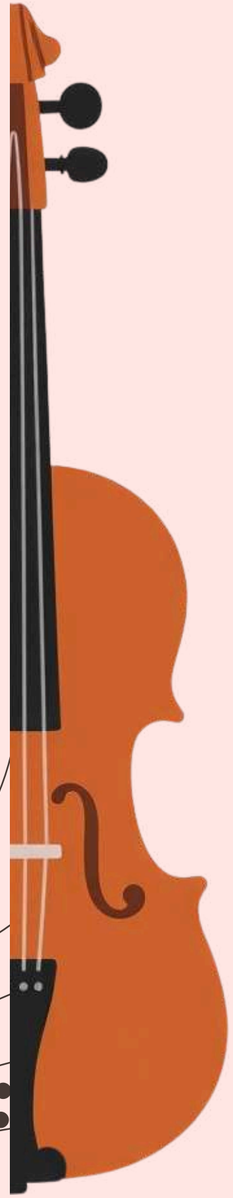
Biologie cellulaire

La mort cellulaire





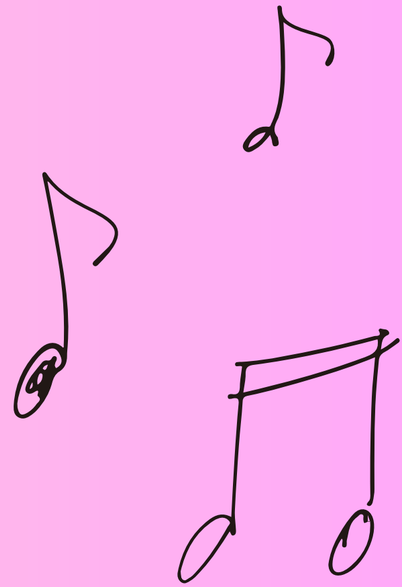
Anaïsthésie <3

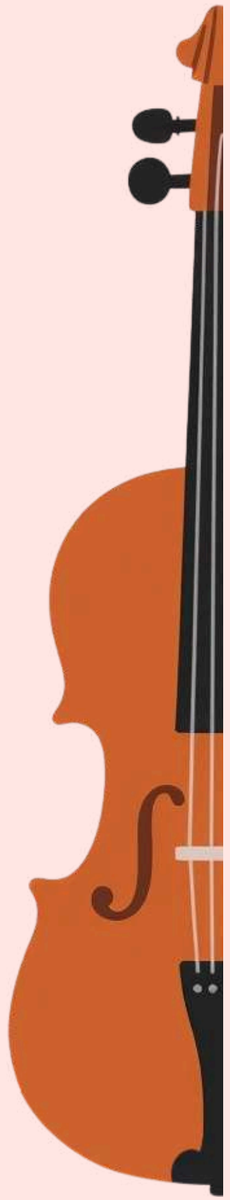
SOMMAIRE



1. L’apoptose
   - définition
   - caractéristiques
   - expériences
   - les 3 rôles de l’apoptose
2. La nécrose
   - définition
   - caractéristiques
   - les 3 rôles de la nécrose
3. Apoptose vs nécrose
4. Les caspases
5. La mitochondrie







1. Les 2 types de mort

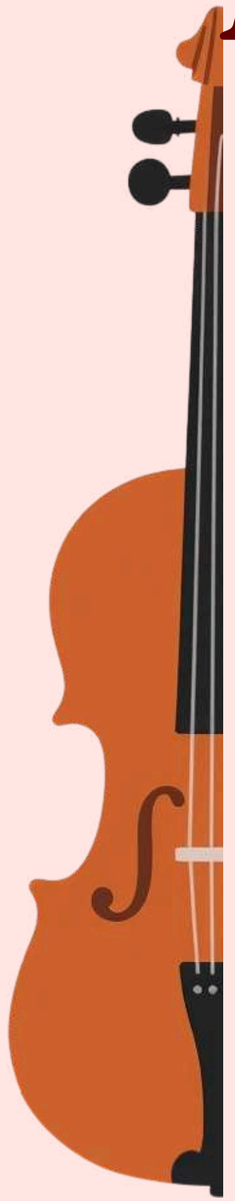
💀 Type de mort	En une phrase
Apoptose	Mort cellulaire programmée = Un suicide cellulaire ++++++ *#propre, organisé, silencieux — la cellule "décide" de partir sans déranger les voisins.*
Nécrose	Un accident brutal (brûlure) +++++ *#ici la cellule explose et fait des dégâts autour d'elle.*

UN SEUL ET MÊME BUT : mort de la cellule

A retenir !!
apoptose = propre et silencieuse,
nécrose = sale et bruyante.



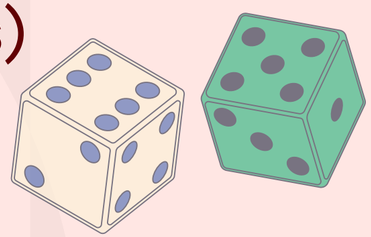
1.1 L'apoptose: Ses caractéristiques!





Signaux extracellulaires (manque de facteurs de croissance, virus, radiations), **ou intracellulaires** (ADN endommagé → p53).

Programmée: jamais du hasard (cascades réactionnelles + activation de gènes spécifiques)



