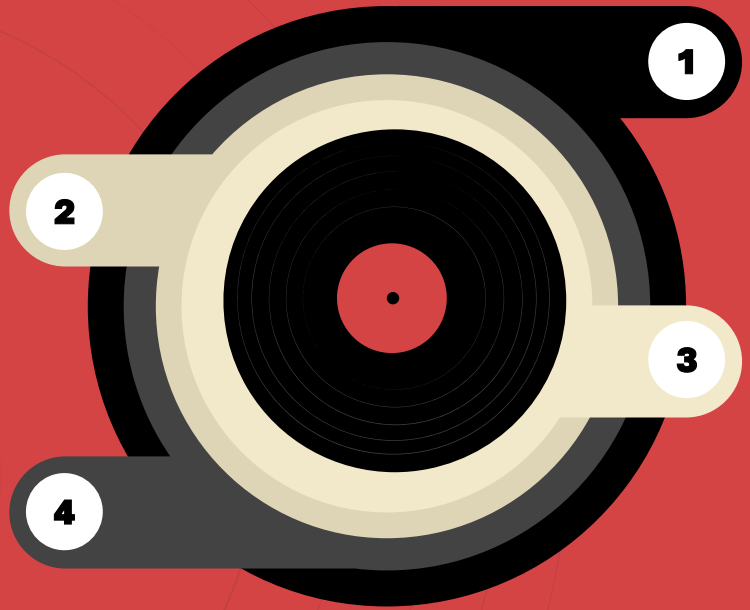
Gigi's Jazz vous présente...

LE CYCLE CELLULAIRE



Saralgie

SOMMAIRE



1er morceau
Régulation du cycle cellulaire

2eme morceau
Les checkpoints, nos points de contrôle

3eme morceau
La transition G1/S

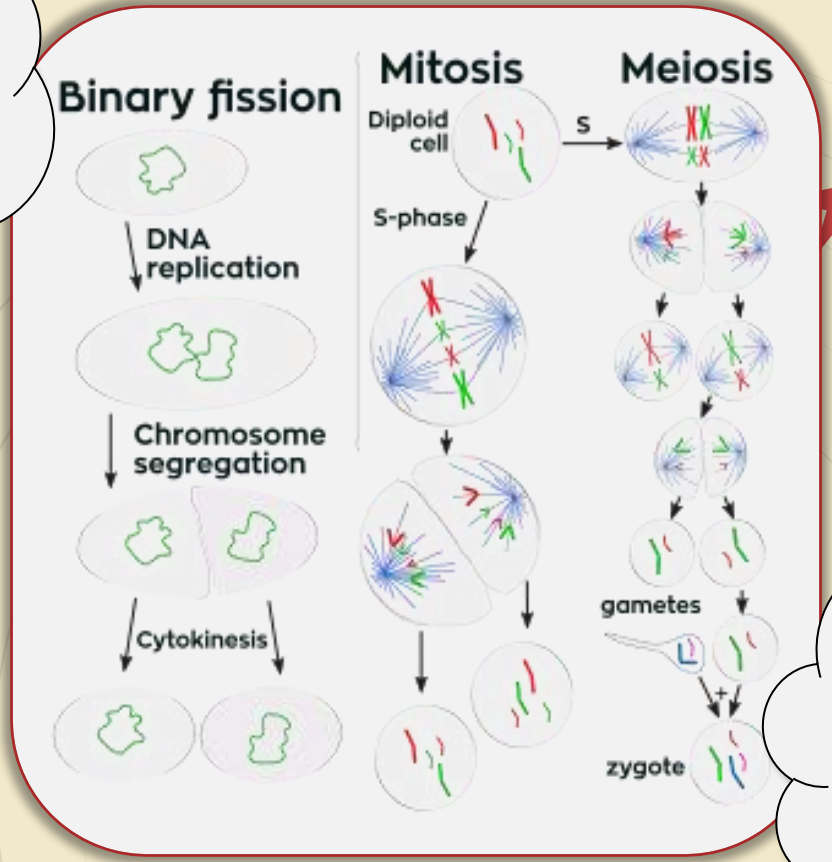
4eme morceau
P53 et cancers

1. RÉGULATION DU CYCLE CELLULAIRE

“Le rêve d’une bactérie est de devenir deux bacteries”

-François Jacobs

Cette phrase s'applique bien aux organismes procaryotes qui se divisent en 2 par défaut...



...mais pas pour les cellules eucaryotes qui, pour se diviser ont besoin d'un ordre!

Les évènements qui sont associés à cette division cellulaire s'appellent le

CYCLE CELLULAIRE!

Dont le but est qu'une cellule parentale donne deux cellules filles identiques ++

LES DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE CELLULAIRE

Plus précisément on retrouve…

1. En phase G1 on a une cellule à 2n chromosomes
2. En phase S on a la réplication
3. En phase G2 on a une cellule à 4n chromosomes
4. L'anaphase (étape de la mitose)
5. La cytokinèse: séparation des deux cellules filles via les myosines de type 2

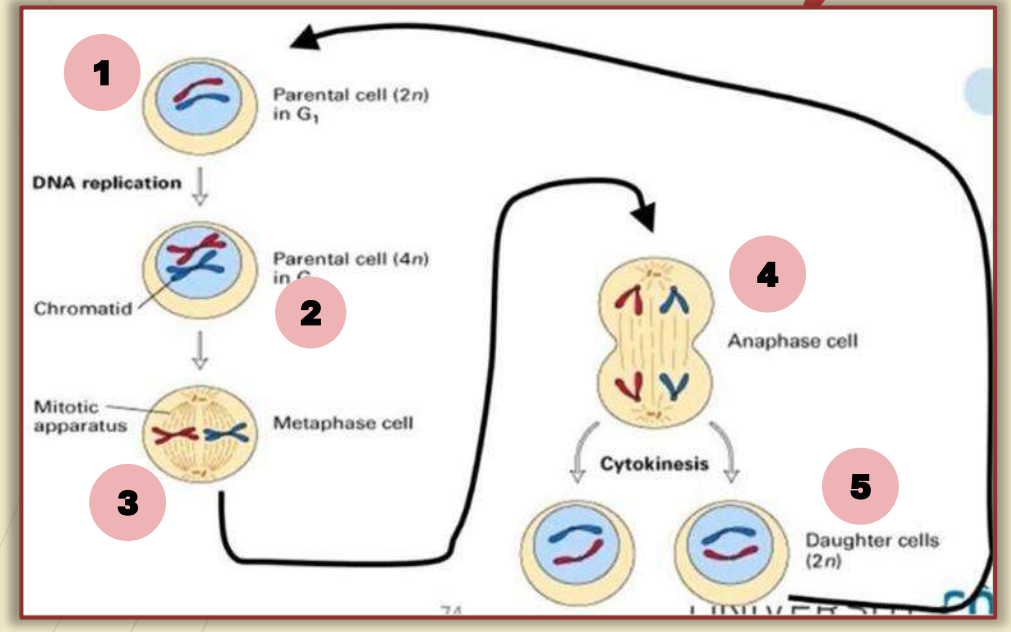


Schéma illustrant les différentes étapes du cycle cellulaire

? CE QU'IL FAUT ABSOLUMENT RETENIR ?

Le cycle cellulaire est :

→ Une **séquence ordonnée d'évènements**
→ Les **chromosomes sont dupliqués**
→Une **copie de chaque chromosome** est ségréguée dans chaque **cellule fille**.

C'est donc un processus complexe dont il est essentiel de connaître les mécanismes, pour comprendre son fonctionnement et ses dysfonctionnements dans les pathologies.

a) Identification des mutants de progression du cycle cellulaire

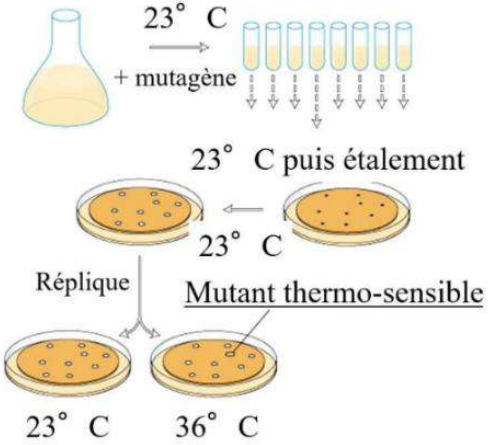
→**MUTATION CONDITIONNELLE**: **mutation dont l'effet délétère sur le cycle cellulaire ne s'exprime que dans certaines conditions**

MUTATIONS THERMOSENSIBLES	MUTATIONS CRYOSENSIBLES
Sensibles aux hautes températures	Sensibles aux basses températures

- A température permissive on observe un phénotype SAUVAGE (la mutation ne s'exprime pas)
- A température non-permissive on observe un phénotype MUTE (la mutation s'exprime)

EXPERIENCE DE LI HARTWELL

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



PRINCIPE DE L'EXPERIENCE

1. Il a fait pousser des levures à 23°C en présence d'un mutagène

2. Il les a étalées pour avoir des colonies à 23°C

3. Il a fait des répliques de la boite à 23°C sur une autre boite, cette fois à 36°C

Normalement, on est censés voir des colonies à 23°C et 36°C
Or, ici on constate qu'on obtient des colonies uniquement à 23°C...

CONCLUSION SUR CETTE EXPERIENCE



Cette incapacité de division lors de hautes températures est due aux **MUTANTS THERMOSENSIBLES** !

A partir de ces résultats, on a pu isoler différents gènes capables de contrôler la division cellulaire qu'on a appelé

GENES CDC

(CDC= Cell Division Cycle)

b) Isolement des souches mutantes dans 32 gènes essentiels pour la progression de la division cellulaire = gène CDC

A quelle phase du cycle les mutants CDC sont-ils bloqués à température non-permissive ?

