



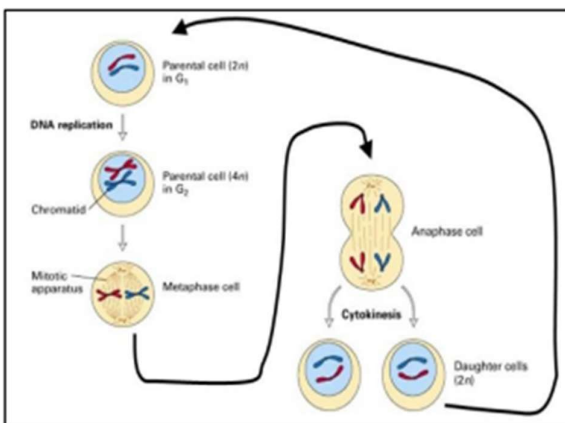
Cycle Cellulaire

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 événements 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 G₁, 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 **G₂**
- 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**

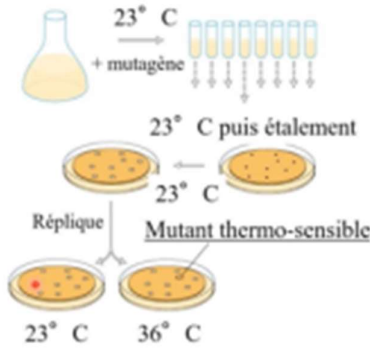
On peut garder ces cellules mutées dans des **conditions favorables** pour qu'elles poussent normalement, mais on peut aussi étudier leur phénotype (lors du blocage cellulaire) en les mettant dans des conditions **moins favorables**.

Mutation thermosensible	Mutation cryosensible
Sensible aux hautes températures	Sensible aux basses 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 (Prix Nobel de médecine pour ces travaux dans les années 70, osef) dans des cellules de levures (cellules **eucaryotes** unicellulaires, qui ressemblent dans leur fonctionnement de base à nos cellules à nous).

Un crible de mutants thermo-sensibles de levure pour identifier des mutants du cycle cellulaire (L. Hartwell, 1974)



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 à une **température non permissible** où 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)**.

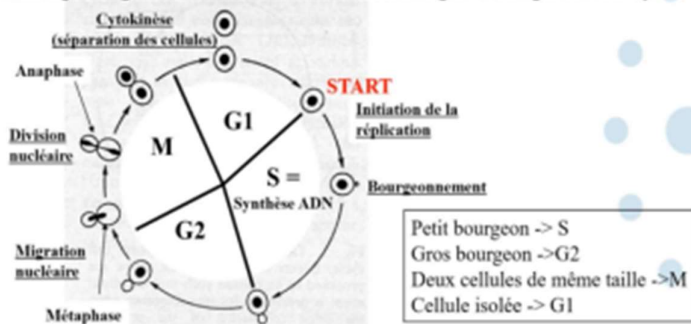
B. Isolement des souches mutantes dans 32 gènes essentiels pour la progression de la division cellulaire = gènes CDC

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 :

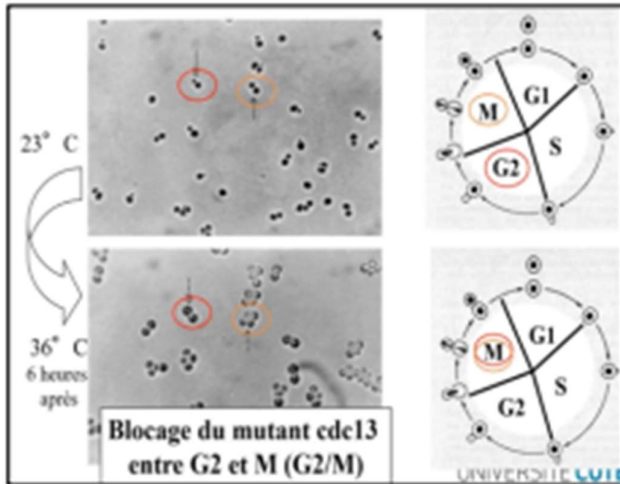
À quel phase du cycle les mutants *cdc* sont-ils bloqués à température non-permissible ?

La morphologie de la levure est caractéristique de la phase du cycle



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)

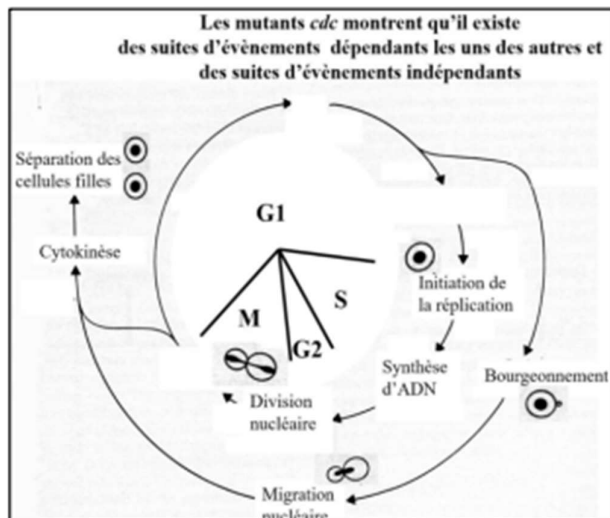
C. Détermination microscopique des différentes phases du cycle cellulaire : exemple du mutant cdc13



A température permissive	Division normale des cellules (différentes phases du cycle)
A température non permissive (présence de mutations)	<p>😊 Si la cellule est en phase M, la cellule est capable de compléter le cycle cellulaire (2 cellules) Car elle avait déjà passé le blocage avant qu'on ne change de température.</p> <p>😞 si la cellule est en phase G2, la cellule est bloquée, car elle ne peut pas continuer le cycle cellulaire à cause de la mutation CDC13</p>

++ 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.



