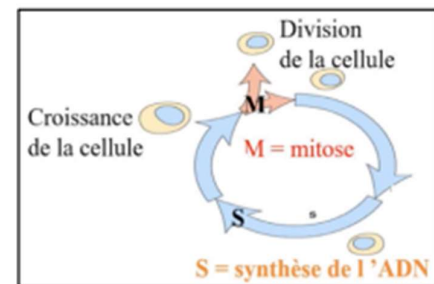
++ Le gène CDC 13 intervient dans la transition G2/M ++

NB : ceci est un exemple montrant comment les chercheurs ont progressé dans l'étude de ces mutations et la compréhension des gènes essentiels pour le cycle cellulaire.

2. Points de contrôles (checkpoint)

La **succession d'événements** au cours du cycle cellulaire implique un **contrôle qualité** qui vérifié que l'étape précédente est bien **terminée**, ce sont : → **POINTS DE CONTRÔLE = CHECKPOINT**

Exemple : Vérification de l'alignement des chromosomes sur la plaque équatoriale, surveillance de la quantité de nourriture présente, interaction avec les molécules de signalisation...



A. Différents points de contrôles du cycle cellulaire

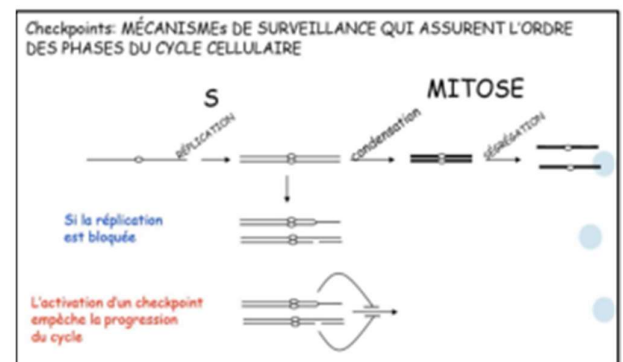
- 1) Checkpoint G1/S
- 2) Checkpoint intra-S
- 3) Checkpoint G2/M
- 4) Checkpoint Mitotique

B. Universalités des checkpoints

Ce mécanisme de surveillance peut être étudié **génétiquement** (exemple des différentes phases du cycle cellulaire).

Imaginez que pendant la réplication, un accident ai lieu (comme blocage de la réplication, manque de polymérase, ADN endommagée...)

Immédiatement, la cellule normale réagit en **activant un checkpoint** (ici 13) qui va **bloquer la progression de la réplication**. (dans le but de limiter les erreurs)



Cellule humaine exposée à des radiations ionisantes (RI)

	Lésion/Gy	Lésion/2Gy (radiothérapie)
Lésion des bases	2000	4000
Coupure simple-brin	100	200
Coupure double-brin	20	40

Ordre de grandeur du nombre de lésions :

- ❖ **4000** lésions de base
- ❖ **200** coupures simple brin
- ❖ **40** coupures doubles brins

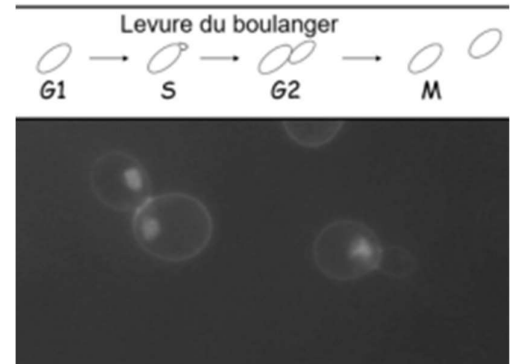
Les endommagements les **plus dangereux** de l'ADN sont les coupures **doubles brins** (car ce sont les plus durs à réparer, sans créer d'autres dommages de l'ADN) mais elles sont **minoritaire**.



Observations au microscope et expériences

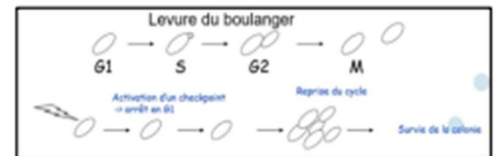
Expérimentalement, si on prend une levure (exemple : levure de boulanger à petit bourgeon avec une division asymétrique), on peut distinguer les cellules :

- En phase **S**
- En phase **G2**
- En phase **M**



5) Irradiation d'une cellule normale sauvage

- a. **Irradiation des cellules en G1**
- b. Cellule **non** capable de répliquer son ADN à cause des **dommages** (activation d'un checkpoint qui arrête l'avancée du cycle)
- c. Si l'irradiation n'est pas trop importante, au bout d'un certain temps, (le temps de réparer les dommages de l'ADN) la cellule va **reprendre** le cycle et les colonies vont **survivre**