PHASE G1	La cellule fille isolée va progressivement émerger
PHASE S	Progression de ce petit bourgeonnement pour arriver à la fin de la phase S à un petit bourgeon
PHASE G2	Gros bourgeon
PHASE M	Au début de la mitose, le bourgeon grandit pour donner deux cellules filles de même taille

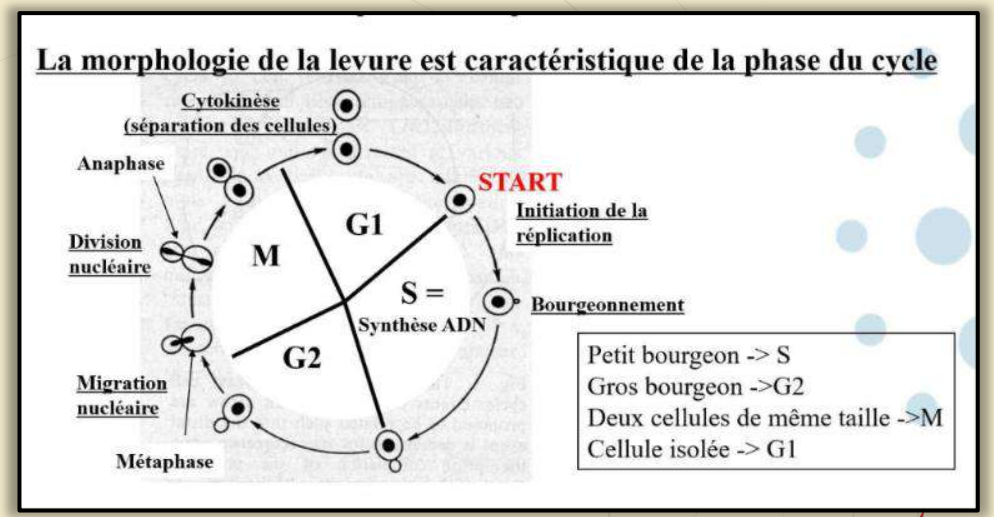


Schéma illustrant la division asymétrique d'une levure de boulanger

c) Détermination microscopique de différentes phases du cycle cellulaire : exemple du mutant CDC13

À TEMPÉRATURE PERMISSIVE

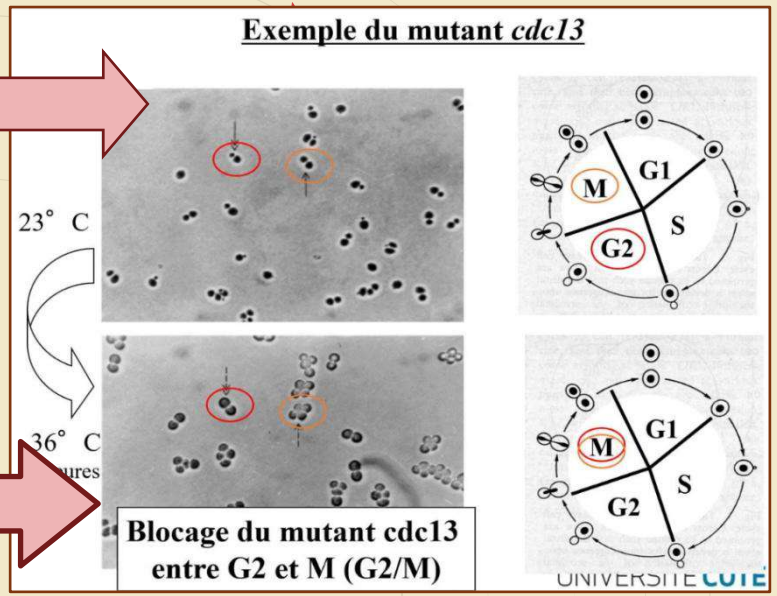
Les cellules se divisent dans des phases différentes du cycle

À TEMPÉRATURE NON PERMISSIVE

La cellule en **phase M** (en orange) est capable de compléter le **cycle cellulaire**

La cellule en **phase G2** (en rouge) reste essentiellement **bloquée**. Elle ne peut pas faire le cycle cellulaire.

La mutation CDC13 est bloquée quelque part entre G2 et M.



CONCLUSION SUR CETTE EXPERIENCE



Le

GENE CDC13

est impliqué dans la transition

G2/M

QCM TIME #1



A propos du cycle cellulaire, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) Les organismes procaryotes se divisent en 2 par défaut

b) Une cellule porteuse d'une mutation cryosensible est sensible aux hautes températures

c) Les gènes CDC sont des gènes capables de contrôler la division cellulaire

d) A température permissive on observe le phénotype sauvage (la mutation s'exprime)

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses

A propos du cycle cellulaire, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) Les organismes procaryotes se divisent en 2 par défaut
   VRAI

b) Une cellule porteuse d'une mutation cryosensible est sensible aux hautes températures
   FAUX: sensibles aux BASSES températures!

c) Les gènes CDC sont des gènes capables de contrôler la division cellulaire
   VRAI

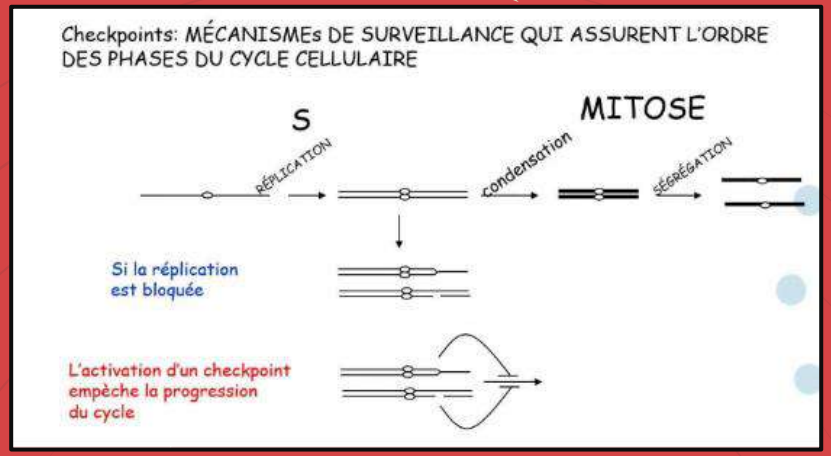
d) A température permissive on observe le phénotype sauvage (la mutation s'exprime)
   FAUX: piège parenthèses→ la mutation NE s'exprime PAS!

a) Les propositions A, B, C et D sont fausses
   FAUX



2. Les points de contrôle : les checkpoints

a) Universalité des checkpoints



Lorsqu'on fait face à un accident lors de la réplication, une cellule normale active un CHECKPOINT qui bloque la progression de la réplication pour limiter les erreurs!!

Pour avoir un ordre d'idée...
- 4000 lésions de bases
- 200 coupures simple brin
- 40 coupures double brin

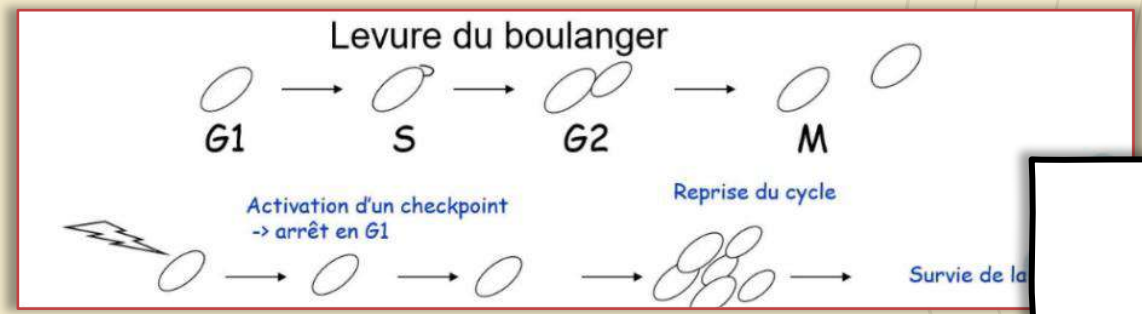
Les endommagements les plus dangereux pour l'ADN sont les COUPURES DOUBLE BRIN car elles sont les plus compliquées à réparer!!

