

WELCOME, BIOCELLOIS



**Sans le Pr.Gilson...
Son emploi du temps ne lui
permettait pas de faire cette
séance.**

MAIS ON EST LÀ !! 😊



Ah que c'est quoi qu'on fait ce soir ?

- Complémentation
- Tableau de complémentation
- Hétérocaryon

- Apoptose/Nécrose → on prend un peu d'avance

LA COMPLÉMENTATION

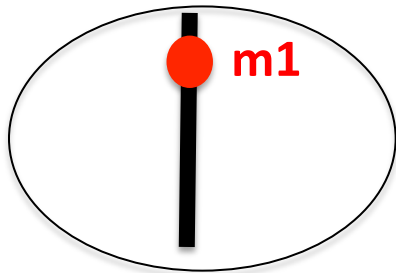
Définition

On dit qu'il y a complémentation entre 2 mutations lorsqu'elles appartiennent à des **groupes de complémentation distincts**

1^{ère} Partie : Le Test de Récessivité

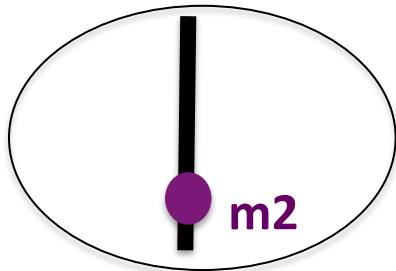
Nos 2 mutants doivent être récessifs pour pouvoir effectuer le test de complémentation.

Gène mutant m1



On remarque que la cellule ne marche pas « normalement »

Gène mutant m2

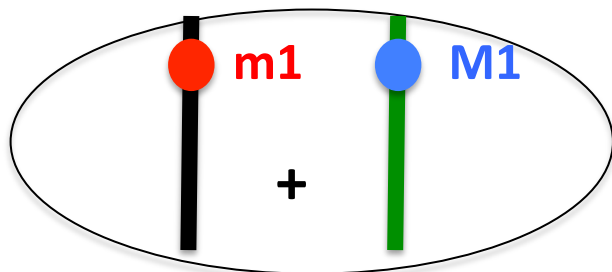


On remarque que la cellule ne marche pas « normalement »

Comment
savoir si nos
mutations sont
dominantes ou
récessives ? 😊

On fusionne un **noyau sauvage** avec le noyau de notre cellule mutée, et on observe ...

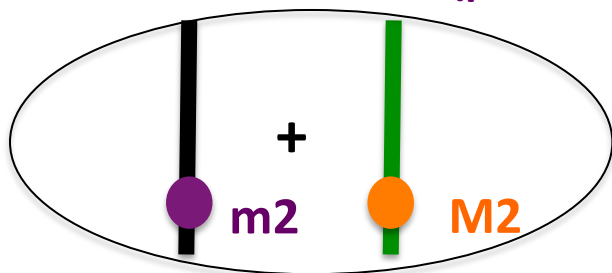
Gène mutant m1 (protéine non fonctionnelle)



Phénotype sauvage : notre mutant est récessif.
Phénotype mutant : notre mutant est dominant.

Gène sauvage M1 (protéine fonctionnelle)

Gène mutant m2 (protéine non fonctionnelle)



Phénotype sauvage : notre mutant est récessif.
Phénotype mutant : notre mutant est dominant.

Gène sauvage M2 (protéine fonctionnelle)

C'EST QUOI LA COMPLÉMENTATION ?

C'est la restauration (ou pas) du **phénotype sauvage** en combinant dans la même cellule plusieurs gènes

La complémentation d'une mutation récessive c'est l'habilité à restaurer une fonction en combinant dans une cellule **2 gènes dont au moins 1 est muté**

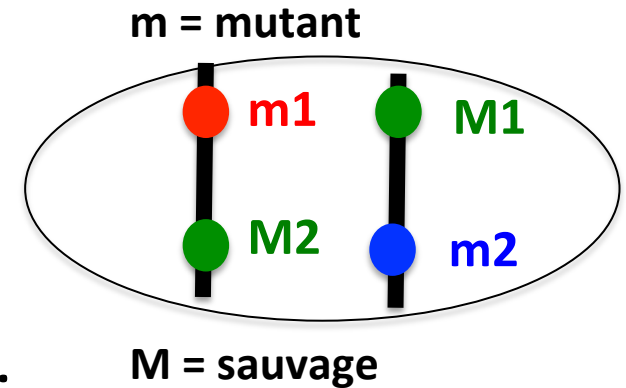
2^{ème} Partie : Le Test de Complémentation