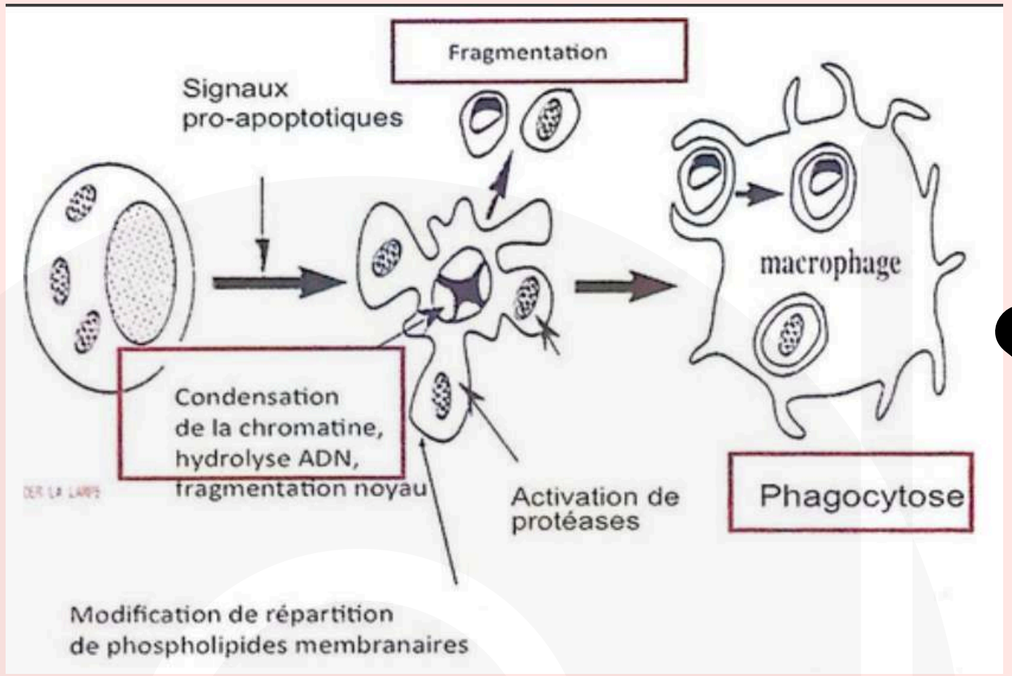
ATP dépendante

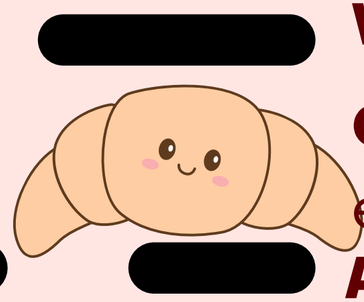
Eliminée par phagocytose (macrophages)

AUCUNE réaction inflammatoire



1.1 L'apoptose: ses caractéristiques





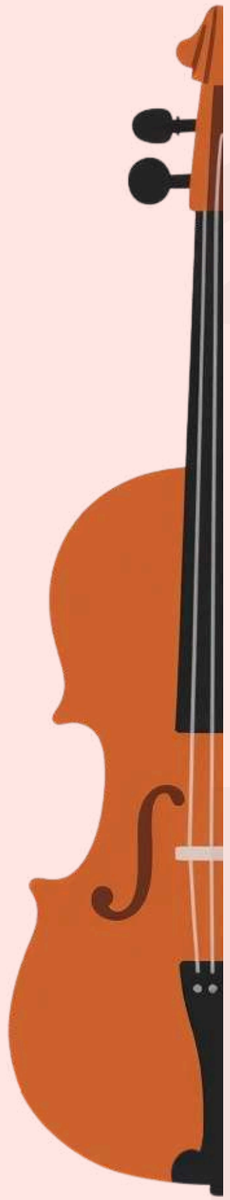
Volume (condense)

Chromatine (condense en croissant)

ADN (se fragmente)

1 cellule

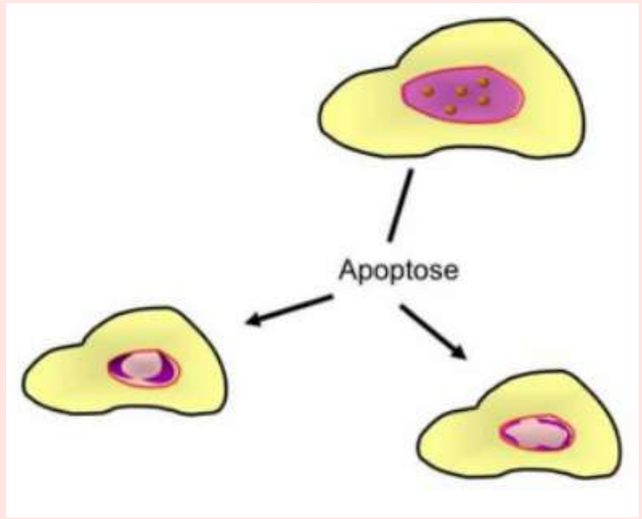
Physiologique, membrane intacte



Expériences

- **Coloration DAPI**

  Noyau en croissant



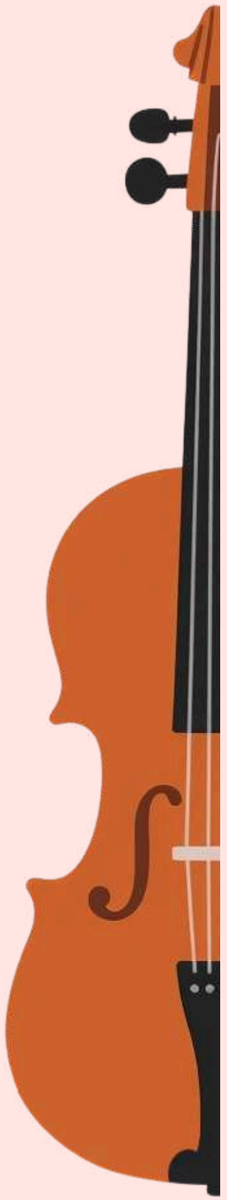
- **MEB**

  Corps apoptotiques mangés par phagocytose



La condensation de la chromatine est donc une étape caractéristique de l'apoptose ++

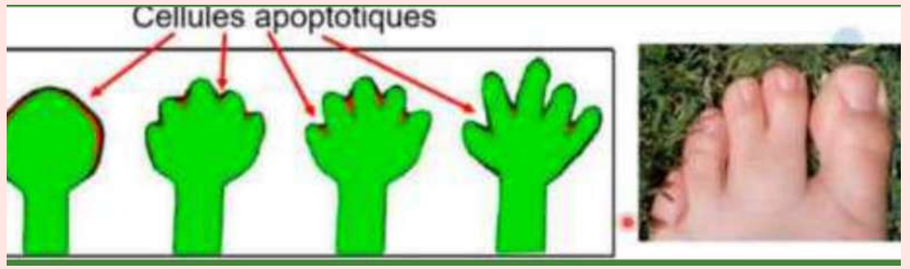
3 rôles de l'apoptose





Indispensable au développement normal de l'embryon

- Modelage des doigts: apoptose des cellules interstitielles → malformation (syndactilie)