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

EXPERIENCE N°1

IRRADATION D'UNE CELLULE NORMALE SAUVAGE



On irradie les cellules en **G1**

↓

Les cellules **arrêtent de se diviser**

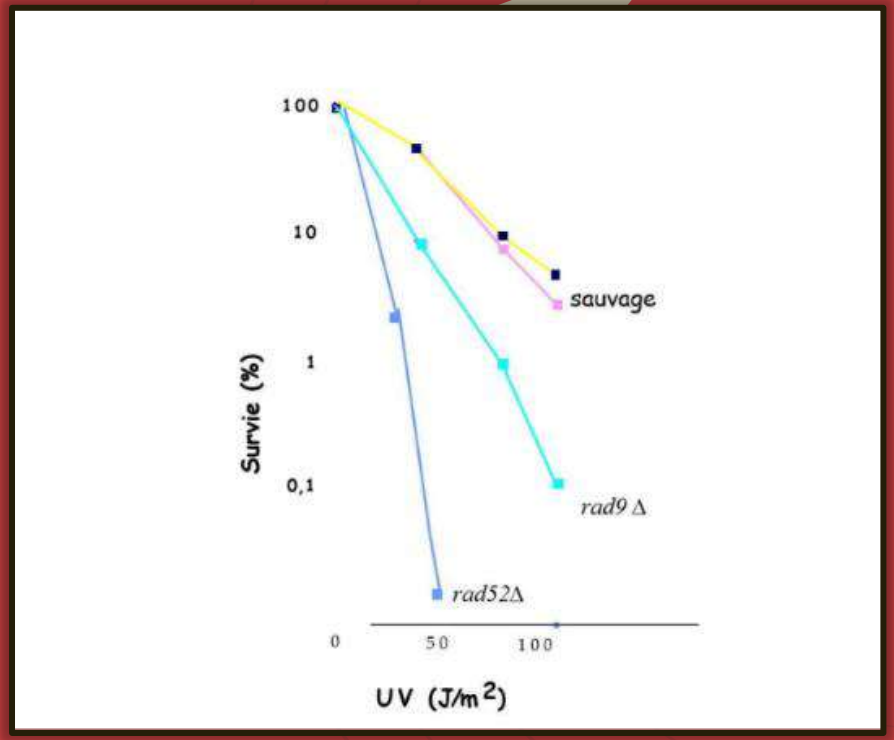
↓

La **réplication** ne peut pas de faire

↓

La cellule reprend le **cycle cellulaire**

Les mutants rad sont hypersensibles aux radiations



Graphique illustrant le taux de survie des cellules en fonction de la quantité d'irradiations reçue

Les mutations vont rendre ces levures hypersensibles aux radiations: c'est les **mutations rad.**

Suite à une dose d'irradiation, on voit que les **cellules sauvages** ont un taux de **survie plus élevée** par rapport aux cellules porteuses d'une **mutation rad**

EXPERIENCE N°2

IRRADATION D'UNE CELLULE QUI PORTE UNE MUTATION DE SENSIBILITE DE RADIATION AU RAD52

On irradie la cellule

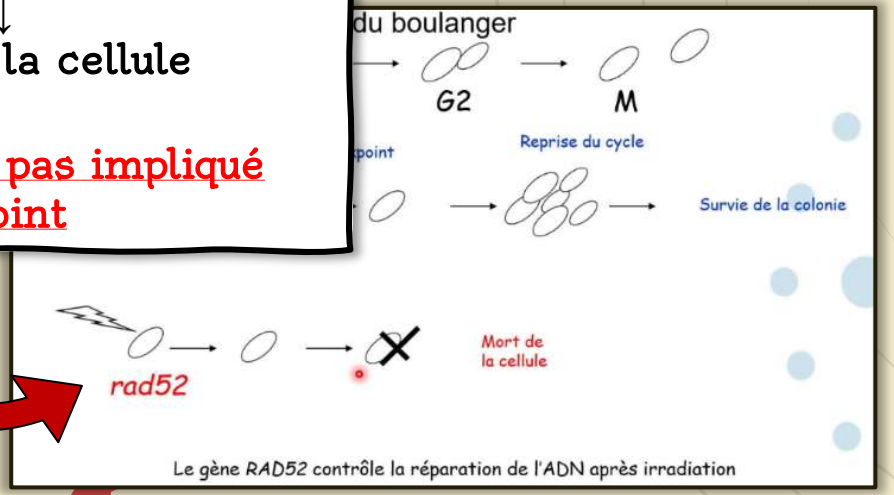
↓

La cellule s'arrête

↓

Mort de la cellule

→ rad52 n'est pas impliqué dans le checkpoint



rad52 contrôle une protéine impliquée dans la réparation de l'ADN après radiation

EXPERIENCE N°3

IRRADIATION D'UNE CELLULE QUI PORTE UNE MUTATION DE SENSIBILITE DE RADIATION AU RAD9

On irradie la cellule

↓

La cellule NE s'arrête PAS

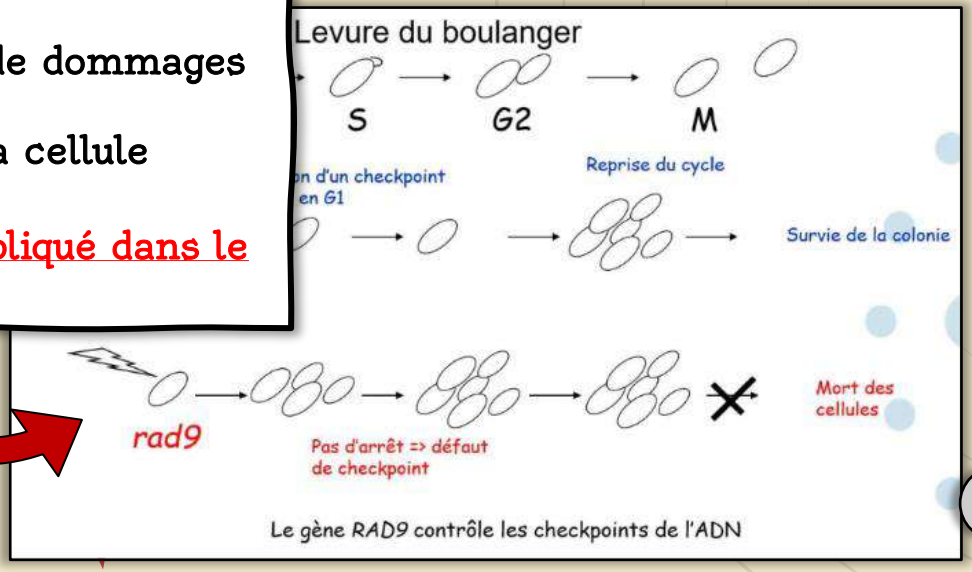
↓

Accumulation de dommages

↓

Mort de la cellule

→ rad9 EST impliqué dans le checkpoint



rad9 contrôle une protéine impliquée dans le checkpoint

EXPERIENCE N°3

IRRADATION D'UNE CELLULE QUI PORTE UNE MUTATION DE SENSIBILITE DE RADIATION AU RAD9

→**MUTANTS GENERAUX**: **différents types de dommages**

→**MUTANTS SPECIALISES** : **seulement un certain type de dommages**

rad9 est capable d'induire ainsi

un **BLOCAGE DE LA TRANSITION G1/S**

et un **BLOCAGE DE LA TRANSITION G2/M**

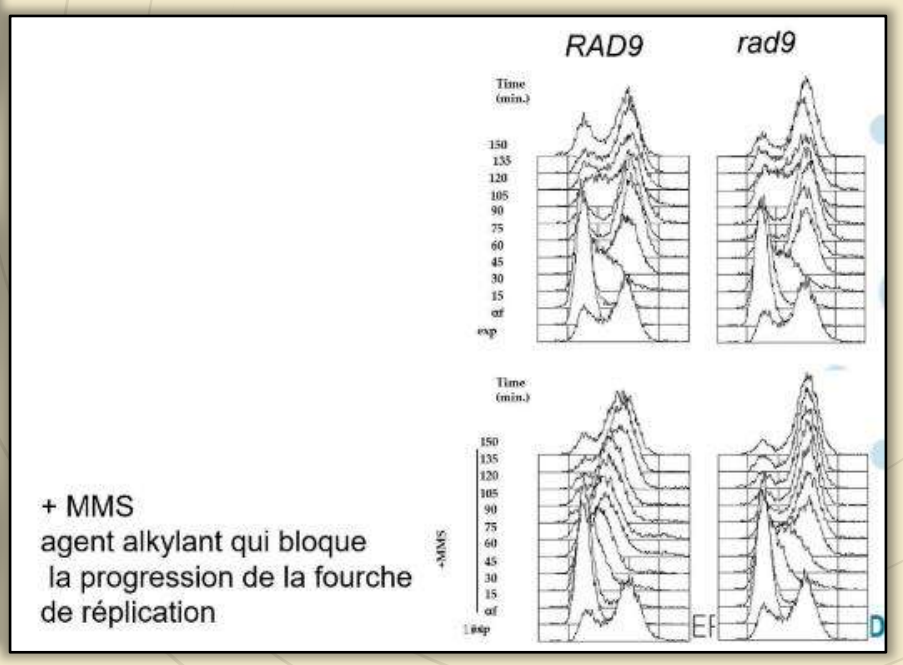
EXPERIENCE N°4

TRAITEMENT D'UNE CELLULE QUI PORTE DES AGENTS CHIMIQUES DE MMS

On peut varier la source de dommages en utilisant des agents alkylants (chimiques) tels que le MMS (méthyl méthane sulfonate) qui va bloquer la progression de la fourche.