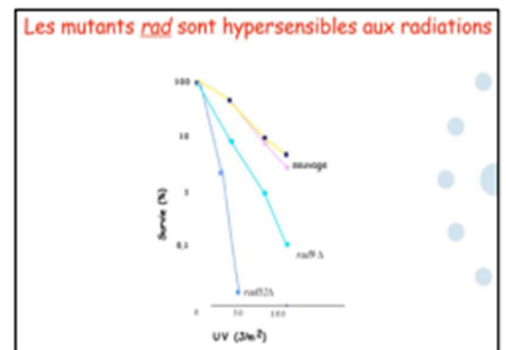
**Rappel :** Pour étudier un phénomène cellulaire, on fait souvent appel à la génétique, ici on utilise un type de mutants.

**Mutations rad** = mutations qui rendent **hypersensibles** les cellules (ici levures) aux **radiations**



Graphique de la survie des cellules en fonction de la dose irradiée

- Cellules **irradiées** : ne reprennent **pas** le cycle
- **Mutants** (exemple rad 52, rad 9) : cellules encore + **sensibles** aux radiations



6) Irradiation d'une cellule qui porte une mutation de sensibilité de radiation au RAD52

La cellule **mutée** (irradiée en G1) **arrête** son cycle grâce à son **checkpoint actif** puisqu'il détecte les dommages (la mutation). La cellule va **mourir** et elle est **incapable** de réparer les dommages.

Cette expérience montre que le produit **du rad52 n'est pas impliqué dans le checkpoint** (car toujours fonctionnel).

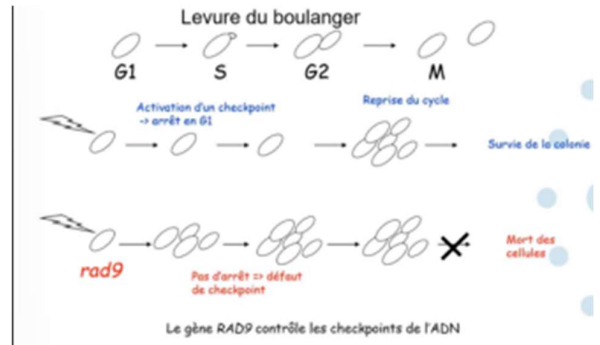
→ Le rad52 **contrôle** donc une protéine impliquée dans la **réparation** (dommage non réparé) et non dans le checkpoint.



7) Irradiation d'une cellule qui porte une mutation de sensibilité au RAD9

La cellule **mutée** (irradiée en G1) commence à se **diviser** tout de suite et continue à se **diviser même en présence de dommages**. Elle forme une **microcolonie** (contrairement à rad52) : les cellules de la colonie vont progressivement mourir à cause des dommages et des excès de défauts de l'ADN.

→ Le produit du gène **rad9** intervient dans le **checkpoint** car lorsqu'il est muté, il n'est plus capable de faire son rôle : arrêter le cycle cellulaire lors de dommages de la cellule



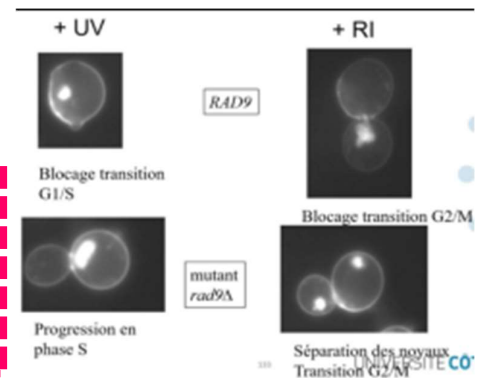
Ces découvertes ont permis de faire toute une série d'expériences et de :

- Varier le type de dommages
- Regarder si ces mutants sont :

- soit mutants généraux pour différents types de dommages
- soit mutants spécialisés dans un certain type de dommages

**Par exemple :** en comparant des radiations **UV et des radiations ionisantes**. On s'aperçoit que quel que soit le « donneur de dommages », le même gène **rad9** (checkpoint) est capable d'induire :