But : On veut savoir si nos **mutations sont allèles** d'un même gène, **OU** bien si elles appartiennent à **2 gènes différents**

- 1) On prend 2 cellules « **mutantes** »
- 2) On **fusionne** leur noyau
- 3) On observe le **phénotype** (état de la prot)
- 4) On **conclut** (parce qu'on est troZintelligent)

S'il y a Complémentation

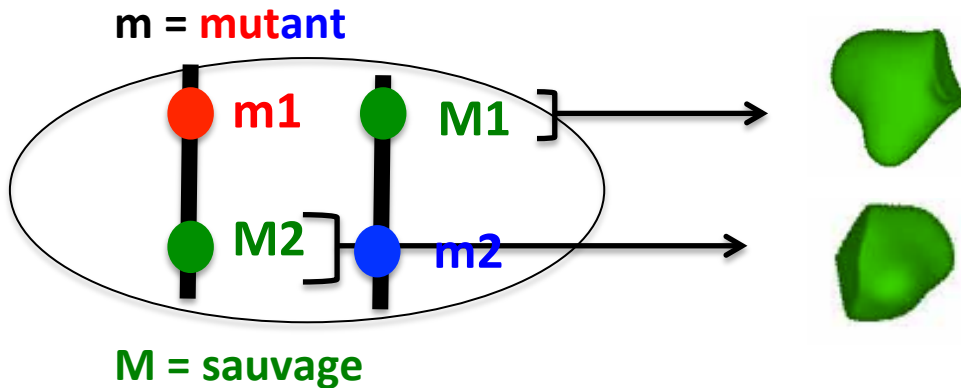
1^{er} Cas : → Phénotype sauvage



Il y a complémentation, les mutations appartiennent à 2 groupes de complémentation distincts.

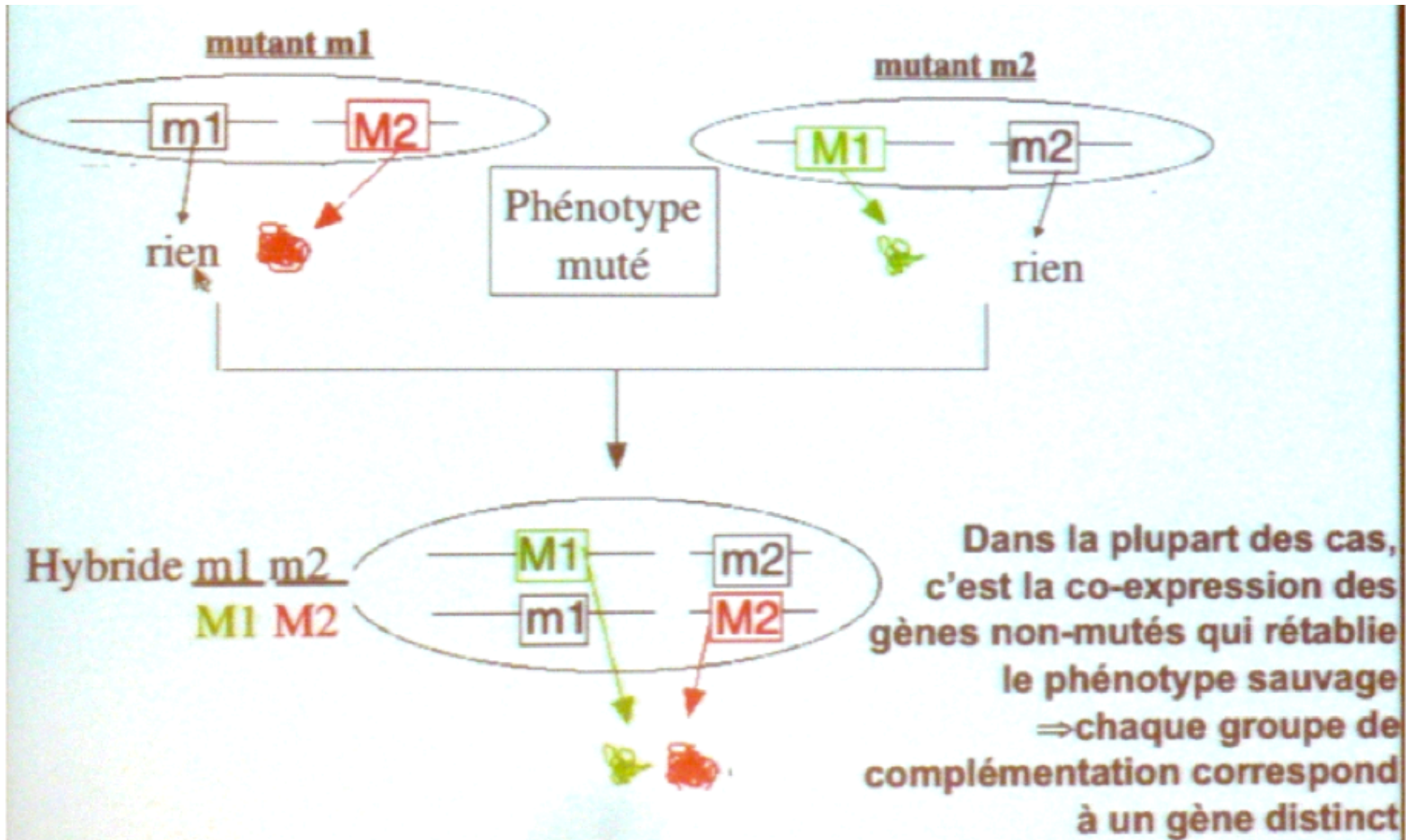
→ On **SUGGÈRE** que nos mutations **NE SONT PAS ALLÈLES** d'un même gène (*car il existe un cas particulier*)