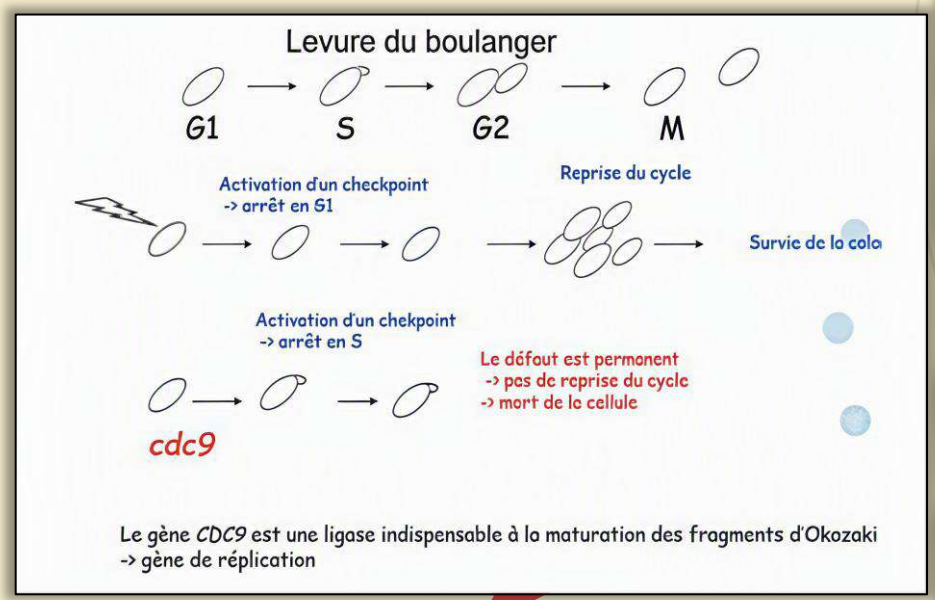
CELLULES SAUVAGES: bloqués en G1, vont reprendre le cycle cellulaire ensemble, une fois que toutes les cellules ont été réparées→ SYNCHRONISEES

CELLULES MUTES: ne vont pas rester bloquées, vont traverser le cycle et mourir



EXPERIENCE N°5

TEMPÉRATURE NON PERMISSIVE D'UNE CELLULE QUI PORTE UNE MUTATION CDC9



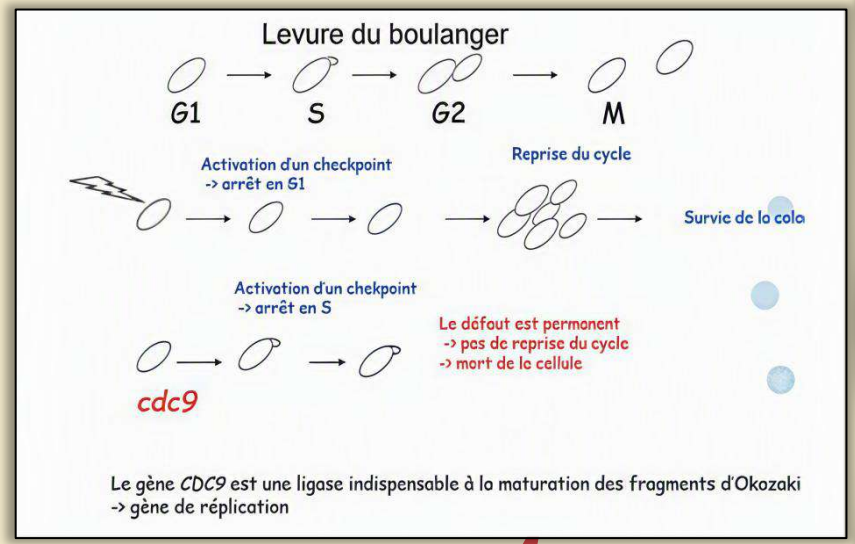
On peut varier la source de dommages en utilisant des agents physiques tels que la température. Ici on passe le mutant cdc9 à une température non-permissive.

Chez un **mutant cdc9**, la cellule se bloque en **phase S** car le gène CDC9, qui code une **ligase** essentielle à la réplication, est défectueux.

→Ainsi, l'arrêt est du à un problème **endogène** qui active un **checkpoint**!

EXPERIENCE N°5

Est-ce que c'est le même qu'avec les radiations cdc9 ?



Pour cela, les chercheurs ont fait une étude **d'épistasie** : ils ont couplé les 2 mutations ensemble dans la même cellule (= cdc9 + rad9) afin de voir si rad9 est aussi un checkpoint d'un défaut mitotique créé par une mutation endogène.

!! La réponse est OUI !!

la cellule ne reconnaît pas le dommage. Plutôt que de s'arrêter en phase S, la cellule va proliférer, faire une micro-colonie et mourir !

→ Ces mécanismes de checkpoint (ex : cdc9) sont universels, quel que soit le type de dommage ou de type de transition!!!

b) Les différents points de contrôle du cycle

CHECKPOINT G1/S qui contrôle :

-Taille des cellules

-Nourriture

-Signalisation

-Endommagement de l'ADN

CHECKPOINT intra-S qui s'active :

-S'il y a un blocage de la réplication. Ce n'est pas forcément un blocage définitif : s'il n'y a pas trop de dommages, on peut réparer la réplication

-Endommagement de l'ADN

CHECKPOINT G2/M :

-Activation de MPF

-Complétion de la réplication

-Taille des cellules

-Endommagement de l'ADN

CHECKPOINT MITOTIQUE

-ACP-CDC20 contrôlé par MAD2

-Attachement des chromosomes au fuseau

QCM TIME #2



A propos des checkpoints, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) Suite à une irradiation, une cellule portant le mutant rad52 ne s'arrête pas et meurt à cause d'une accumulation de dommages

b) Rad9 est capable d'induire un blocage lors des transitions G1/S et G2/M

c) Suite à un traitement au MMS, les cellules mutés s'arrêtent et reprennent le cycle une fois que les cellules endommagées ont été réparées

d) Le checkpoint mitotique vérifie l'attachement des chromosomes au fuseau

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses

A propos des checkpoints, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) Suite à une irradiation, une cellule portant le mutant rad52 ne s'arrête pas et meurt à cause d'une accumulation de dommages

FAUX: c'est rad9 ça! Rad52 est impliqué dans la réparation cellulaire pas un checkpoint!

b) Rad9 est capable d'induire un blocage lors des transitions G1/S et G2/M

VRAI

c) Suite à un traitement au MMS, les cellules mutés s'arrêtent et reprennent le cycle une fois que les cellules endommagées ont été reparées

FAUX: ce sont les cellules normales qui s'arrêtent, les cellules mutées vont poursuivre le cycle et ensuite mourir

d) Le checkpoint mitotique vérifie l'attachement des chromosomes au fuseau

VRAI

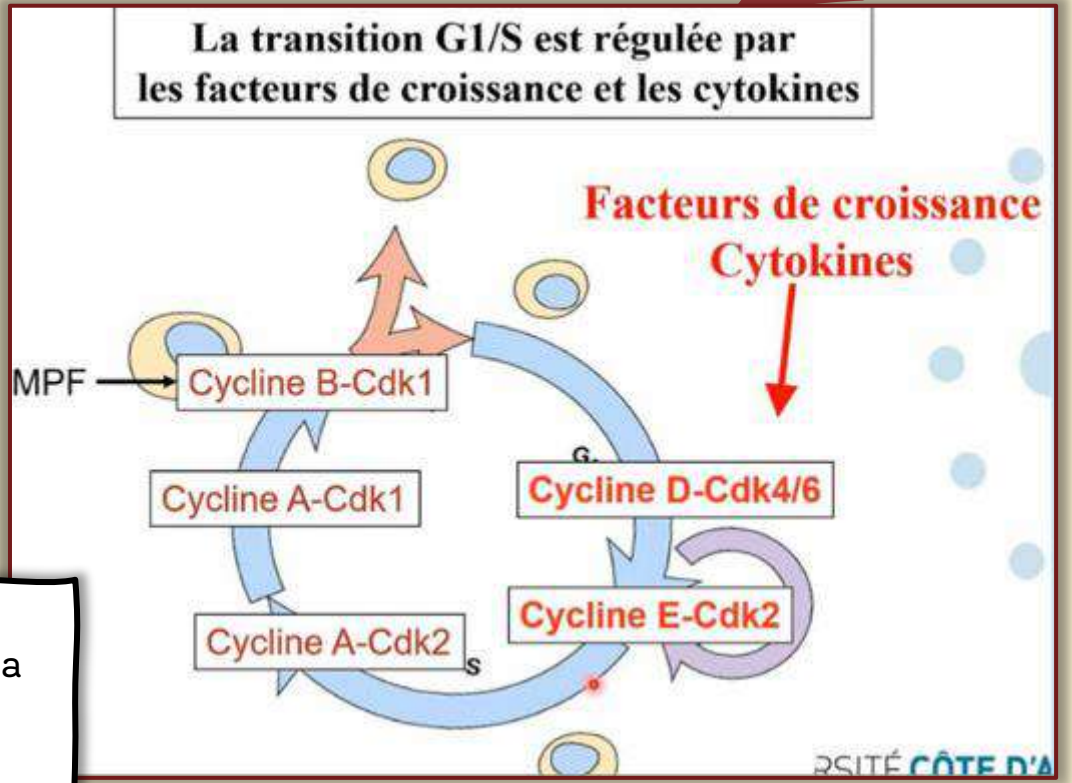
e) Les propositions A, B, C et D sont fausses

FAUX

3. La transition G1/S



La transition G1/S est la plus importante!!



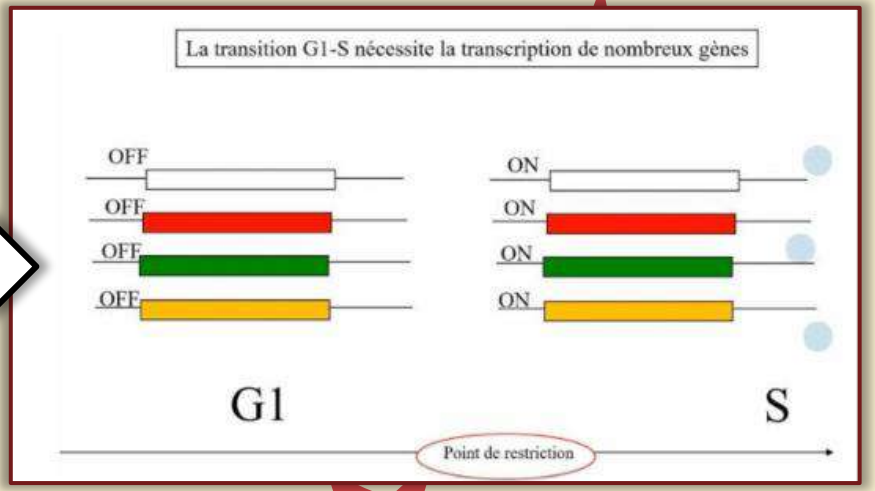
Car c'est là qu'on va prendre les « grandes décisions», à savoir si la cellule va se diviser ou pas!