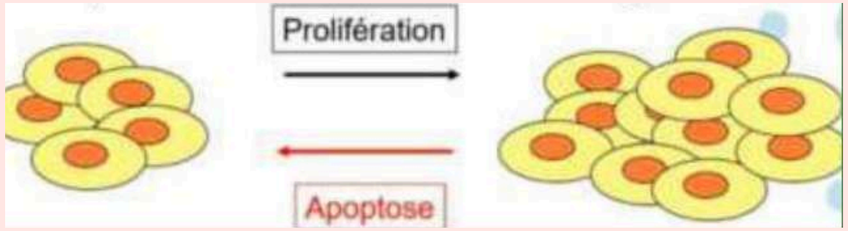


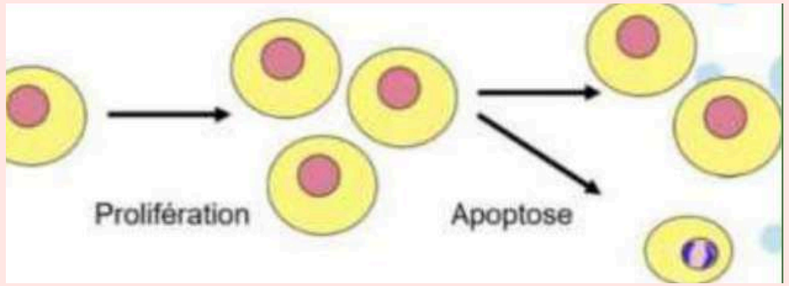
- Sélection neuronale: 50% de nos neurones détruits dans la période périnatale

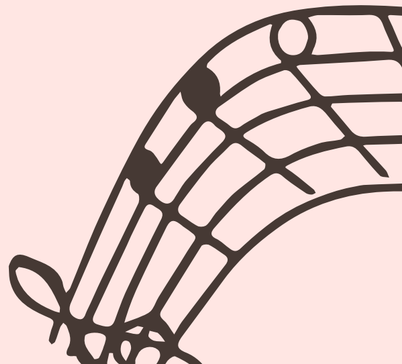
Indispensable à l'homéosthasie tissulaire

Balance entre prolifération et apoptose +++.

- réaction immunitaire: apoptose des lymphocytes en fin de réaction !

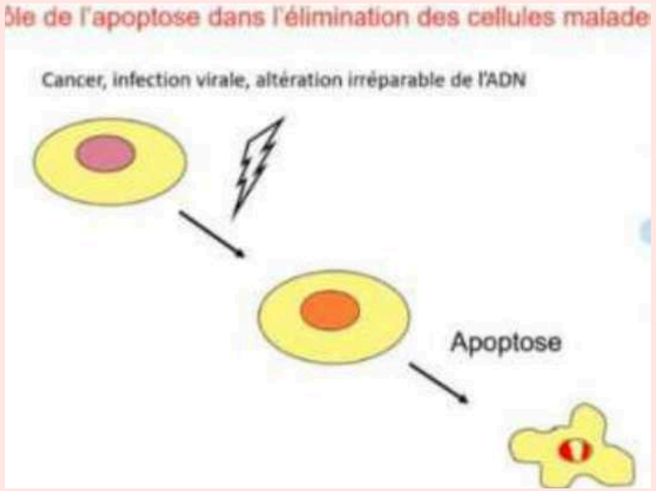






3 rôles de l'apoptose

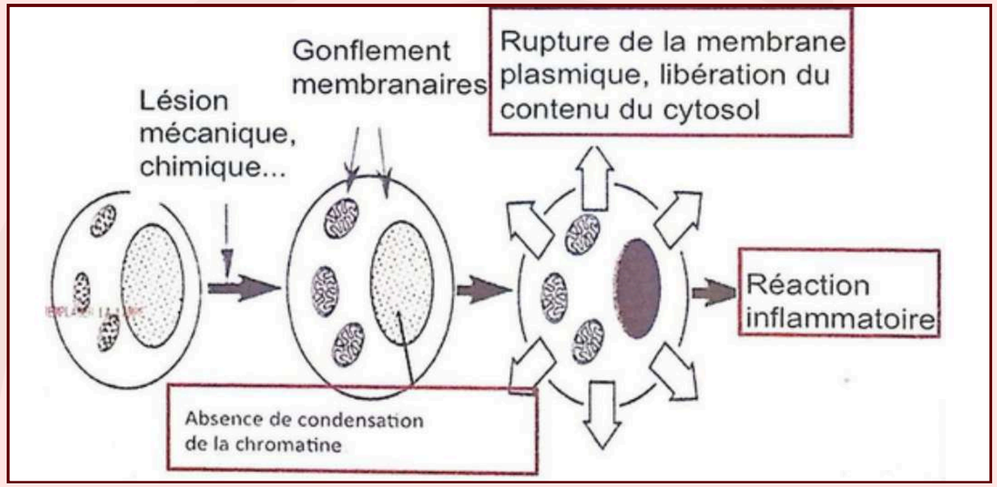
- **Développement normal de l'embryon**
- **Homéosthasie tissulaire**
- **Elimination des cellules malades**
  - cellules ayant un défaut de fonctionnement (cancer ++, altération de l'ADN ou infectées par un virus par exemple)



La nécrose



Caractéristiques



Volume: augmente → cellule explose

Chromatine: se disperse

ADN: fragmenté

Contexte pathologique
Impacte un ensemble de cellules
Organites non fonctionnels!

3 rôles de la nécrose

Atteintes physiques+chimiques

- ischémie, brûlure, traumatisme
- C’est le résultat des agressions sévères.