Grâce à des analyses génétiques qui se sont complexifiées en combinant des mutants, on sait qu'il existe des séries d'évènements qui **dépendent les uns des autres** :

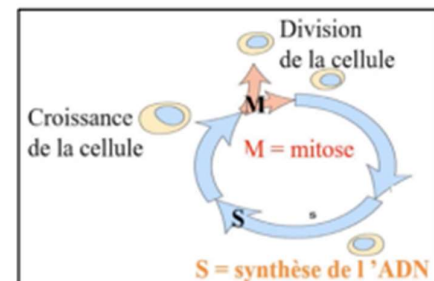
- La mitose implique que la synthèse de l'ADN soit complètement effectuée
- La synthèse de l'ADN implique que l'initiation de la réplication soit finie

Mais également **d'autres évènements qui peuvent être découplés**, passant par exemple de la phase G1 directement à la migration cellulaire.

2. Points de contrôles (checkpoint)

La **succession d'évènements** au cours du cycle cellulaire implique un **contrôle qualité** qui vérifie 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...

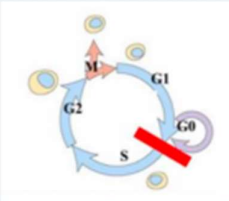


A. Différents points de contrôles du cycle cellulaire

1) CHECKPOINT G1/S

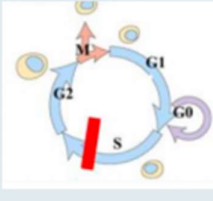
Contrôles :

- **Taille** des cellules
- **Nourriture**
- **Signalisation**
- **Dommages** à l'ADN



2) CHECKPOINT INTRA-S

→ S'active s'il y a un **blocage** de la réplication. Ce n'est pas un blocage forcément définitif : si le dommage n'est pas trop important, il peut être **réparé**
→ **Endommagements** de l'ADN



3) CHECKPOINT G2/M

Contrôles :

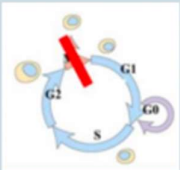
- Activation de **MPF**
- **Complétion** de la réplication
- **Taille** des cellules
- **Endommagement** de l'ADN



4) CHECKPOINT MITOTIQUE

Contrôles :

- **APC-CDC20** contrôlés par **MAD2+++**
- **Attachement** des chromosomes au fuseau

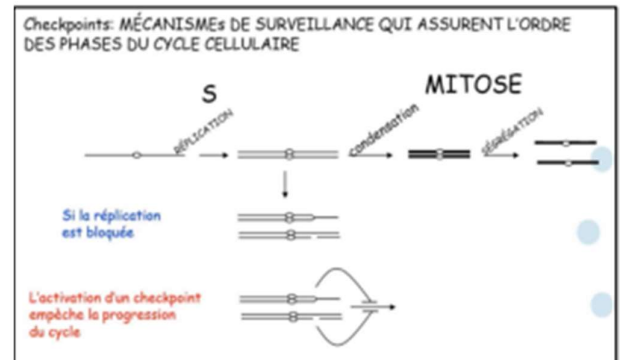


B. Universalités des checkpoints

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

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

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

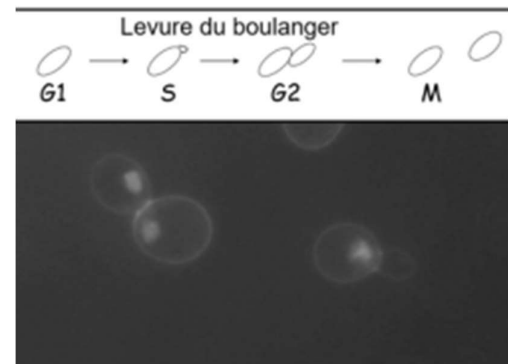
Les endommagements les **plus dangereux** de l'ADN sont les coupures **doubles brins** (car ce sont les plus durs à réparer, sans créer d'autres dommages de l'ADN) mais elles sont **minoritaires**.



Observations au microscope et expériences

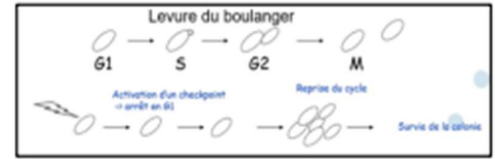
Expérimentalement, si on prend une levure (exemple : levure de boulanger à petit bourgeon avec une division asymétrique), on peut distinguer les cellules :

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



1) 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**

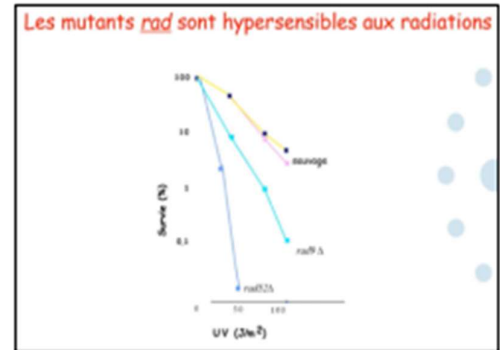


Rappel : Pour étudier un phénomène cellulaire, on fait souvent appel à la génétique, ici on utilise un type de mutants.

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

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

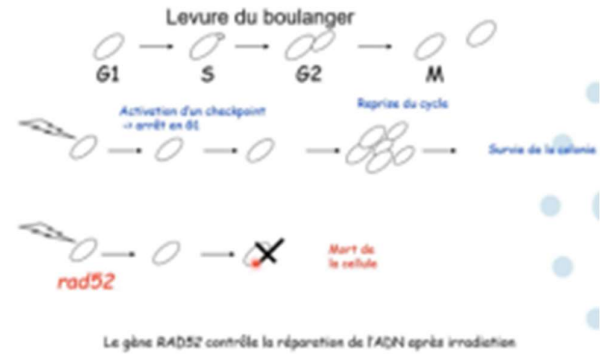
- Cellules **irradiées** : ne reprennent **pas** le cycle
- **Mutants** (exemple rad 52, rad 9) : cellules encore + **sensibles** aux radiations



2) 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.