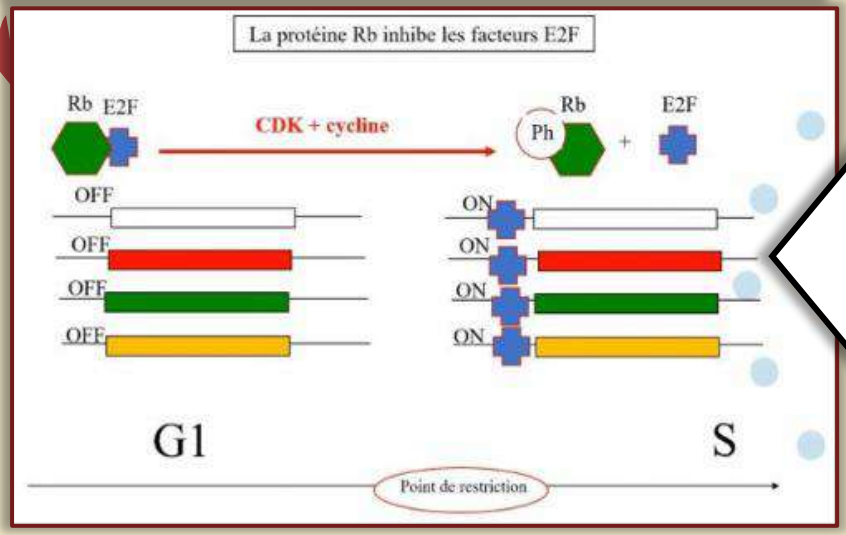
La cellule va donc recevoir des ordres (ex: molécules de signalement) qui vont déclencher une cascade d'évènements!

REGULATION DE LA TRANSCRIPTION

L'expression des gènes de la transcription (polymérase, ligase, hélicase...) est réprimée pendant la phase G1. Puis, en début de phase S, ils vont être activés "ON", ce qui va faire que la cellule peut se répliquer.

Ainsi, le contrôle de l'expression de ces gènes est la cible de ces mécanismes de régulation de la transition G1/S.





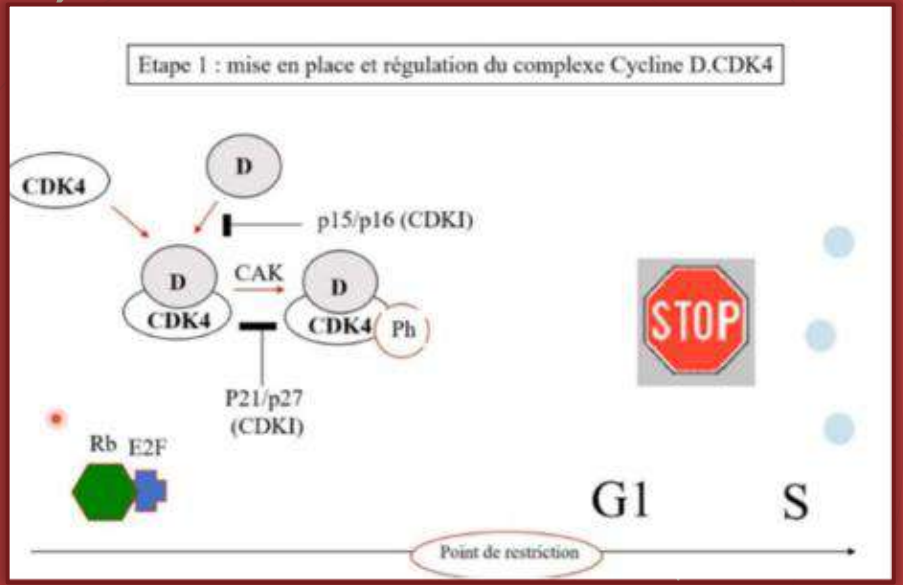
FACTEURS DE TRANSCRIPTION (FAMILLE E2F)

La famille E2F ++ sont des facteurs de transcription spécialisés pour activer les gènes de la réplication. Une fois que les gènes E2F sont "ON", E2F va se fixer sur le promoteur et activer la transcription de ces gènes.

En G1, E2F est séquestré par Rb, et pour la libérer, il faut que Rb soit phosphorylée par le complexe cycline/CDK

a) Les étapes de la transition G1/S

ETAPE 1: mise en place et régulation du complexe cycline D/CDK4

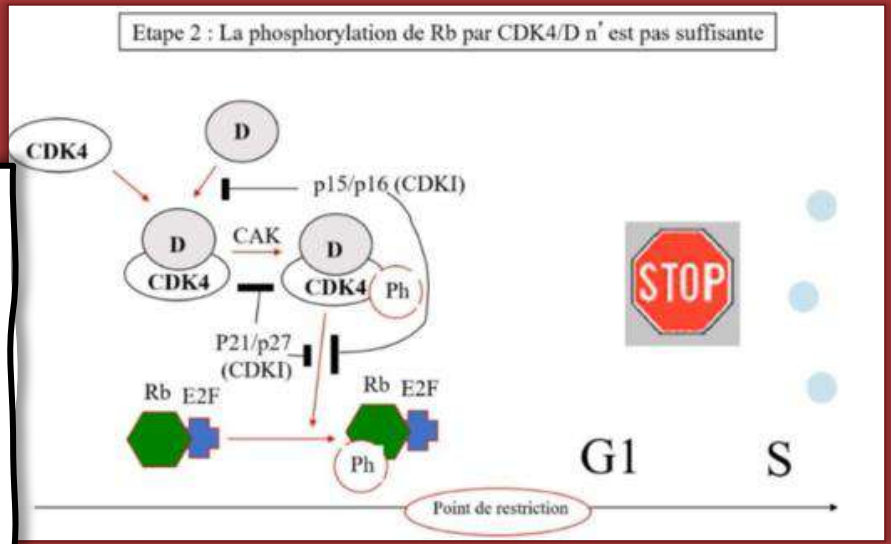


- **Début de G1**: la cellule commence à recevoir des ordres pour se diviser
- Le 1er complexe à s'activer est le complexe **cycline D/ CDK4 ++**
- Pour que l'activité kinase soit activé il faut que le Rb soit lié à E2F et qu'il y ait une interaction avec la cycline D et CDK4

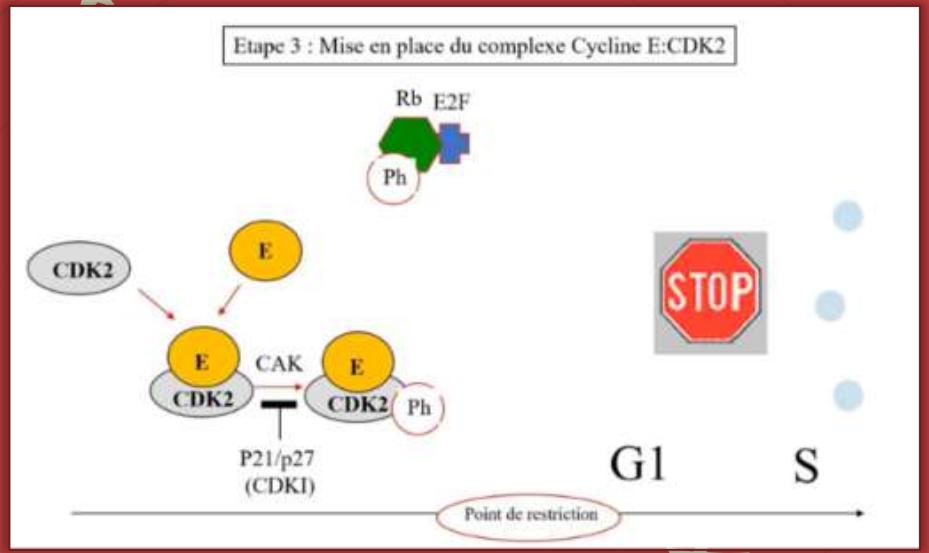
ETAPE 2: la phosphorylation de Rb par CDK4/ cycline D n'est pas suffisante

-Or pour activer le **complexe cycline D/CDK4** il faut que ce dernier soit phosphorylé par une autre kinase **CAK ++**
(Cycline Activating kinase)

- Ainsi, le complexe cycline D/CDK4 activé va phosphoryler Rb



ETAPE 3: mise en place du complexe cycline E/CDK2



- La phosphorylation de Rb par cycline D/CDK4 n'est pas suffisante puisqu'une deuxième phosphorylation est nécessaire

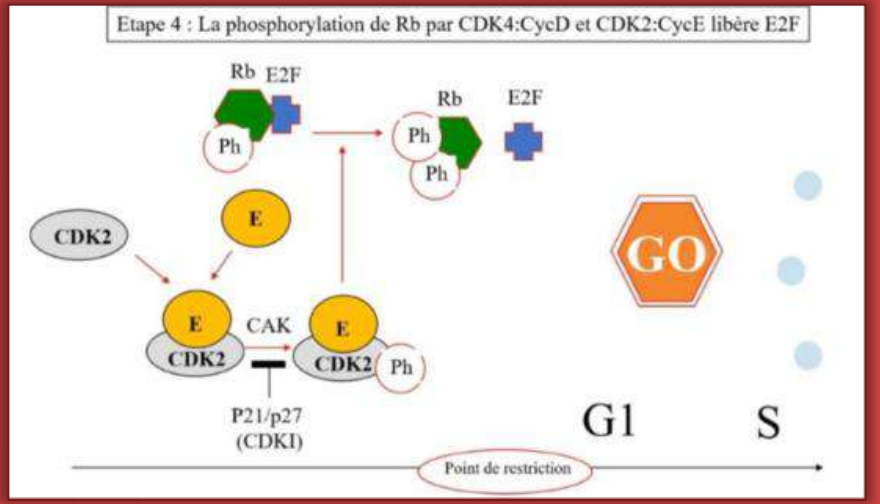
- Un autre complexe **cycline E/CDK2 ++** va phosphoryler à son tour Rb