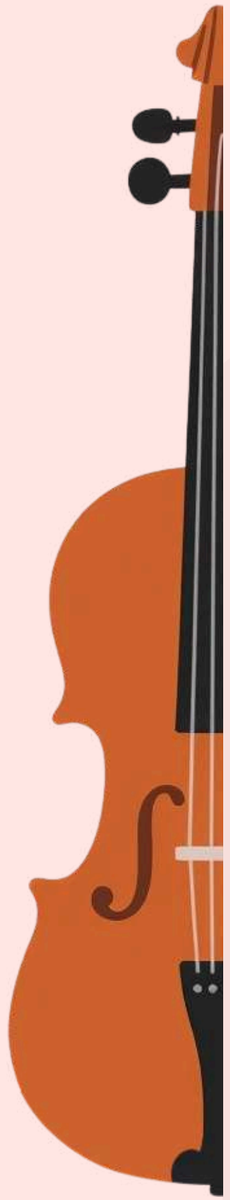
ATP-indépendante ⚡



Réaction inflammatoire

- Contenu cellulaire libéré brutalement lors de la rupture membranaire.

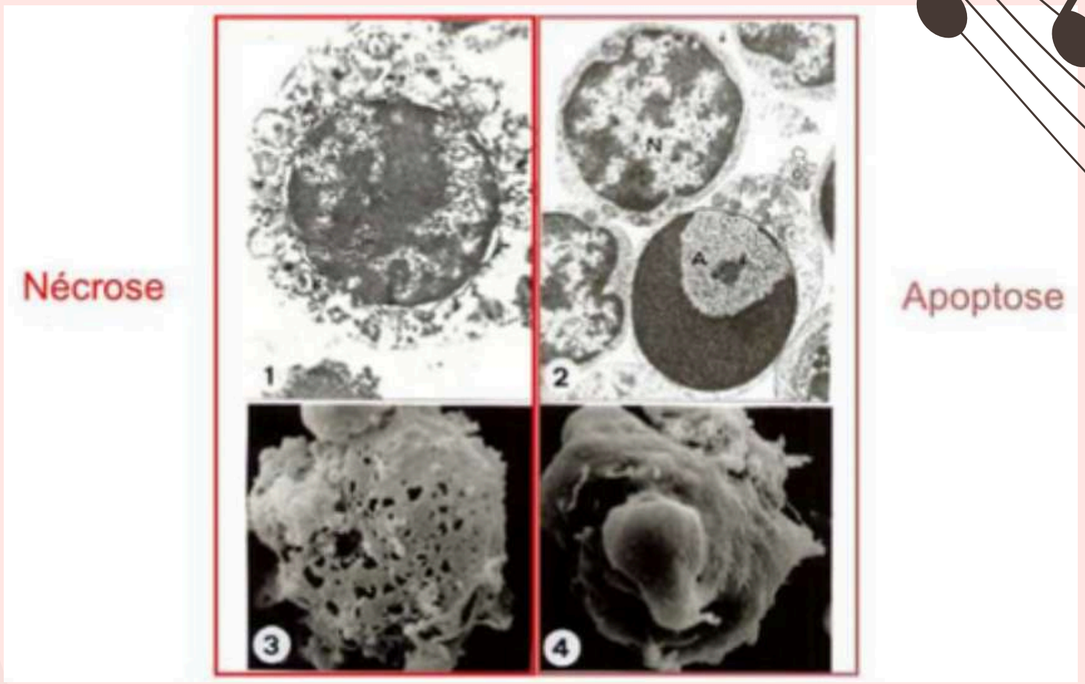
Apoptose	Nécrose
Pas d’inflammation	Inflammation
ATP dépendant	ATP indépendant



En haut : Au microscopie à transmission = MET (plus de détails)

En bas : Au microscopie à balayage = MEB (3D)

Apoptose vs nécrose



Nécrose

- MET: libération du contenu cellulaire
- MEB: fragmentation de la membrane

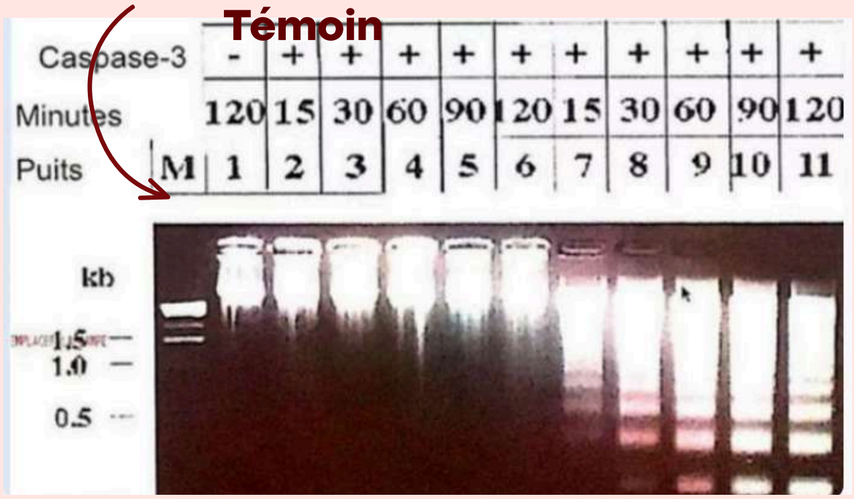
Apoptose

- MET: chromatine condensée en croissant dense aux électrons
- MEB: bourgeonnement en corps apoptotiques