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

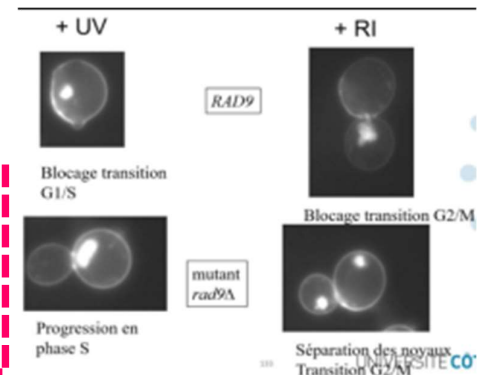
La cellule **mutée** (irradiée en G1) commence à se **diviser** tout de suite et continue à se **diviser même en présence de dommages**. Elle forme une **microcolonie** (contrairement à rad52) : les cellules de la colonie vont progressivement mourir à cause des dommages et des excès de défauts de l'ADN.

→ Le **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


4) Traitement d'une cellule qui porte des agents chimiques de MMF

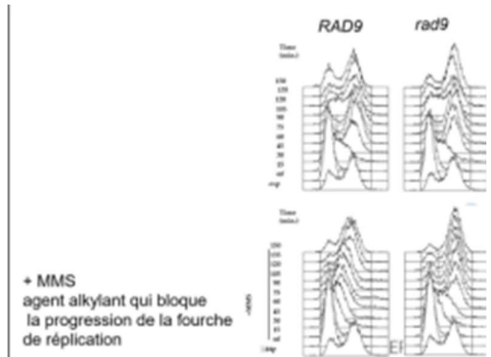
Autre source de dommages : Agents **chimiques** comme des agents **alkylants** qui vont endommager l'ADN

Exemple d'agents alkylants : MMF (Méthyl Méthane Sulfonate)

Rôle des agents alkylants : **Bloquer** la progression de la souche

On va suivre le destin de cellules sauvages, de levures sauvages et mutées pour rad9 qui ont été traitées au **MMF**.

 Résultats de la cytométrie de flux pour analyser le cycle cellulaire des cellules traitées au MMF



→ Cellules sauvages : Très fortement **bloquées** en **G1**, puis lorsqu'elles sont **réparées**, elles vont **continuer** leur cycle cellulaire. Elles repartent toutes en mêmes temps : ce sont des cellules **synchronisées**.

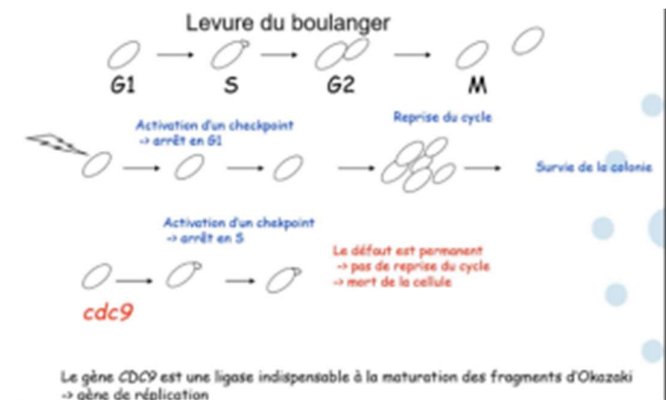
→ Cellules mutées rad9 : **Non** bloquées en G1, elle finissent le cycle et **meurent** (à cause de ses dommages)

5) 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.

 Expérience : Par une étude **d'épistasie** = (**couplage** de 2 mutations ensemble dans la même cellule) : **cdc9 + rad9**

But : Voir si rad9 est aussi un checkpoint repérant un défaut mitotique créé par une mutation endogène (oui)

Conclusion :

→ La cellule ne reconnaît pas le dommage quand CDC 9 et rad9 sont mutés, elle ne s'arrête pas en phase S, mais prolifère jusqu'à former une microcolonie puis finit par mourir.

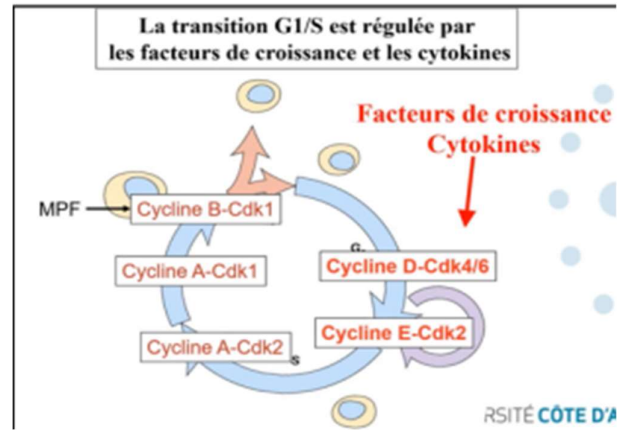
→ Ces mécanismes de checkpoint (exemple : cdc9) sont **universels** quel que soit le type de **dommage** ou type de **transition**, « c'est vraiment le cœur de la fonction des cellules ».

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. Chaque transition est initiée par des couples Cycline et CDK différents à chaque fois.

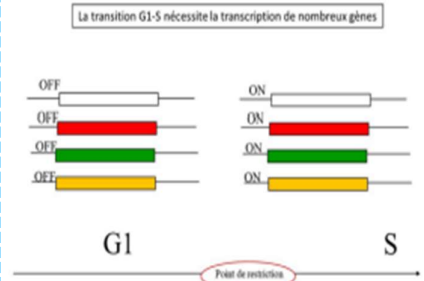
Pour entrer en phase **S**, il faut activer la transcription des gènes qui sont indispensables à la réplication.