ETAPE 4: la phosphorylation de Rb par CDK4/ cycline D et CDK2/ cycline E libère E2F

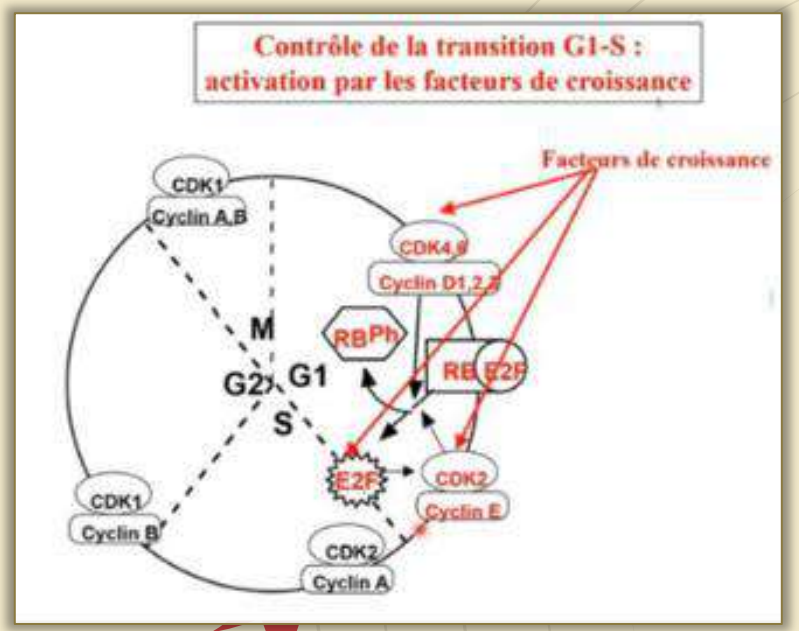
- Deuxième vague de phosphorylation de Rb par le couple cycline E/CDK2 → **HYPERphosphorylation de Rb = suffisante et nécessaire.**

- E2F est alors libéré et devient capable d'activer la transcription des gènes de réplication.

On peut donc passer la transition G1/S ++

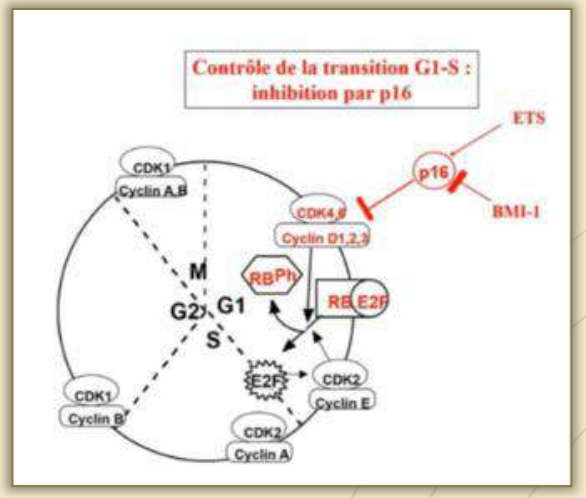


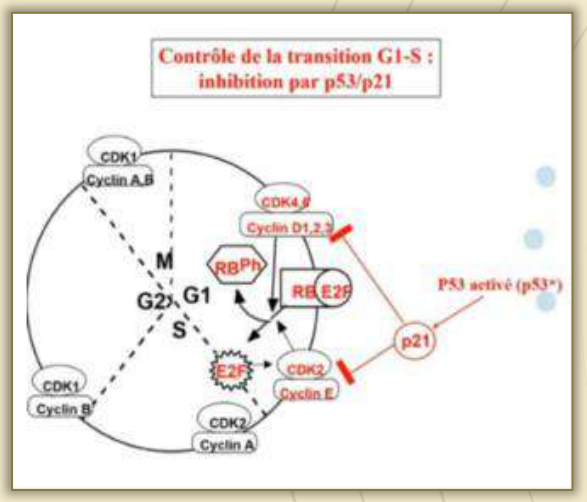
b) Schémas récapitulatifs du cycle cellulaire



FACTEURS DE CROISSANCE

L'action successive de ces **2 couples cycline/cdk**, dont l'activation est sous la dépendance de **facteurs de croissance**, a pour but de **libérer E2F** pour la transcription des gènes de la phase S





SIGNALISATIONS

PEDALE "D'ACCELERATION"

→facteurs de croissance

PEDALE DE "FREIN"

→facteurs de transcription ou inhibiteurs

Les signaux envoyés aux cellules peuvent agir sur:

- p16
- p21 qui est lui-même sous la dépendance de p53 (=pédale de frein)

QCM TIME #3



A propos de la transition G1/S, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) L'expression des gènes de la transcription est réprimée en début de phase S

b) La phosphorylation par le complexe cycline D/CDK 4 est suffisant pour libérer E2F de Rb

c) Suite à l'action du complexe cycline E/CDK 2, Rb nécessite une 3ème vague de phosphorylation pour passer la transition G1/S

d) P21 est sous la dépendance de p53

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses

A propos de la transition G1/S, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) L'expression des gènes de la transcription est réprimée en début de phase S
   FAUX: elle est activée « ON » en début de phase S

b) La phosphorylation par le complexe cycline D/CDK 4 est suffisant pour libérer E2F de Rb
   FAUX: il faut une 2ème phosphorylation par le complexe cycline E/ CDK2

c) Suite à l'action du complexe cycline E/CDK 2, Rb nécessite une 3ème vague de phosphorylation pour passer la transition G1/S
   FAUX: pas besoin d'une 3ème vague, la 2ème est suffisante (et nécessaire++)

d) P21 est sous la dépendance de p53
   VRAI

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses
   FAUX

4. p53 et cancers

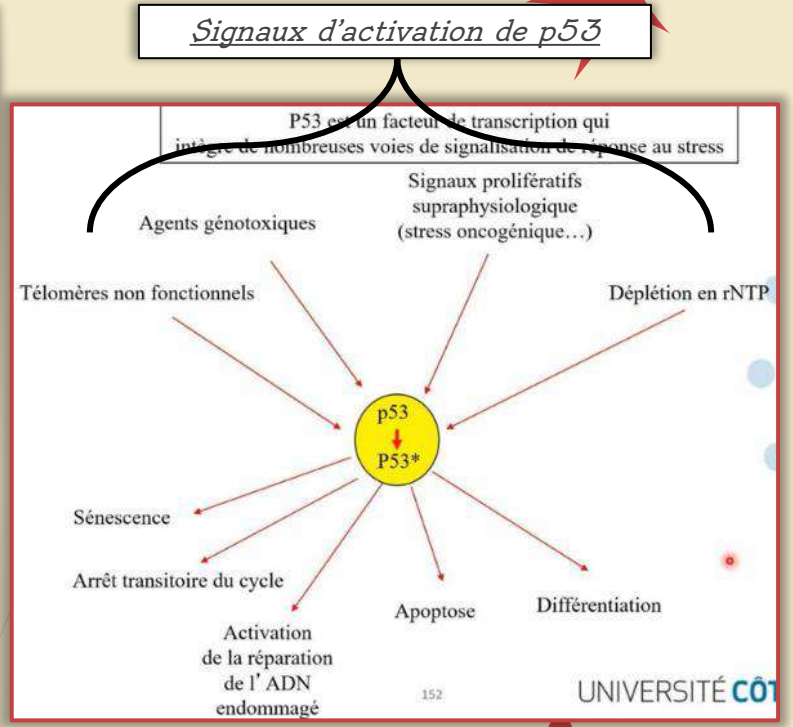


Dernière partie!!

a) p53 : une protéine « célèbre »

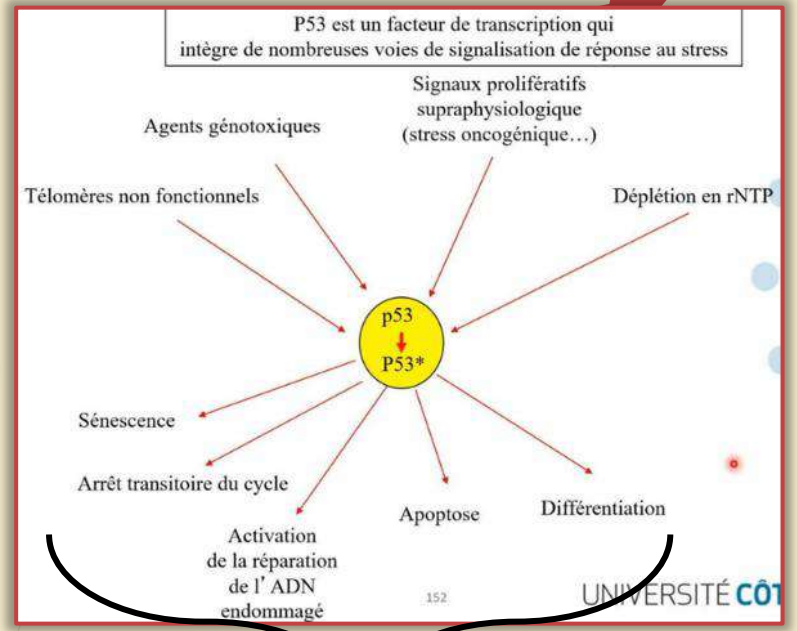
L'activation de p53 va être sous la dépendance d'un certain nombre de signaux :