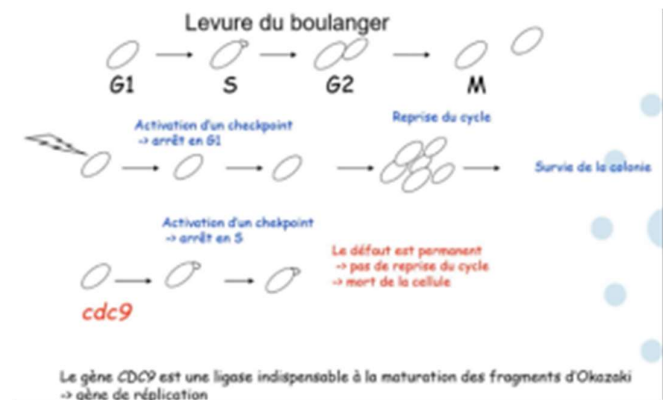
- Un blocage de la transition G1/S
- Un blocage de la transition G2/M



8) Température non permissive d'une cellule qui porte une mutation **CDC9** (mutation sensible à la température)

Les chercheurs ont pris des mutants du cycle cellulaire (exemple : *cdc9*) sans irradier les cellules, en passant le mutant *cdc9* à température non permissive.

**Gène *cdc9*** (à l'état sauvage) : Ligase indispensable à la réplication et à la **maturation** des fragments **d'Okazaki**, c'est un gène de réplication. En **présence** du mutant *cdc9*, la cellule **s'arrête en phase S**.

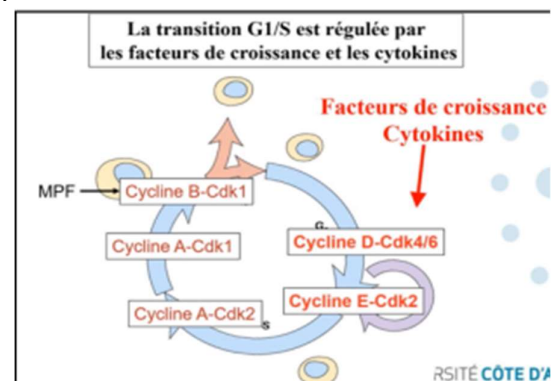


**Explication :** ce mutant empêche *cdc9* d'avoir son rôle indispensable. Donc, la réplication est imparfaite. Les défauts sont détectés au cours du checkpoint entraînant l'arrêt (non lié à une irradiation exogène ici). Donc c'est un **phénomène endogène**.

### 3. Transition G1/S

D'un point de vue fonctionnel dans nos cellules eucaryotes, la transition G1/S est la transition la **plus importante** car elle détermine si la cellule **peut** se diviser ou pas.

Au cours de cette transition, la cellule reçoit des **ordres** par des **molécules de signalisation** (facteurs de croissance, cytokines...) pour être capable de prendre des « grandes décisions ». Ces ordres activent toute une **cascade** d'événements qui permettent à la cellule de prendre la **décision** de franchir la transition G1/S. Initié par des couples hétérodimérique Cycline et CDK différent à chaque fois qui vont phosphoryler leurs substrats.

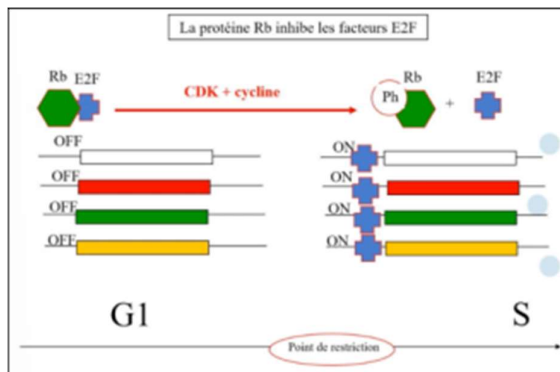
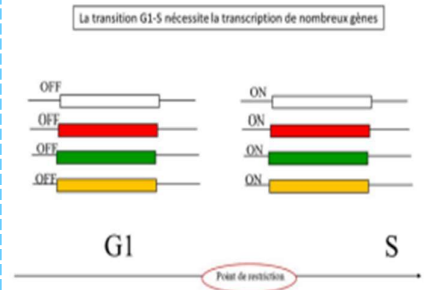


, il faut activer la transcription des

**REGULATION DE LA TRANSCRIPTION :**

Pendant la phase **G1**, l'expression des gènes polymérase, ligases, hélicases... est **réprimée**. Mais il faut que ces gènes soient **ON** pour débiter la phase **S** et permettre la réplication de la cellule.