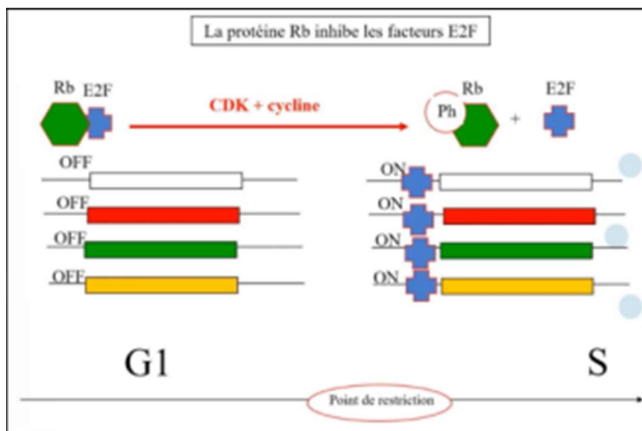
REGULATION DE LA TRANSCRIPTION :

Pendant la phase **G1**, l'expression des gènes polymérases, 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).

Lieu d'action : Fixation sur le promoteur (cf. biomol) de ces gènes
 Δ E2F n'est capable de se fixer sur les promoteurs des gènes que quand il est actif et fonctionnel, or E2F est inactivé 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.

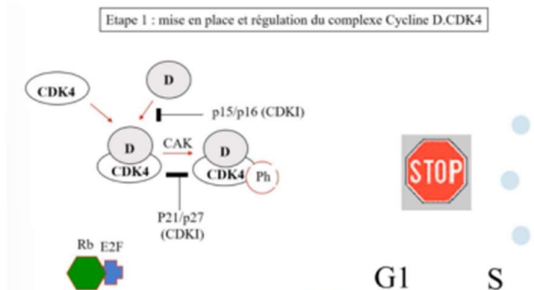
Comment E2F s'active-t-il via les Cycline-CDK ?

A. 1^{ère} Etape : Mise en place et régulation du complexe Cycline D-CDK4

→ EN début de G1, des ordres sont donnés pour mettre en jeu notamment le couple **Cycline D-CDK4++**

Plusieurs étapes :

- **Fixation** de la cycline D à CDK 4(assemlage)
- Formation d'un **hétérodimère**
 → **NON actif** : Formation NON suffisante pour que le couple fonctionne par lui-même
- Activation d'une autre kinase = **CAK** (cycline activating kinase) qui va se charger de **phosphoryler CDK4**
- Cycline D + CDK4 phosphorylé : complexe **ACTIF** : Il va agir comme une kinase

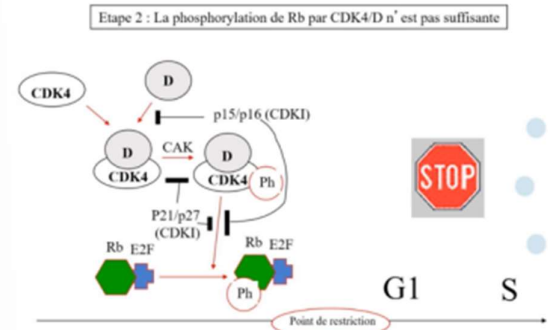


« Pédales de frein » = **Cdki** (petites protéines ayant chacune leur cible) à la réalisation de cette étape :

- Petites protéines : **p15, p16, p21, p27**... (protéine de 15 000 / 16 000... Dalton)
- En fonction du contexte cellulaire, on peut avoir besoin de **ralentir** le cycle cellulaire pour limiter la division, et dans ce cas-là, j'appuie sur des **pédales de frein** en exprimant le produit de ces gènes (p15, p16) qui vont **inhiber** différentes étapes d'activation (formation du complexe cycline D-cdk4, activation par CAK, phosphorylation du Rb...). Certains limiteurs de cdk peuvent agir à **plusieurs** niveaux.

B. 2^{ème} Etape : Phosphorylation de RB par Cycline D-CDK4

Une fois active, cdk4 va phosphoryler Rb mais cette première phosphorylation de Rb **n'est pas suffisante ++**, même si elle est **nécessaire ++** pour activer la transition G1/S.



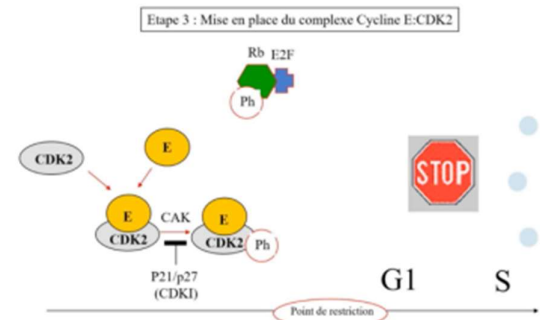
C. 3^{ème} Etape : Mise en place du complexe Cycline E-CDK2

→ Entrée en jeu du couple **Cycline E-CDK2 ++**

On retrouve le même schéma que précédemment :

- **Formation** du couple (NON actif)
- **CAK** active CDK2 par phosphorylation (actif)

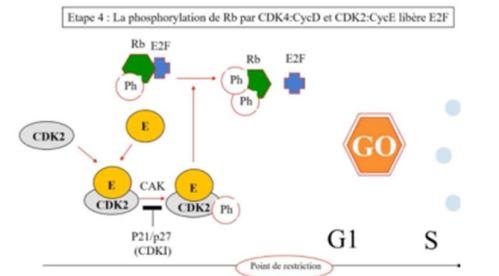
Même **pédale de frein** : p21/p27 (= **CDKI**) qui inhibe **CAK**



ATTENTION : On a **successivement** (pas simultanément) l'action des Cycline D-CDK4/Cycline E-CDK2

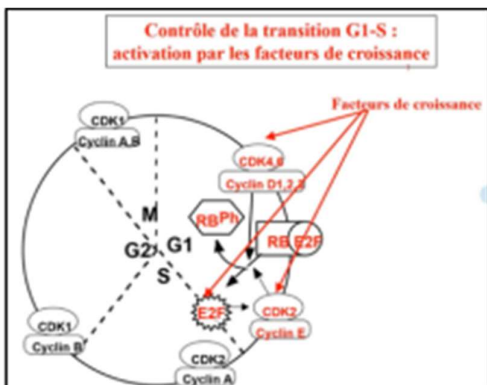
D. 4^{ème} Etape : Phosphorylation de RB par Cycline E-CDK2