- Endommagements à l'ADN par des agents génotoxiques
- Télomères non fonctionnels
- Signaux de prolifération supra-physiologiques résultant généralement de l'activation d'oncogènes
- Facteurs métaboliques comme des dépressions en nucléotides



En fonction du contexte différent de chaque cellule, p53 va activer des gènes qui vont à leur tour activer :

- **La sénescence cellulaire :** vieillissement cellulaire
- **Arrêt transitoire du cycle :** le temps de réparer les dommages puis de repartir
- **Réparation de l'ADN** si endommagements
- **Activation des gènes pro-apoptotiques :** suicide cellulaire
- **Différenciation et arrêt du cycle**

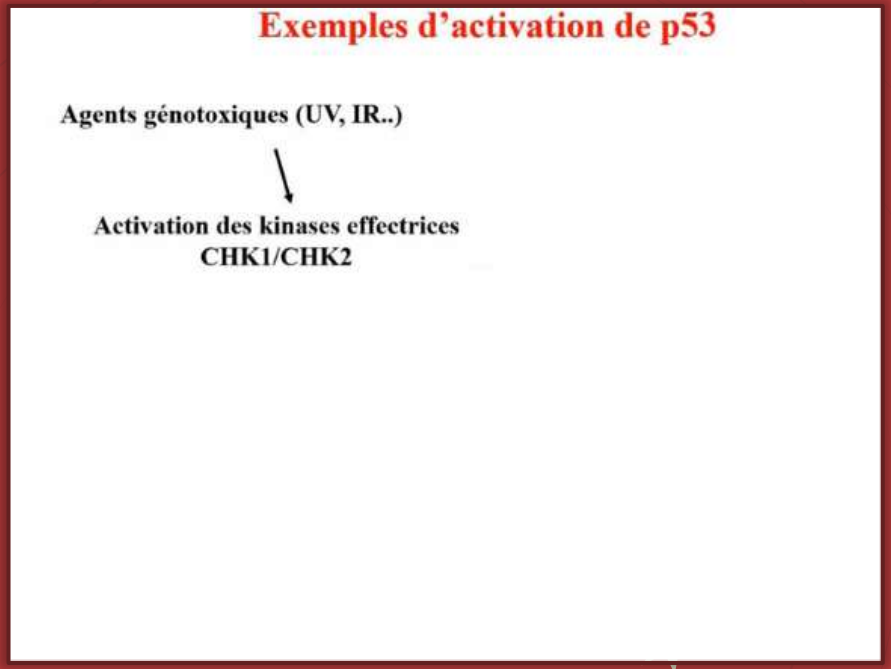


Réponses cellulaires possibles

Il existe deux voies d'activation de p53

1. Par modification post-traductionnelle de p53
2. Par modification de la quantité de p53

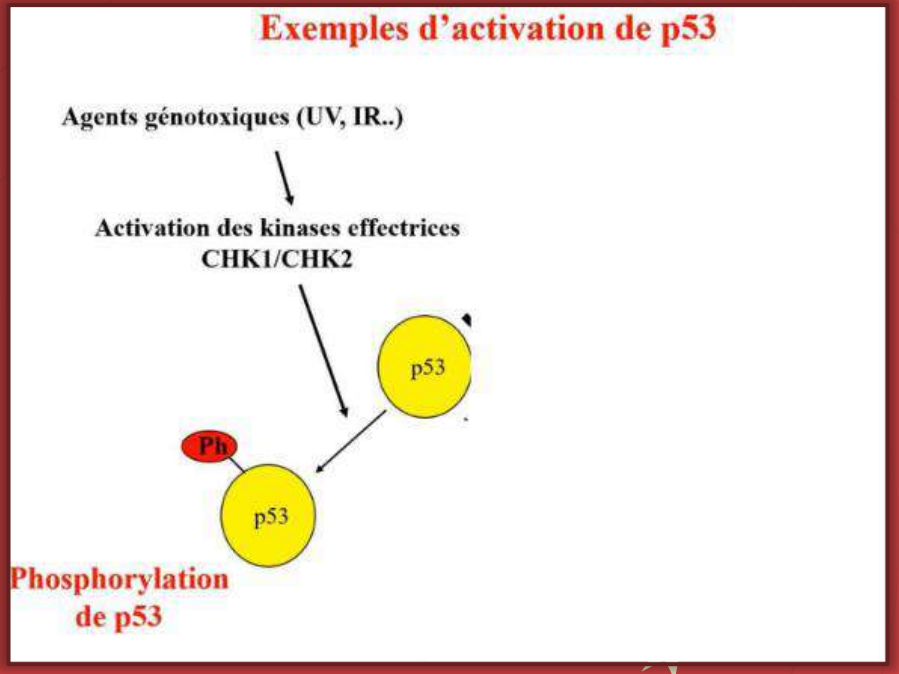
1. PAR MODIFICATION POST-TRADUCTIONNELLE DE P53



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

2. Les kinases effectrices vont phosphoryler p53 par des cascades de phosphorylation

1. PAR MODIFICATION POST-TRADUCTIONNELLE DE P53

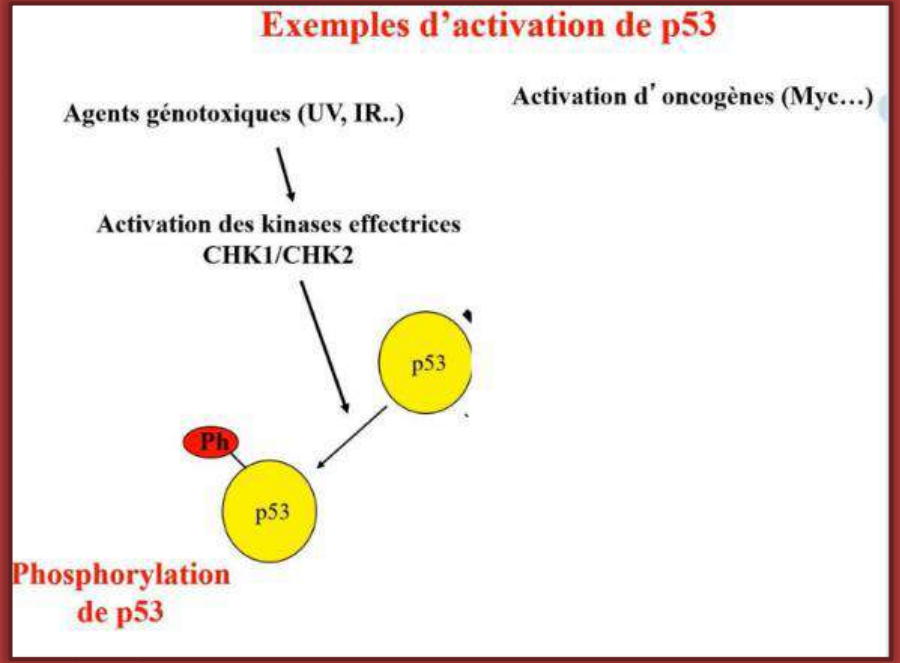


! ACTIVATION DE P53 !

qui joue un rôle de facteur de transcription

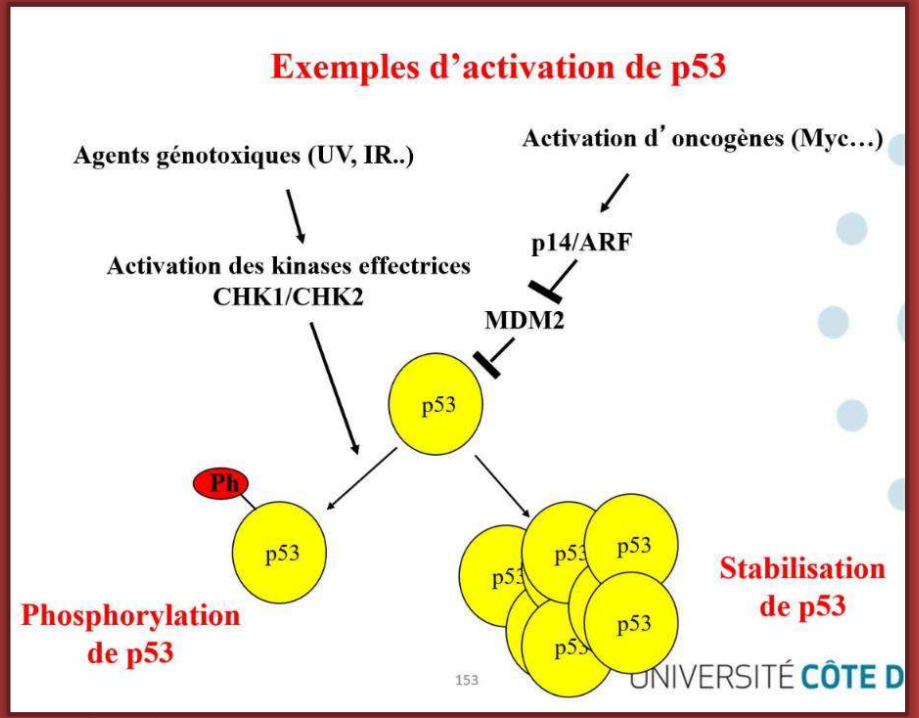
2. PAR MODIFICATION DE LA QUANTITE DE P53

1. Activation par les oncogènes (suractivation supra physiologique) de p14
2. p14 est une pédale de frein capable d'inhiber l'inhibiteur de p53 (= MDM2)
3. MDM2 est inhibé
4. Stabilisation de la quantité p53