Il y a Complémentation



Protéines « normales »
par complémentation.
→ **Phénotype sauvage**

Il y a Complémentation



S'il y a Complémentation

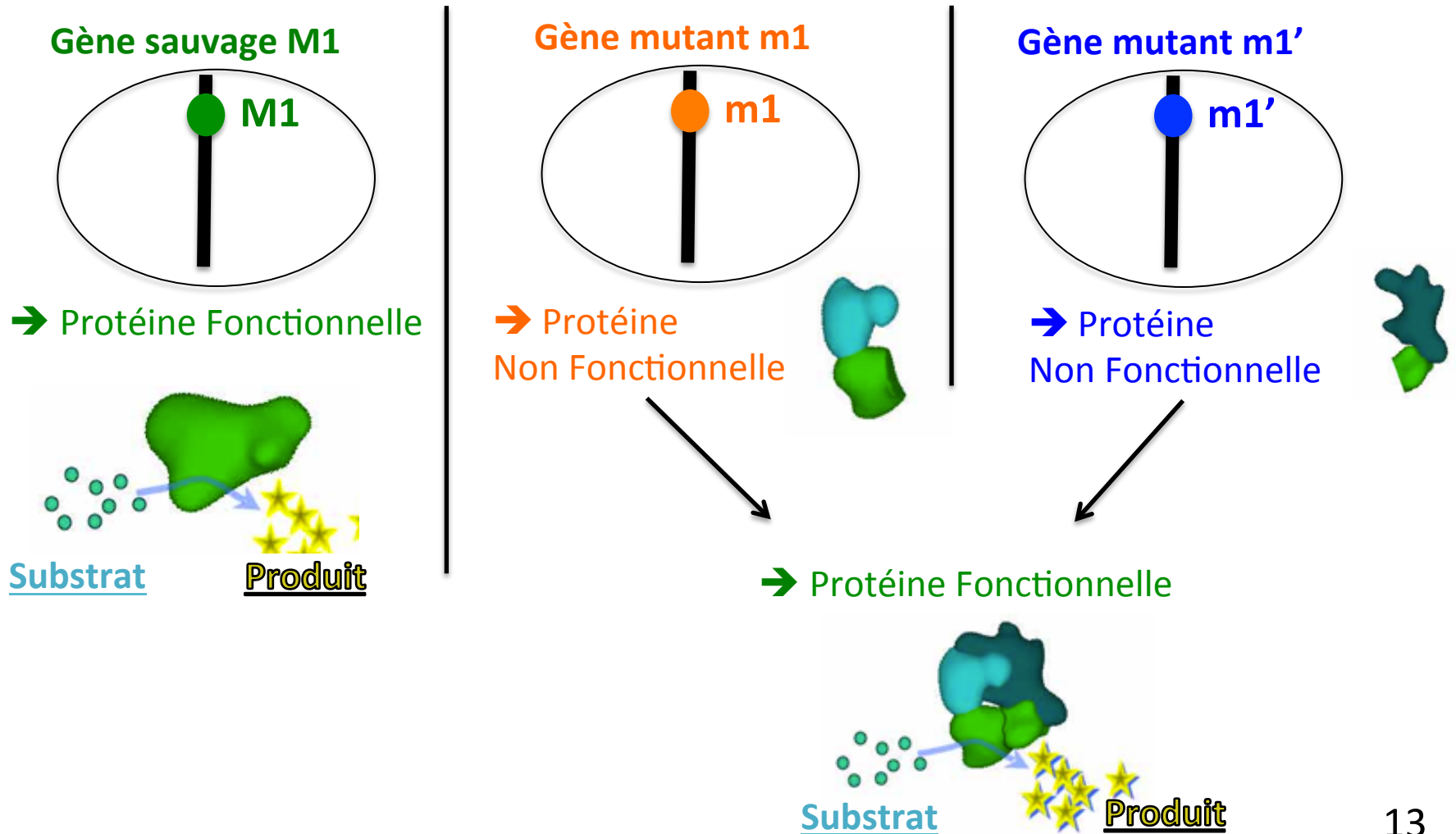
Cas exceptionnel (suppression intragénique) :