Deuxième vague de phosphorylation de Rb réalisée par le couple **cycline E-cdk2** conduisant à une **hyperphosphorylation** de Rb. Elle est **suffisante** (et par logique, elle est aussi **nécessaire ++**)



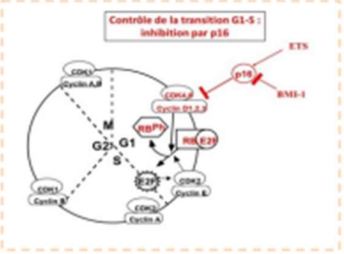
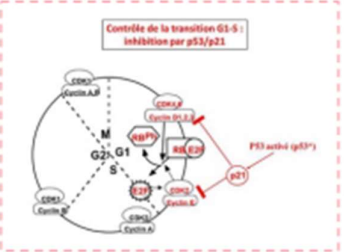
++ E2F est libéré (de sa liaison avec Rb qui perd sa capacité à l'inhiber par cette double phosphorylation) et capable **d'activer la transcription** des gènes de réplication **++**

E. Schéma récapitulatif du cycle cellulaire



FACTEUR DE CROISSANCE

Si on replace l'ensemble de ces réactions sur le cycle cellulaire, ce n'est que la reprise exactement de ce que l'on a dit : l'action successive de ces 2 couples cycline/cdk, dont l'activation est sous la dépendance de facteur de croissance (comme cdk, E2F...), a pour but de libérer E2F pour la transcription des gènes de la phase S.

SIGNALISATION	
Pédale d'accélération	Pédale de frein
<p>Les signaux en amont sont les facteurs de croissance, ils sont des signaux activateurs</p>	<p>Elle est activée en amont par des facteurs de transcription (ETS) ou d'autres inhibiteurs (BMI-1) qui sont des facteurs de régulation de l'homéostasie cellulaire. Ce sont ces FT qui intègrent de nombreux signaux endogènes ou exogènes et déterminent si la cellule se divise ou pas. Ces signaux agissent sur :</p>
	<p style="text-align: center;">Inhibition par p16 Inhibition par p53/p21</p> <p>Rôle : action sur les 2 couples p21 est sous dépendance du gène p53 p21 =, directement activé par p53 (quand p53 est activé, il active p21) p21 = pédale de frein</p> 

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 activé 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 activé joue un rôle de **facteur de transcription**.

Par modification de la quantité de p53

But : ↑ la quantité de p53

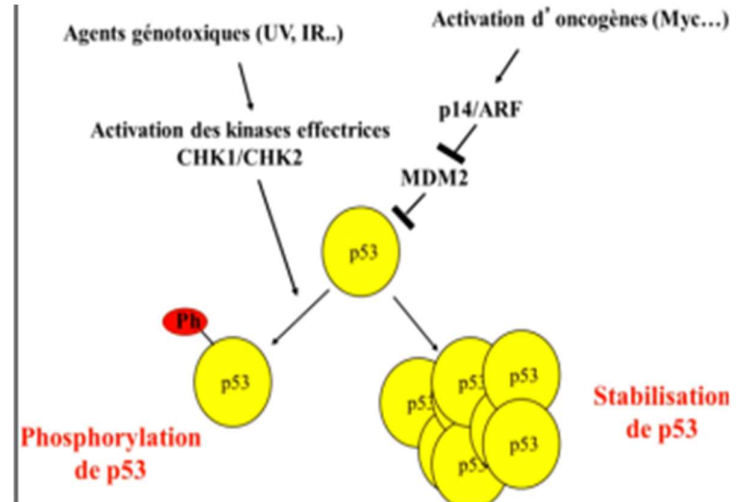
- 1) **Activation de p14** à la suite d'une activation anormale (**sur-activation / supra physiologiques**) de gènes (des **oncogènes** comme la protéine **Myc**) qui poussent la cellule vers un cancer
- 2) p14 est une pédale de frein capable **d'inhiber l'inhibiteur** de p53 (aka **MDM2**)
- 3) MDM2 inhibé, p14 active **indirectement** p53 et permet sa stabilisation de sa quantité (C'est un exemple d'accélération en inhibant les inhibiteurs)

Fiche d'identité de MDM2

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

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

- 1) p53 est synthétisé 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 protéines)
- 5) p53 est dégradé, p53 peut être synthétisé mais sa concentration est faible
- 6) MDM2 retourne dans le noyau et ainsi de suite

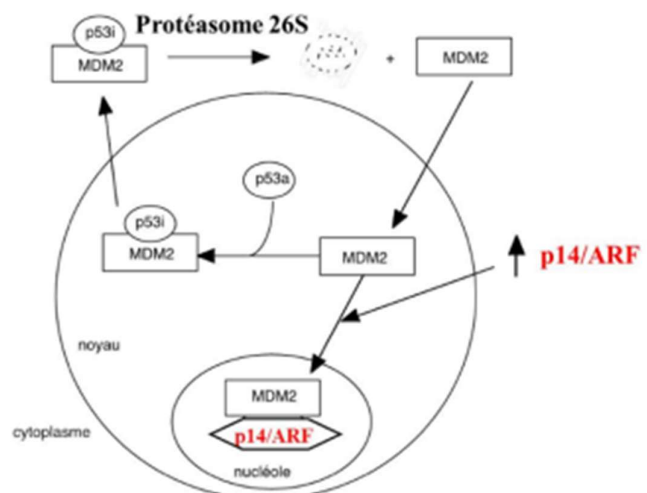


NB : je vous conseille de lire d'abord

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

L'inhibition de p53 par MDM2 est abolie par p14/ARF



En cas de signal oncologique :

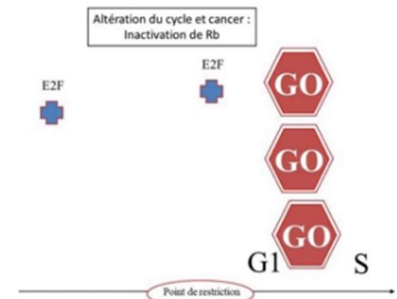
- 1) Entrée en jeu de **p14/ARF**
- 2) **Fixation** de p14/ARF à **MDM2** pour l'empêcher de dégrader p53
- 3) p14 va entrainer MDM2 dans le **nucléole** et entraine sa **séquestration** dans le nucléole l'empêchant d'agir sur p53 (même si le nucléole ne présente pas de membrane)
- 4) p53 n'est pas dégradé (car pas amenée 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...