Cible de la transition G1/S : **Contrôle** de l'expression de ces gènes impliqués dans le mécanisme de la régulation de la transition G1/S ++

**Fiche d'identité de la famille de E2F**

Rôle : Entrainer l'expression des gènes permettant d'enclencher la phase **S** et **d'activer** la transcription (des gènes, ceux de la régulation de la transcription). E2F = facteur de transcription

Lieu d'action : Fixation sur le promoteur (cf. biomol) de ces gènes

△ E2F en est capable que quand il est actif et fonctionnel, hors E2F est inactivé (hors passage à la phase S) dans une cellule normale.

Raison de l'inactivité : due à la liaison avec la **protéine Rb** (RétinoBlastoma) lors du cycle cellulaire (donc notamment en phase G1) qui a **une action de séquestration de E2F** sauf en phase S

Comment s'active E2F ? : **HyperPhosphorylation** de **Rb** par CDK + cycline spécifique.

**4. P53 et les Cancers****A. P53, une protéine « célèbre »****+ Fiche d'identité de P53 +****p53 :**

- Protéine centrale nommée **intégrateur** car son activation permet l'intégration de beaucoup de signaux venant de **l'extérieur**
- **Facteur de transcription** avec beaucoup de gènes sous sa dépendance, **gène suppresseur de tumeur**, grand centre d'intégration de l'information dans la cellule

Rôle : Entrainer l'expression d'un grand nombre de gène que p53 a sous sa **dépendance**

Activable par / Sous la dépendance de nombreux signaux : un **stress cellulaire** (quel qu'il soit, on a une activation de p53), par exemple :

- Télomères non fonctionnels
- Endommagements à l'ADN par des agents génotoxiques (qui endommagent l'ADN)
- Signaux prolifératifs supra physiologiques résultent généralement de l'activation d'oncogènes
- Facteurs métaboliques comme des dépressions en nucléotides

→ Autant de situations ou la cellule n'a pas envie de se diviser. P53 est activé de différentes façons, de nombreux mécanismes moléculaires aboutissent à son activation.

**p53 activée est capable d'activer des gènes, et ces gènes vont induire :**

- Sénescence cellulaire
- Un arrêt transitoire le temps de se réparer : quiescence
- La réparation de l'ADN s'il y a endommagement
- En cas de dommages trop importants, p53 active des gènes pro-apoptotiques (la cellule fait l'apoptose aka se suicide)
- Dans certains cas une différenciation cellulaire et un arrêt du cycle

## Il existe 2 voies d'activation de p53 :

Par modification post-traductionnelle de p53

1) Des agents **généotoxiques** (UV, RX...) activent à travers une cascade d'événements 2 couples de kinases effectrices : **chk1/chk2**.

2) Les kinases activent vont **phosphoryler** (très utilisée comme méthode) **p53** par des cascades de phosphorylation (non évoquées).

3) p53 activée joue un rôle de **facteur de transcription**.

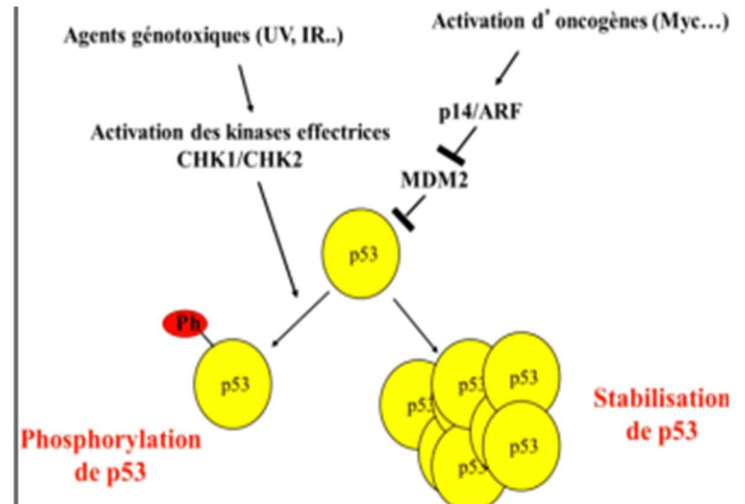
Par modification de la quantité de p53

But : ↑ la quantité de p53

1) **Activation de p14** à la suite d'une activation anormale (**sur-activation / supra physiologiques**) de gènes qui poussent la cellule vers un cancer

2) p14 est une pédale de frein capable **d'inhiber l'inhibiteur** de p53 (aka **MDM2**)

3) MDM2 inhibé, p14 active **indirectement** p53 et permet sa stabilisation de sa quantité (C'est un exemple d'accélération en inhibant les inhibiteurs)