→ Phénotype sauvage

→ On SUGGÈRE que nos mutations NE SONT PAS ALLÈLES d'un même gène, mais en fait elles le sont car :

→ 2 protéines non fonctionnelles peuvent en s'associant redonner une protéine fonctionnelle !?!

Cas de la suppression intragénique : 2 Protéines non fonctionnelles peuvent donner une protéine fonctionnelle.

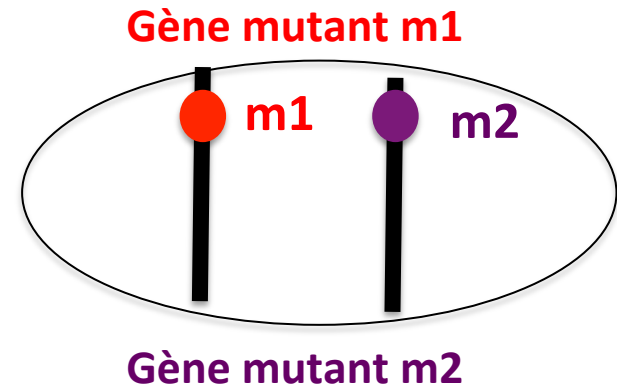


PAS de Complémentation

Après Observation :

2^{ème} Cas :

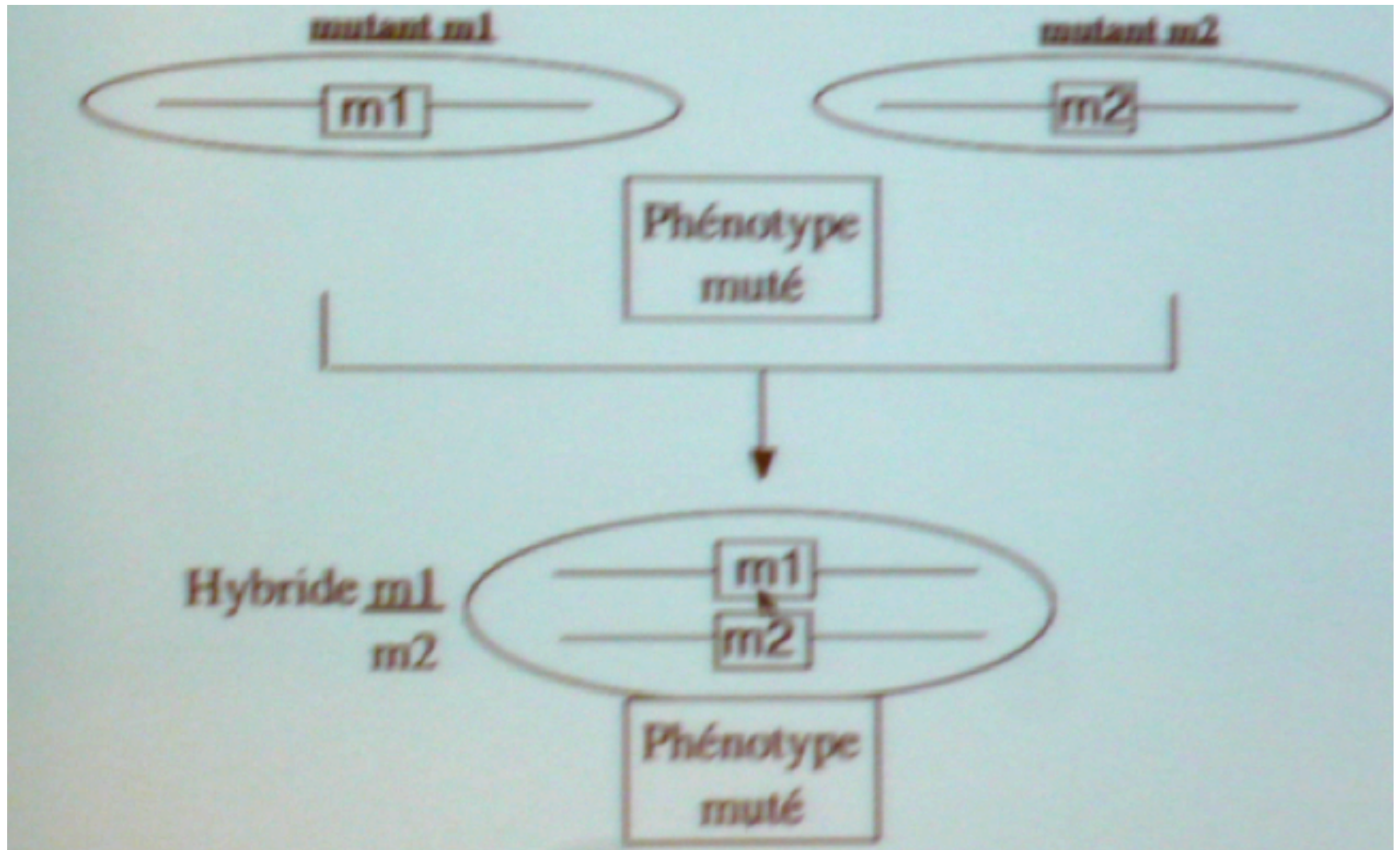
→ Phénotype muté



Il n'y a pas complémentation, les mutations appartiennent au même groupe de complémentation.

→ On **DÉMONTRE** que nos mutations sont **allèles** d'un même gène.

Pas Complémentation



Pour résumer

Phénotype muté → Les mutations appartiennent au même groupe de complémentation. On démontre que c'est allèle.

Phénotype sauvage → On **suggère** que c'est pas allèle car suppression intragénique possible.

Comment interpréter un tableau de complémentation ?

Exemple :

	m1	m2	m3	m4	m5	m6
m1	-	+	+	+	-	-
m2	+	-	-	+	+	+
m3	+	-	-	+	+	+
m4	+	+	-	-	+	-
m5	-	+	+	+	-	-
m6	-	+	+	+	-	-

OH PUTAIN !!!!!

→ Comment on fait si on a ça au concours ???

1. *Suicide collectif*
2. *Apprendre la méthode tutoresque*

(moi je prendrais la 2, histoire de pas mourir...)