B. Altération et pathologies

Tous ces mécanismes peuvent être **altérés** au cours du processus **cancéreux**, en agissant à différents niveaux.
 Par exemple :

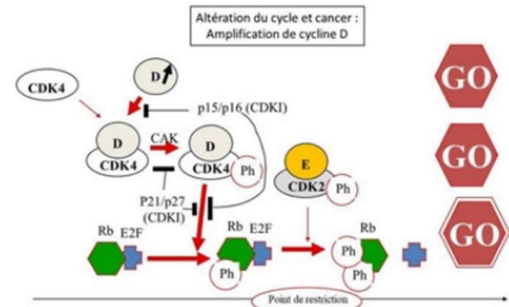
Inactivation de Rb

Un certain nombre de cancers vont inactiver Rb. Rb est un « **gène suppresseur de tumeurs** » ++ : c'est-à-dire qu'en son **absence**, on **favorise** le cancer. Lorsque Rb est muté, il **n'inhibe plus** E2F, ce qui provoque une **hyperactivation** du cycle et E2F s'active de manière inopinée.



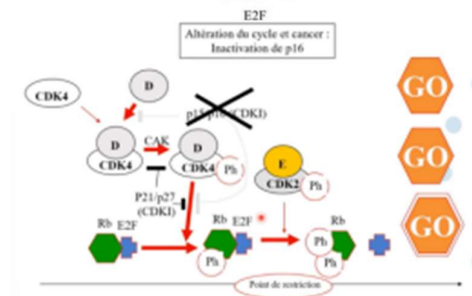
Amplification de cycline D

Dans certains cancers, la cycline D peut être **amplifiée**, ce qui favorise l'**activation** du cycle cellulaire et joue le rôle d'une **pédale d'accélération** trop utilisée.



Inactivation de P16

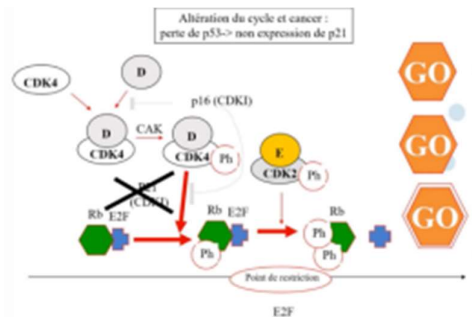
Dans de nombreux cancers, on peut inhiber la pédale de frein comme p16 et donc aller plus vite.



Non-expression de p21 ou perte de p53 :

Perte de p53 et donc perte de la capacité à pouvoir appuyer sur la **pédale de frein**, p21 ne s'exprime donc plus. Les réplifications sont trop nombreuses.

p53 est tellement important pour contrôler l'homéostasie cellulaire, que p53 mutée est impliquée dans à peu près la **moitié** de tous les cancers (peu importe l'origine) chez l'homme ++





5. Régulation de la réplication

A. La vitesse de réplication et les origines

Quelques ordres de grandeur sur :

- La vitesse de réplication
- Les origines de réplifications

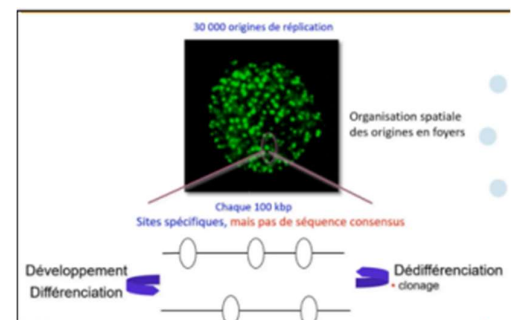
Genome	Taille	vitesse	Durée	Origines	Commentaire
 E. coli	4.6 Mbp	60 kb/min	40 min	1	Compatible avec durée du cycle
 Levure	14 Mbp (1 cm)	3 kb/min	20 min	330	La réplication durerait 40 heures avec 1 origine 1 culture = $4 \cdot 10^{10}$ cellules \rightarrow 400 000 km ADN synthétisé (Distance terre-lune)
 Human	3 Gbp (2 m)	3 kb/min	7 h	30 000	La réplication durerait une année avec une origine $2 \cdot 10^{12}$ km ADN synthétisé (2 années lumières) pendant notre vie (10^{16} cycles cellulaires)