**NB** : je vous conseille de lire d'abord

### Fiche d'identité de MDM2

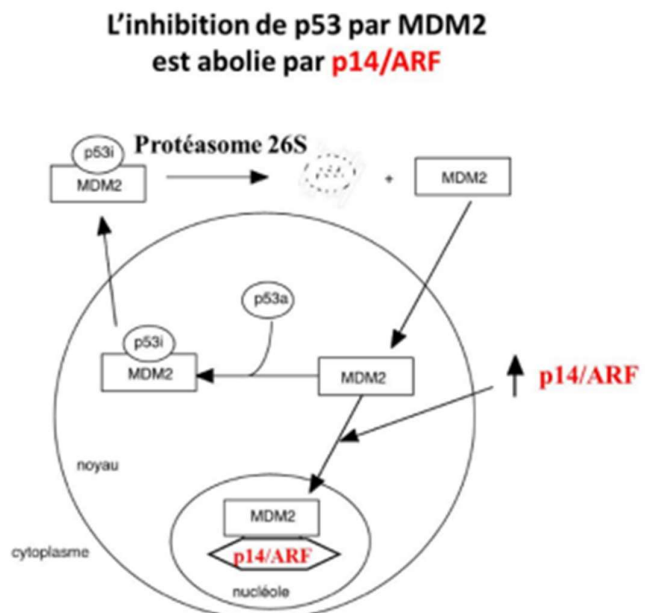
Et En cas de signal oncotique pour mieux comprendre comment la modification de la quantité de P53 se déroule vraiment

### Fiche d'identité de MDM2

MDM2 : Protéine **inhibitrice** de **p53**

Rôle : **Navette** entre le noyau et le cytoplasme

- 1) p53 est synthétisée dans la cellule et on la retrouve au niveau du noyau
- 2) Liaison entre p53 et MDM2 dans le nucléoplasme
- 3) MDM2 liée à p53 est capable d'exporter p53 du noyau vers le cytoplasme en passant par le port nucléaire
- 4) MDM2, une fois dans le cytoplasme, entraîne p53 dans le protéasome 26S (usine à dégradation des protéine)
- 5) P53 est dégradée, p53 peut être synthétiser mais sa concentration est faible
- 6) MDM2 retourne dans le noyau et ainsi de suite



En cas de signal oncologique :

- 1) Entrée en jeu de **p14/ARF**
- 2) **Fixation** de p14/ARF à **MDM2** pour l'empêcher de dégrader p53
- 3) P14 va entrainer MDM2 dans le **nucléole** et entraine sa **séquestration** dans le nucléole l'empêchant d'agir sur p53 (même si le nucléole ne présente pas de membrane)
- 4) P53 n'est pas dégradé (car pas amené dans le protéasome par MDM2 maintenant inactivé) et donc la concentration de p53 augmente donc arrêt du cycle cellulaire  
→ p53 devient stabilisé, il peut agir comme FT = facteur de transcription et entrainer de la sénescence/apoptose...

L'inactivation de P53 est présente dans de nombreux cancer.

Car pour avoir un cancer :

- on suractive les oncogènes (gène qui permettent le développement et la multiplication normale des cellules, donc une suractivité entraine une multiplication trop importante)
- on désactive les gène suppresseur de tumeur (gène qui permette d'arrêter une cellule qui se multiplierait trop, si on ne les désactivent pas le cancer progresse difficilement)

Néanmoins si l'une des deux conditions est déjà remplie le risque de cancer est accrue

Dédissss :

Dédi à vous mdr, je vous félicite de travailler cette fiche c'est super ! Vous allez apprendre pleins de trucs cette année, ça va franchement être sympathique mais par contre très dur on va pas se le cacher. Il faut beaucoup travailler mais je suis sur que vous êtes super motivé !!

C'est normal si vous ne travaillez pas à fonddd dès maintenant mais c'est sympa de prendre de l'avance et le temps passe vite ça va allerrrr ! 🤪

Vous avez de merveilleux tuteurs qui vous soutiendront a fond ! Et les meilleurs de tous, les tuteurs de biocell 😎 😎  
N'hésitez pas si vous avez des questions on est là pour vous ! Bisousssss

PS : c'est une fiche TTR je n'ai donc pas mis toutes les notions a apprendre dans ce cours les fiches complètes arriveront au fil de l'année

PS2 : J'ai séparer mitose et cycle cellulaire car je trouve ça plus clair comme ça mais le professeur mélange les 2 cours