Expérience 1: Electrophorèse

Expérience

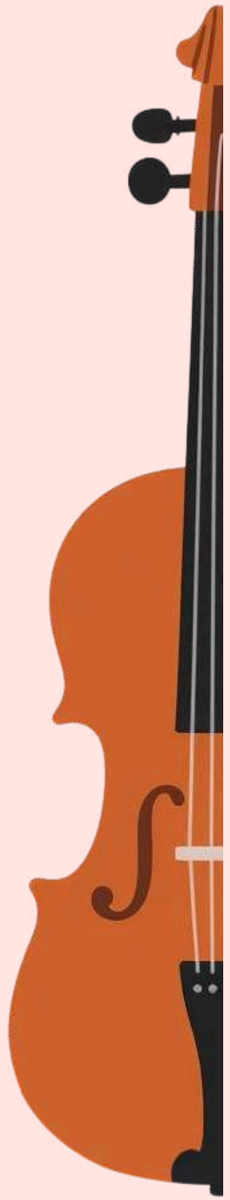
Témoin



Principe et résultats clés

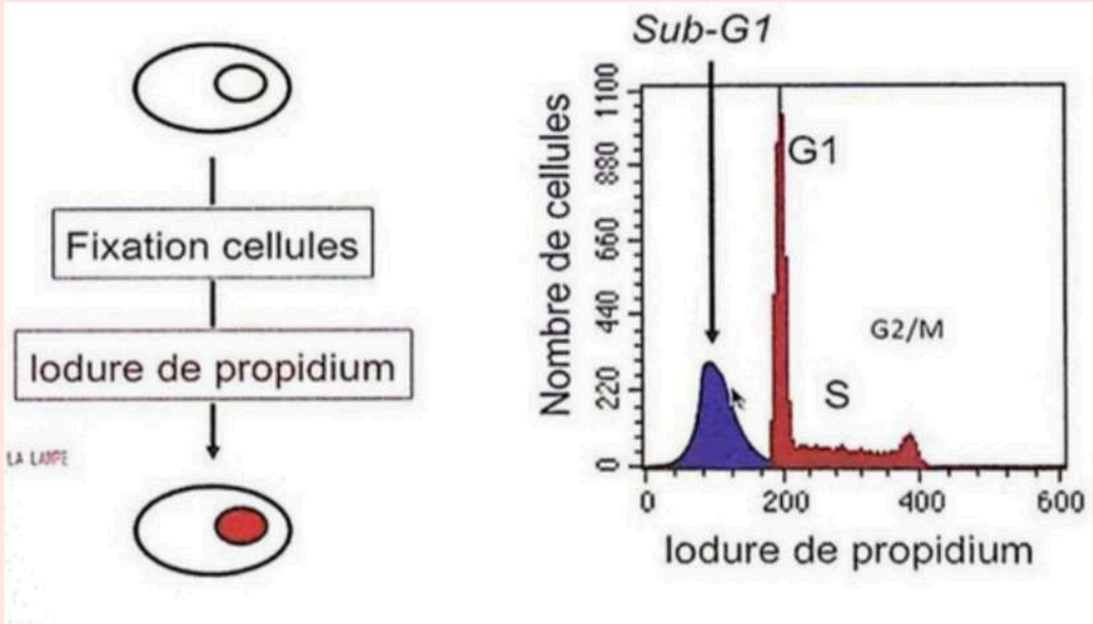
- Induction: traitement à la Staurosporine pour déclencher l'apoptose, puis observation de la fragmentation de l'ADN au cours du temps
- **Sans** Caspase 3: aucune fragmentation détectée
- **Avec** Caspase 3: fragments de plus en plus petits (puits 7→11) - échelle en escalier typique !

Tombée 3 fois aux examens ! Savoir analyser le gel, pas mémoriser les temps exacts!



Expérience 2: Le pic Sub-G1

Principe et résultats clés



Principe : Marquer les cellules par cytométrie et détecter la présence d'un nouveau pic précédent la phase G1 du cycle cell*ulaire = subG1*

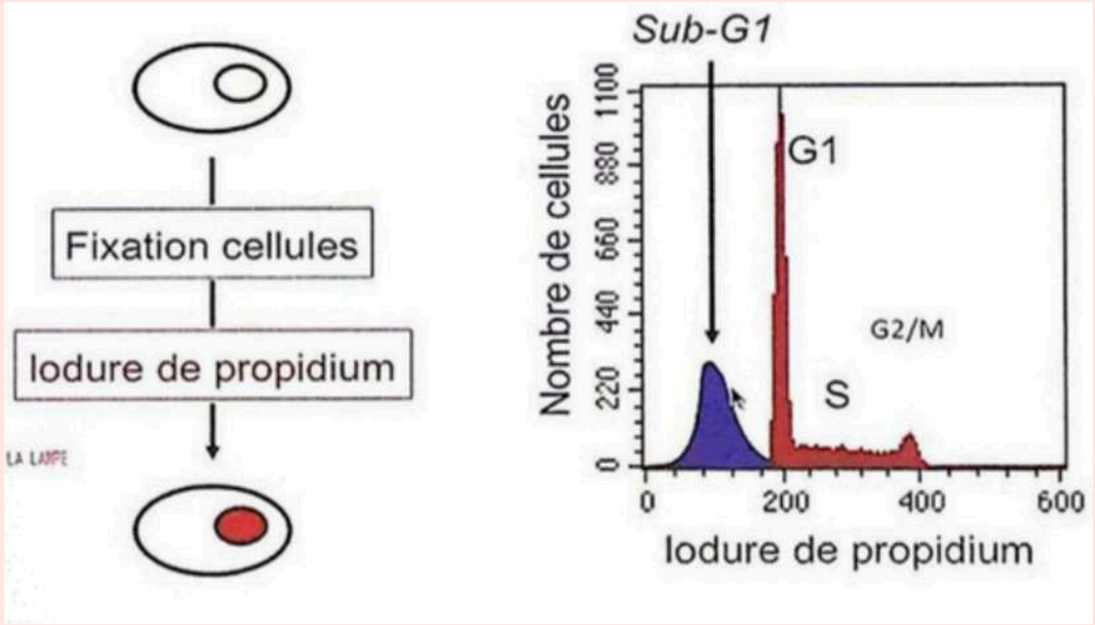
#sil y a ce pic, alors il y a apoptose!

Outils : Utilisation d'un colorant dADN = iodure de propidium = PI ++ sur des cellules fixées

Condition pralable : Fixer les cellules: la membrane de la cellule est ainsi permable, donc perforée/trouée, permettant au colorant de rentrer.