BACTERIE ESCHERICHIA COLI (E.Coli)	<ul style="list-style-type: none"> • Petit génome procaryotique • Vitesse de réplication : 60 000 bases environ par minute • <u>Réplication totale</u> du génome de 40 minutes avec une origine de réplication • C'est une bactérie qui va se diviser entre 30 minutes à 1h
LEVURE	<ul style="list-style-type: none"> • Organisme unicellulaire mais eucaryote ++ • ADN structuré de manière plus complexe : avec une chromatine plus condensée que celle des bactéries • Vitesse de réplication moins importante : environ 3 000 paires de bases par minute • Génome très important : nécessité d'avoir plusieurs origines de réplication. Il existe un équilibre entre le nombre d'origines, la taille du génome et la vitesse de réplication • Réplication de l'ADN : environ 20 minutes N.B. : Si une seule origine de réplication dans le génome de la levure existait, la réplication serait de 40 heures (non compatible avec la vie de la cellule) • Sur 1L de culture de levure, $4 \cdot 10^{10}$ cellules donnent 400 000 km d'ADN synthétisé (soit la distance Terre-Lune)
HOMME	<ul style="list-style-type: none"> • Génome encore plus grand • Structure de la chromatine qui ressemble beaucoup à celle de la levure • Vitesse de réplication : environ 3 000 paires de bases par minute • Division du génome en phase S en 7 heures • Beaucoup plus d'origines N.B. : Si on n'avait qu'une seule origine de réplication, il faudrait environ 50 ans pour faire un bébé. Le nombre d'origines est très important pour que le temps de division de la cellule soit compatible avec le vie

B. Aspects cellulaires de la réplication

La **localisation** des origines de réplifications (30 000 dans le noyau de la cellule humaine) est mise en évidence en les visualisant par **fluorescence**. Les origines se regroupent en **foyer** : on peut les étudier d'un point de vue moléculaire.

La réplication ne s'initie **pas** au **hasard ++**. Savoir quel ordre reçoit les chromosomes pour démarrer leur réplication (à tel endroit) est quelque chose qui n'est pas complètement connu.



LEVURE	Les séquences d'ADN qui constituent les origines sont spécifiques , on parle de séquences consensus . À partir d'une séquence du génome, il est possible de reconnaître une séquence agissant comme origine de réplication.
HOMME	<p>Au fur et à mesure du développement, la différenciation n'utilise pas toujours les mêmes origines. Ces origines ne sont pas déterminées de manière stricte par l'ADN et elles peuvent changer au cours du développement et de la différenciation.</p> <p>😞 PROBLÈME : Pour le génome humain, on ne sait pas trouver les séquences d'origine car on ne trouve aucune séquence typique, particulière (consensus) permettant de les reconnaître en tant que telle.</p> <p>Il est tout de même possible de cartographier ses origines (localisation).</p> <p>Il va y avoir d'autres déterminants plus compliqués, au niveau de la structure de la chromatine qui les détermine.</p>

++ La détermination des origines de réplication n'est pas un phénomène génétique (ancré dans l'ADN) mais un phénomène épigénétique ++

NB : Par exemple, lors de différenciation du clonage ou de la reprogrammation des cellules, il y a une modification de la localisation des origines de réplication.

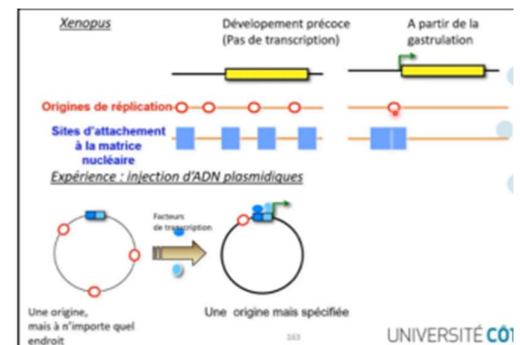
C. Origines de réplifications régulées au cours du développement

Exemple : Cartographie des origines de réplication chez le crapaud *xenopus* pour étudier le développement précoce

→ La transition n'a pas de transcription qui commence à partir de la...

→ L'étape de la gastrulation qui correspond à :

- Un changement très profond de la structure de la chromatine / chromosome
- Un changement du choix des origines de réplication et de l'attachement à la matrice nucléaire (squelette fibreux qui donne sa structure aux chromosomes à l'intérieur du noyau)



Expérience : Injection d'ADN plasmidiques

Ce déterminisme épigénétique des origines peut être mimé à travers des expériences



Conditions : On prend une petite séquence d'ADN fabriquée en laboratoire sur laquelle on place une origine (qui provient d'une cellule). Puis, on place cet ADN (avec l'origine) dans une cellule



But : Observer l'activité de cette origine



Résultats : Plusieurs origines s'activent peu importe la séquence de l'ADN

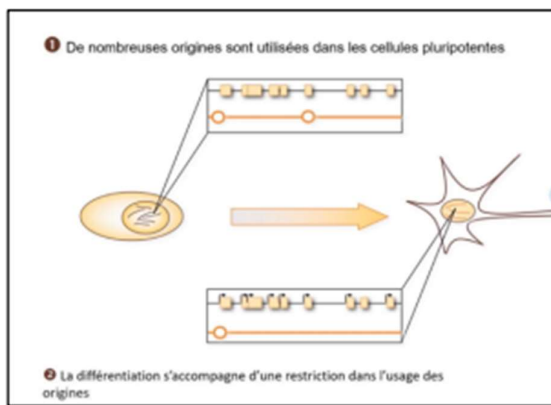


Conditions : On prend l'ADN que l'on met en présence d'un facteur de transcription



Résultats : Ce FT est capable de se fixer sur un site précis de l'ADN (boîte bleue sur le schéma). Ici, on force la transcription de l'ADN à un endroit précis (localisation de la transcription).

→ La transcription va déterminer la localisation épigénétique de ces origines de réplication au cours du développement.



Origines de réplication :

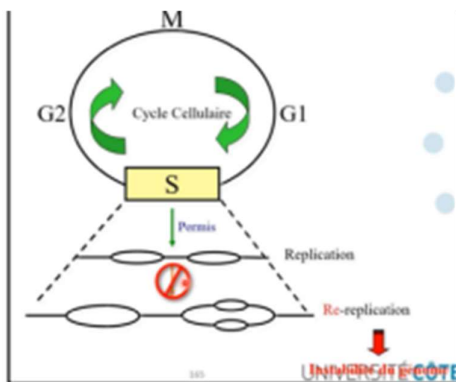
De nombreuses origines sont utilisées dans les cellules **pluripotentes**. La différenciation s'accompagne généralement d'une **restriction** en fonction des âges des origines.