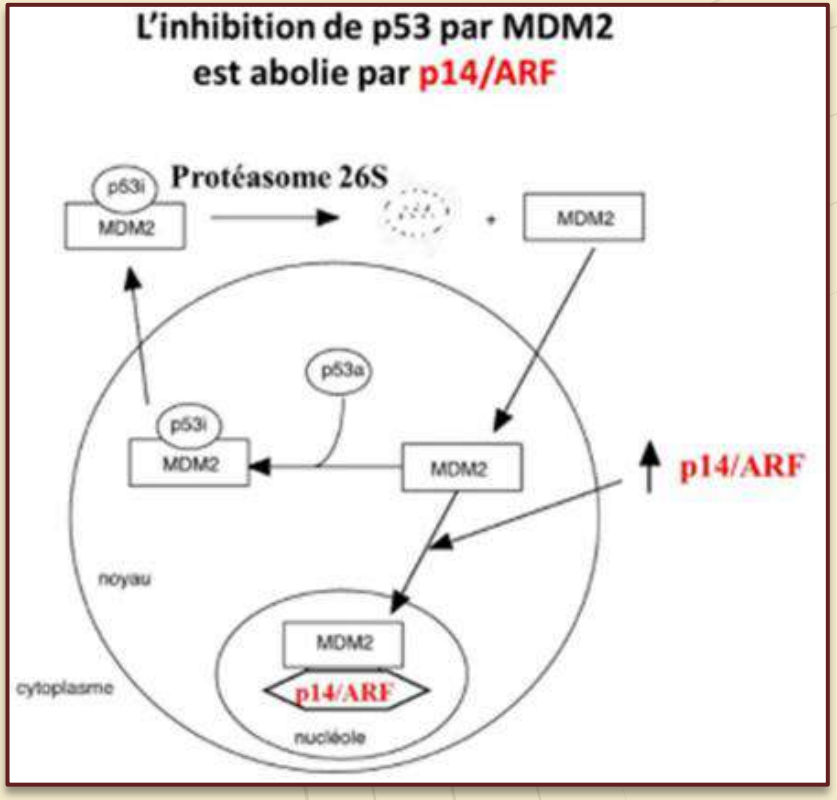


2. PAR MODIFICATION DE LA QUANTITE DE P53

1. Activation par les oncogènes (suractivation supra physiologique) de p14
2. p14 est une pédale de frein capable d'inhiber l'inhibiteur de p53 (= MDM2)
3. MDM2 est inhibé
4. Stabilisation de la quantité p53



🔍 ZOOM sur le mode de fonctionnement de MDM2 et p14



➔MDM2: inhibiteur de p53. Joue le rôle de navette entre le noyau et le cytoplasme.

MDM2 interagit avec p53 pour former le complexe MDM2/p53 dans le nucléoplasme.

Ce complexe sera exporté dans le cytosol où il sera pris en charge par le protéasome 26S qui va le dégrader

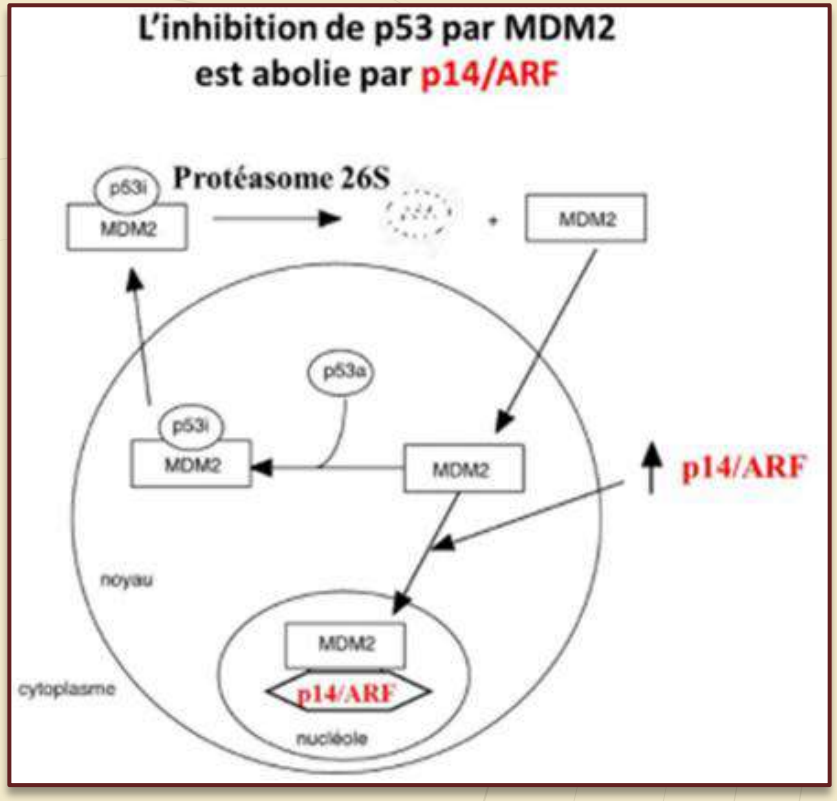
p53 peut donc être synthétisée mais elle présente **très peu de quantité** car elle est rapidement dégradée.

🔍 ZOOM sur le mode de fonctionnement de MDM2 et p14

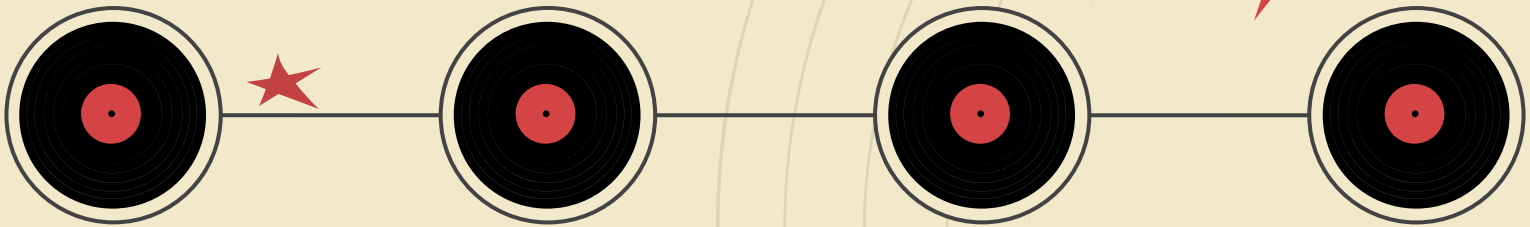
SIGNAL ONCOGENIQUE

p14/ARF est activé → il va interagir avec MDM2 pour l'empêcher d'aller dégrader notre p53!

p14/ARF va **séquestrer MDM2** dans le nucléole donc p53 ne sera pas dégradée!!



b) Exemples d'altération et de pathologies



INACTIVATION DE Rb

Rb= gène suppresseur de tumeurs

Si Rb est muté, E2F n'est plus inhibé donc on a une HYPERACTIVATION du cycle E2F

AMPLIFICATION DE CYCLINE D

Cycline D= pédale d'accélération

Donc si on augmente sa quantité, on favorise l'apparition de cancers

INACTIVATION DE p16

P16= pédale de frein

Donc si on inhibe p16 on accélère la formation de cancers

NON-EXPRESSION DE p21 OU PERTE DE p53

P21= pédale de frein contrôlée par p53 (pédale de frein)

Donc si on les inhibe, on accélère la formation de cancers

p53 est très important dans l'homéostasie cellulaire!

En effet, il est inactivé dans environ la MOITIE de tous les cancers. Donc, pour avoir un cancer on:

suractive les oncogènes

gènes qui permettent le développement et la multiplication normale des cellules, donc une suractivation entraîne une multiplication trop importante

désactive les gènes suppresseurs de tumeur

gènes qui permettent d'arrêter une cellule qui se multiplierait trop, si on les désactive le cancer progresse facilement

QCM TIME #4



A propos de p53 et cancers, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) On peut activer p53 uniquement par des modifications post-traductionnelles

b) P53 peut activer des gènes pro-apoptotiques à la suite d'un signal

c) P14 est une pédale de frein qui inhibe l'inhibiteur de p53 (=CDC9)

d) En amplifiant la quantité de cycline D on peut favoriser l'apparition de cancers

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses

A propos de p53 et cancers, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) On peut activer p53 uniquement par des modifications post-traductionnelles
   FAUX: 2 modes→ modifs post-trad et modif de la quantité de p53

b) P53 peut activer des gènes pro-apoptotiques à la suite d'un signal
   VRAI

c) P14 est une pédale de frein qui inhibe l'inhibiteur de p53 (=CDC9)
   FAUX: piège nul, c'est MDM2

d) En amplifiant la quantité de cycline D on peut favoriser l'apparition de cancers
   VRAI

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses
   FAUX

QCM TIME #5



Le dernier... 😭

A propos du cycle cellulaire, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) Les levures du boulanger font une division « symétrique »

b) Les endommagements les plus dangereux pour notre ADN sont les coupures simple brin

c) La transition G1/S mène à l'activation de E2F nécessaire pour l'expression des gènes induisant la phase S

d) P53 il est inactivé dans environ la moitié des cancers

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses

A propos du cycle cellulaire, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

a) Les levures du boulanger font une division « symétrique »
   FAUX: asymétrique

b) Les endommagements les plus dangereux pour notre ADN sont les coupures simple brin
   FAUX: coupures double brin

c) La transition G1/S mène à l'activation de E2F nécessaire pour l'expression des gènes induisant la phase S
   VRAI

d) P53 est inactivé dans environ la moitié des cancers
   VRAI

e) Les propositions A, B, C et D sont fausses
   FAUX


MERCI POUR VOTRE
ECOUTE ET
PARTICIPATION!!