Expérience 2: Le pic Sub-G1

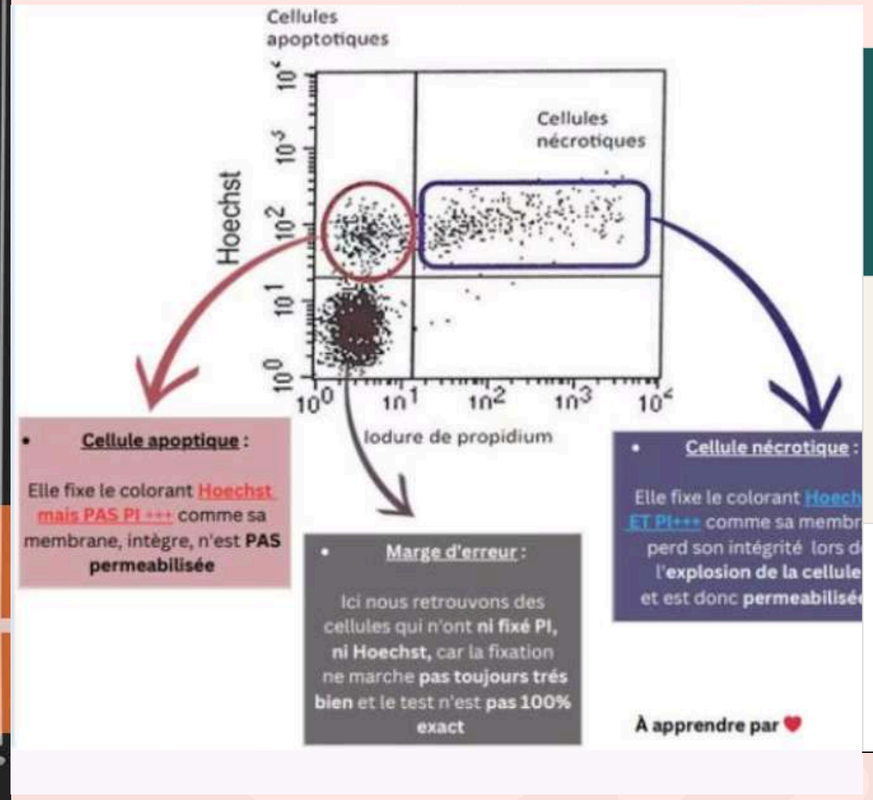
Principe et résultats clés



La fragmentation de la cellule → perte de certaines parties du noyau et donc du matériel génétique (corps apoptotiques) → moins d'ADN à colorer → moins de fluorescence.

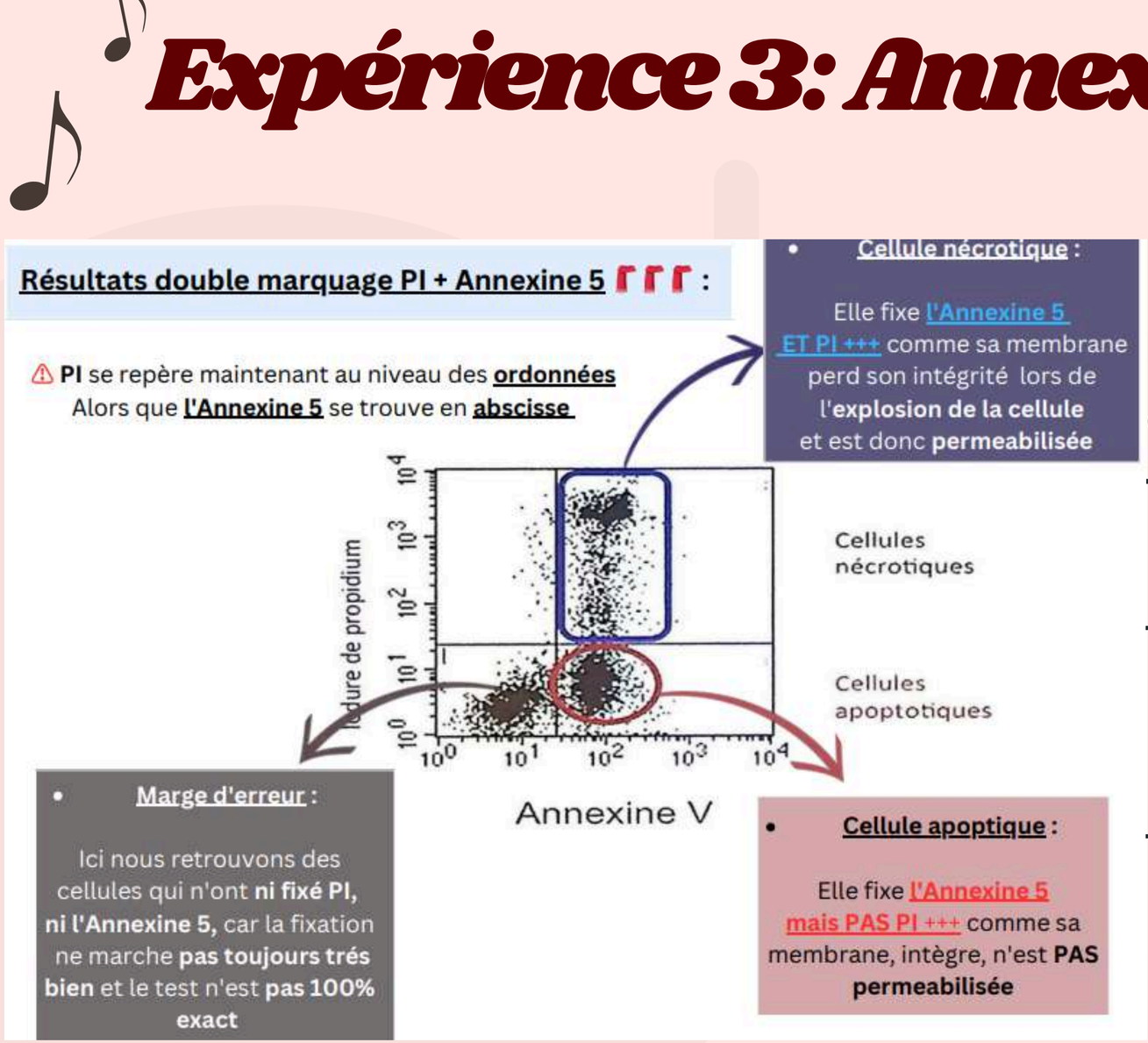
D'ou la présence, d'un pic = pic sub-G1 (à gauche), caractéristique de la fragmentation apoptotique !

Expérience 3: Hoescht + PI



COLORANT	COLORE QUOI ?	PASSE LA MEMBRANE COMMENT ?
Hoechs***ttttt***	**Tttttt**outes les cellules (normales, apoptotiques, nécrotiques)	Sans perméabilisation nécessaire
Iodure de propidium (PI)	Seulement les cellules nécrotiques	Uniquement si la membrane est trouée

Expérience 3: Annexine V + PI



La phosphatidyl-sérine (PS)

Normalement sur le feuillet interne → externalisée (mécanisme actif de **flip-flop) !**

- Apoptotique : Annexine V ✅ / PI ❌

— PS exposée, membrane encore intacte

- Nécrotique : Annexine V ✅ / PI ✅

— PS exposée, membrane perforée

L'Annexine V se lie spécifiquement à la PS externalisée → marqueur clé de l'apoptose + nécrose!!