Coordination entre :

→ **Le nombre de divisions qu'on effectue** ; de l'œuf jusqu'à l'organisme adulte

→ La **différenciation** qui se produit de manière **concomitante**, couplage direct entre la différenciation et la façon dont les cellules se répliquent

D. « Permis de répliquer » une fois



Le permis de répliquer une fois et une seule fois est important ++

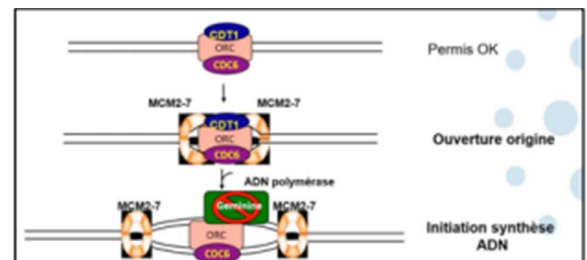
Si au cours du même cycle cellulaire, la réplication est **initiée plusieurs fois**, des problèmes de **stabilité** du génome vont survenir. Ce qui veut dire qu'il existe un mécanisme qui fait qu'une fois une origine activée au cours de la phase S, elle ne peut pas s'activer une **deuxième fois**. S'il y avait un problème de **re-réplication**, on aurait un **excès d'ADN** qui va se recombinaison et former des **mutations**. Pour éviter cette instabilité du génome, il existe un mécanisme qui empêche cette re-réplication :

Permis de répliquer

Facteur donnant le « permis de répliquer »

Imaginez que vous êtes une séquence d'ADN en phase G1, en sachant que cette séquence a été déterminée (génétiquement ou épi génétiquement en fonction des organismes) à un endroit donné du génome.

Plusieurs étapes se succèdent :



1) **Fixation** du complexe **ORC** (Origine Replication Complex) : ce complexe est essentiel pour la mise en place de la **machinerie de réplication**

2) Arrivée de **CDT1** (protéine) : elle est recrutée par la protéine **ORC** (dans la future origine de réplication). CDT1 est importante pour recruter des acteurs essentiels de la réplication aka les **hélicases**

3) Ce facteur (CDT1) agit avec une protéine = **CDC6**

ORC + CDT1 + CDC6 : permettent la réplication

Si on reçoit les signaux, on peut faire la transition G1/S

4) **Assemblage** d'un ensemble d'hélicases de réplication : protéines **MCM2 jusqu'à MCM7**.

Hélicases = enzymes capables de **dérouler** l'ADN, ce qui est essentiel pour initier la réplication

5) **Ouverture** de l'origine puis les hélicases commencent leur voyage pour former les 2 fourches de réplication (bidirectionnelles)

6) Arrivée du **gémimine** (à la suite du voyage) = protéine capable **d'inhiber CDT1**

7) CDT1 (rappel : nécessaire pour la réplication) part

→ Sans CDT1, la re-réplication est impossible

Excès de CDT1 induit une re-réplication

Condition expérimentale : On donne un **excès** de **CDT1** à la cellule

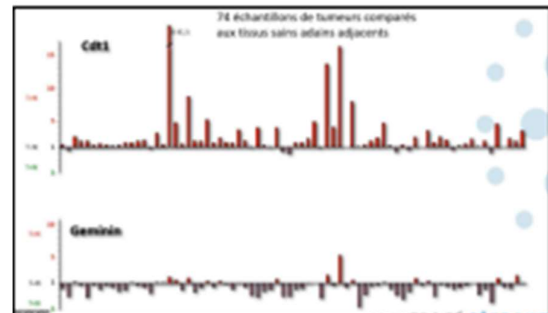
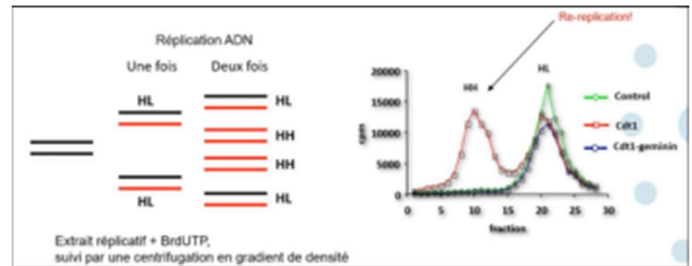
Résultat : On **empêche l'inhibition** de CDT1 car l'excès de CDT1 est dominant son l'inhibition par la géminine

Par des techniques d'études de la réplication in vitro, on peut montrer **qu'un excès de CDT1** va entraîner **un excès de réplication**. On peut le mesurer par l'apparition de brins qu'on appelle « lourd-lourd » en mettant un précurseur de nucléotides, qui confère une densité plus importante à l'ADN.

CDT1 surexprimé dans des cancers colorectaux

Ce mécanisme se passe aussi dans des **cancers humains**, où ce phénomène est utilisé par les cellules **cancéreuses**. Une étude a été faite dans des cancers colorectaux, sur des tumeurs humaines.

On s'aperçoit que cet excès de CDT1 qui entraîne une **instabilité génétique** de réplication est utilisé par les cellules tumorales. C'est ce qui leur confère leur caractère tumoral. À l'inverse, **l'expression** de l'inhibiteur **geminine** a plutôt tendance à être **réduite**.



Dédisssssssssssssssssssssssssssssss :

N'imprimez pas ça ça ne vous sert à rien ptdr

Déjà avant tout si vous avez besoin d'aide ou si il y a des choses qui ne sont pas claire n'hésitez pas a ma le dire sur le forum courage vous allez voir ça va aller

Maintenant :

Merci a ma famille que j'aime fort <3 (#couspref)

Merci a mes potes qui étaient déjà passé en P2 avant moi (g lseum) aka Lisa et Juliète merci du soutient ^^

Merci a mes potes qui étaient avec moi en LAS 2 / L2 pour cette année mémorable et qui m'ont permis de tenir le coup 😊 Vous êtes trop fort mes vies

bisoussss