Recapp

	HOECHST	IODURE DE PROPIDIUM	ANNEXINE V
Cellule normale	➕	➖	➖
Cellule apoptotique	➕	➖	➕
Cellule nécrotique	➕	➕	➕

Hoechs**ttttt**
Fixe **TTT**ou**ttt**

ANnexine=
Apoptotique+**N**écrotique



Les caspases

Type	Caspases	Rôle
Iniciatrices	8, 9, 10	activées en 1er clivent les pro-caspases effectrices
Effectrices	3, 6, 7	executent la destruction: PARP, actine, lamine ...

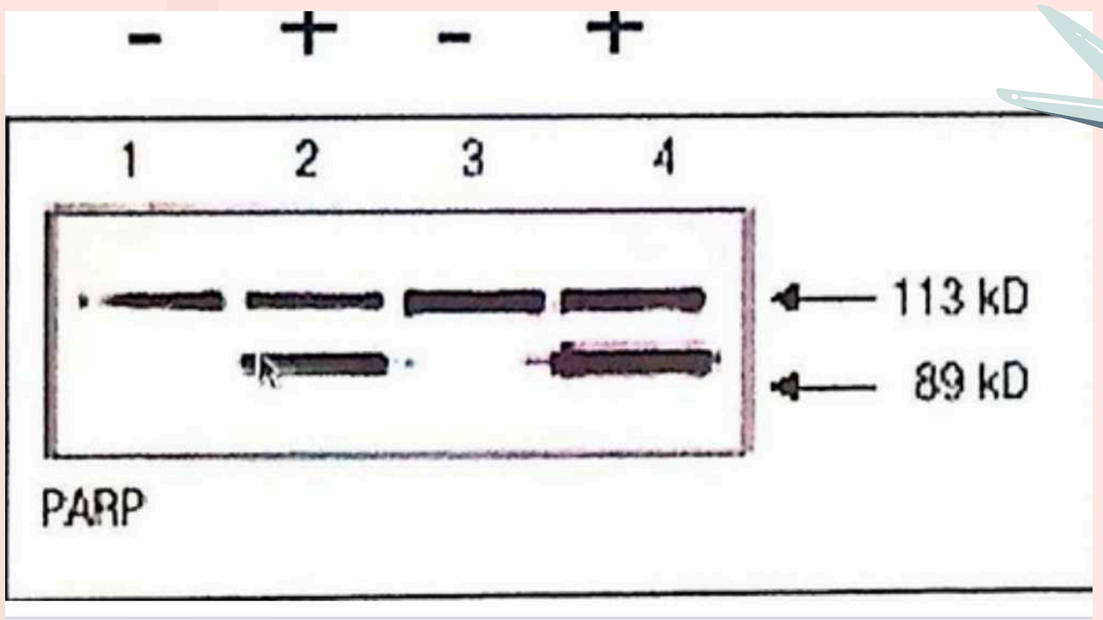
Au repos:

Existent sous forme inactive = pro-caspases → nécessitent un clivage pour s'activer !

Détection au gel de polyacrilamyde SRS

Clivage de PARP = signal direct d'activité apoptotique !

Les caspases



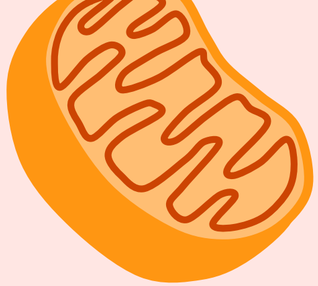
En gel de polyacrilamyde SDS, on observe :

→ Piste 1 et 3 : **SANS** induction des caspases effectrices, la protéine PARP est intacte, **pas de clivage**

→ Piste 2 et 4 : **AVEC** induction des caspases effectrices, on observe 2 bandes, donc **il y a eu clivage** de la protéine PARP = apoptose



La mitochondrie



→ *réserve de cytochrome c!*

La libération de Cytochrome C est sous le contrôle des membres de la famille BCL2. ++

🧬 Voie intrinsèque (mitochondrie-dépendante)

Répond à un stress **intracellulaire**. Pilotée par la famille de protéines **BCL2** :

- **BAX**, BAK (pro-apoptotiques, cible de p53) → favorisent la sortie du cytochrome c
- **BCL2**, BCL-X (anti-apoptotiques) → bloquent cette sortie
- BAD → inhibe BCL2

Le cytochrome c libéré forme, avec APAF-1, l'**apoptosome**, qui active la caspase 9 initiatrice → puis les caspases effectrices.

🧬 Voie extrinsèque (mitochondrie-indépendante)

Répond à un signal **extracellulaire**, via des récepteurs de mort de la famille du TNF (ex : **Fas/CD95**), relayés par la protéine **FADD**.

FADD clive directement les caspases initiatrices, qui activent ensuite les caspases effectrices — même finalité, acteurs de départ différents.

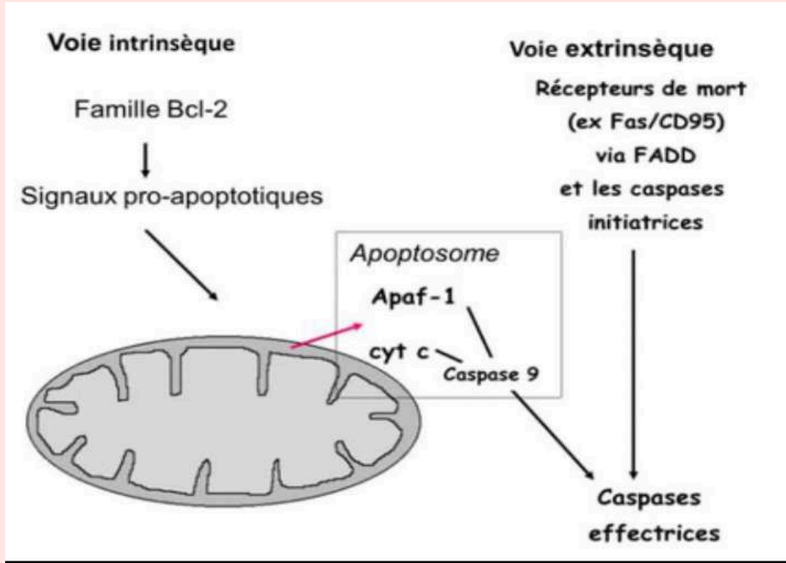


La mitochondrie

Voie instrinsèque

- déclencheur = stress **interne** (radiations, dommages ADN)

⟶ activtion de BAX/BAK
⟶ perméabilisation mitochondriale
⟶ libération du cytochrome c dans le cytoplasme
⟶ cytochromeC+APAF-1 = **apoptosome**
⟶ caspase 9 activée (initiatrice) ⟶ caspases 3,6,7 activées (effectrices)



La mitochondrie

Voie extrinsèque

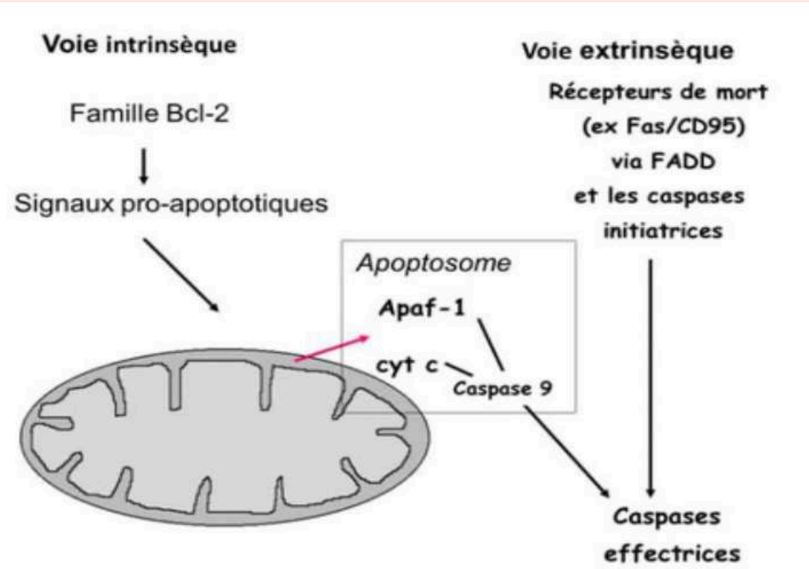
- déclencheur = ligand externe (liaison à FAS/CD95)

⟶ recrutement de FADD

⟶ activation directe des caspases 8 et 10

⟶ caspases 3,6,7 activées (effectrices)

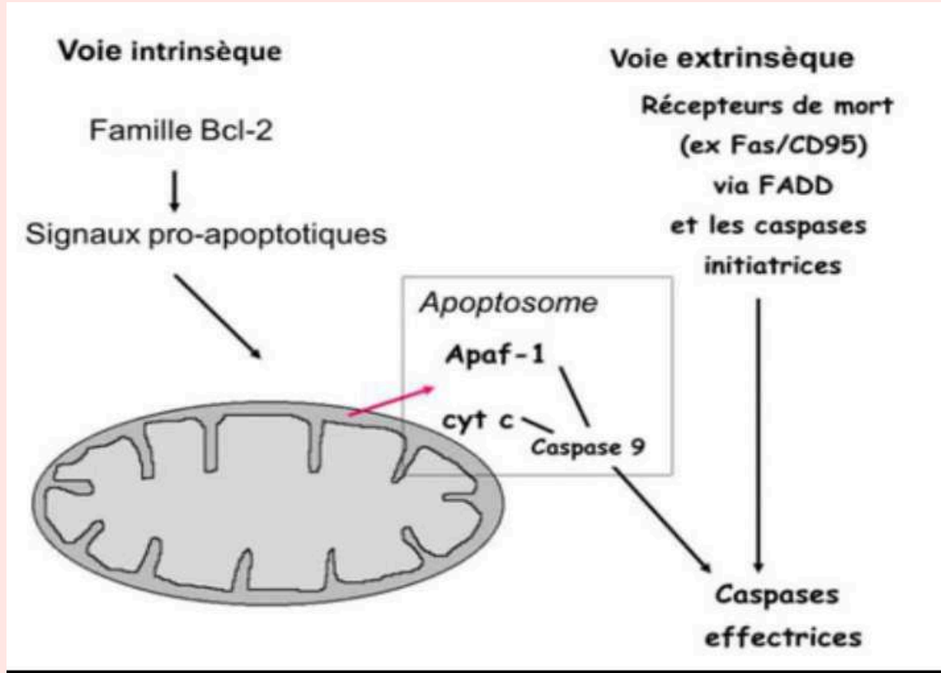
Pas besoin de mitochondrie !!

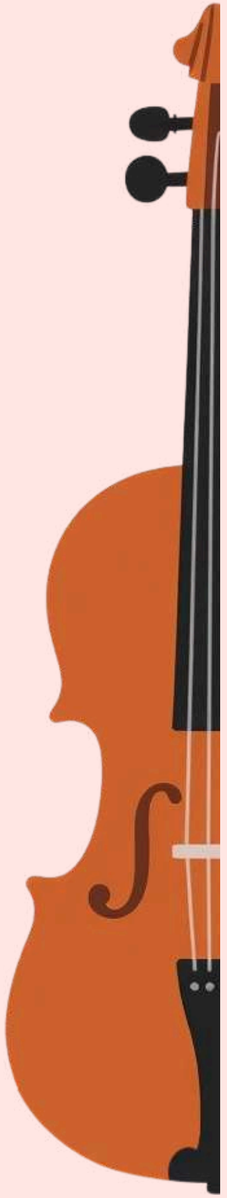


La mitochondrie

Exemple de cancers: la machinerie apoptotique est en panne:

- Surexpression de BCL2 (anti-apoptotique) → leucémies B
- Inhibition d'APAF-1 → mélanomes
- Inhibition de p53 → cancers (perte du détecteur de dommages à l'ADN)







Merciiii <3