Tableau de complémentation

Premièrement, éliminer une partie du tableau :

	m1	m2	m3	m4	m5	m6
m1	-	+	+	+	-	-
m2		-	-	+	+	+
m3			-	+	+	+
m4				-	+	+
m5					-	-
m6						-

	m1	m2	m3	m4	m5	m6
m1	-	+	+	+	-	-
m2		-	-	+	+	+
m3			-	+	+	+
m4				-	+	+
m5					-	-
m6						-

On regarde la 1^{ère} ligne : $m1/m5 + m1/m6 \rightarrow$ pas de complémentation

On regarde la 2^{ème} ligne : $m2/m3 \rightarrow$ pas de complémentation

On regarde la 3^{ème} ligne : $m3/m4 + m3/m5 + m3/m6 \rightarrow$ complémentation

On regarde la 4^{ème} ligne : $m4/m5 + m4/m6 \rightarrow$ complémentation

On regarde la 5^{ème} ligne : $m5/m6 \rightarrow$ pas de complémentation

On conclut : Il existe 3 groupes de complémentation distincts :

Le 1^{er} : m1 m5 m6

Le 2^{ème} : m2 m3

Le 3^{ème} : m4

Même exercice avec le tableau de la dernière expérience pour bien comprendre :

cellule 2n	1BE	2 BE	3 BE	5 BE	6 BE	7 BE	8 BE	10 BE	11 BE	12 BE	1LO	KMSF
Référence	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 BE	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
2 BE		-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
3 BE			-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
5 BE				-	-	-	+	+	+	+	+	+
6 BE					-	-	+	+	+	+	+	+
7 BE						-	+	+	+	+	+	+
8 BE							-	-	+	+	+	+
10 BE								-	+	+	+	+
11 BE									-	+	+	+
12 BE										-	-	-
1LO											-	-
KMSF												-

CORRECTION

- **4 groupes de complémentation :**

- 1, 2, 3, 8, 10 BE

- 5, 6, 7 BE

- 12BE, 1LO, KMSF

- 11BE (seul...)

- **Hmmm Pika gusta :**

Il sait résoudre un tableau

Pika pika !!



HÉTÉROCARYON

- Cellule somatique contenant plusieurs **noyaux d'origine différente**
- Obtenu par **fusion de 2 cellules** (ou plus) sans fusion des noyaux



→ Nucléos, le pokémon biocellois

HÉTÉROCARYON

- Test de complémentation
- Cellule à **2 noyaux**
- 2 possibilités :
 - Complémentation entre les gènes étudiés
 - Pas de complémentations



HÉTÉROCARYON

➤ S'il y a complémentation :

- Les mutations appartiennent à des **goupes de complémentations différents**
- Cela **suggère** qu'ils ne sont **PAS ALLÈLES**
- Et pour les **protéines nucléaires**, ça marche ?

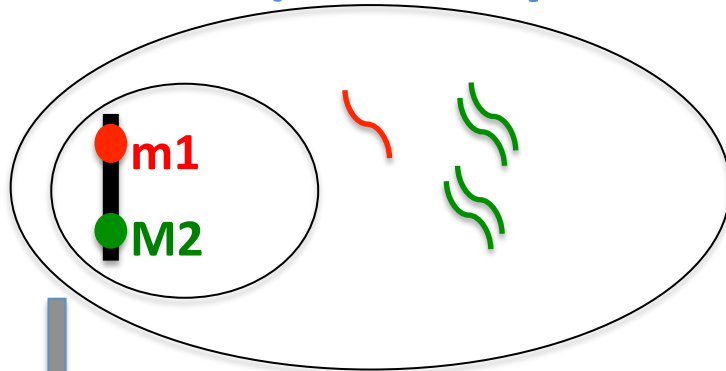


Mais bien sûr !

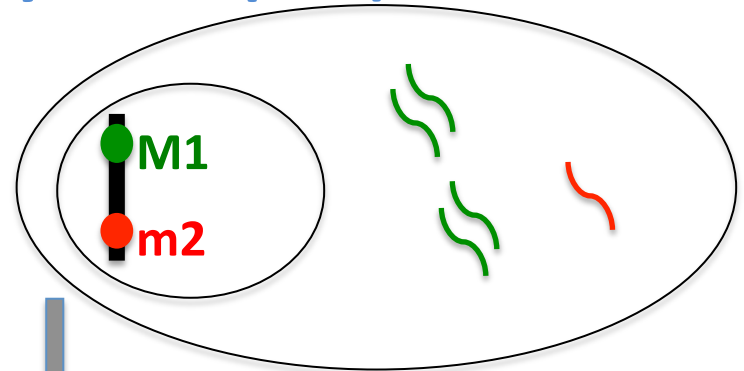
À votre avis : pourquoi ?

Hétérocaryon

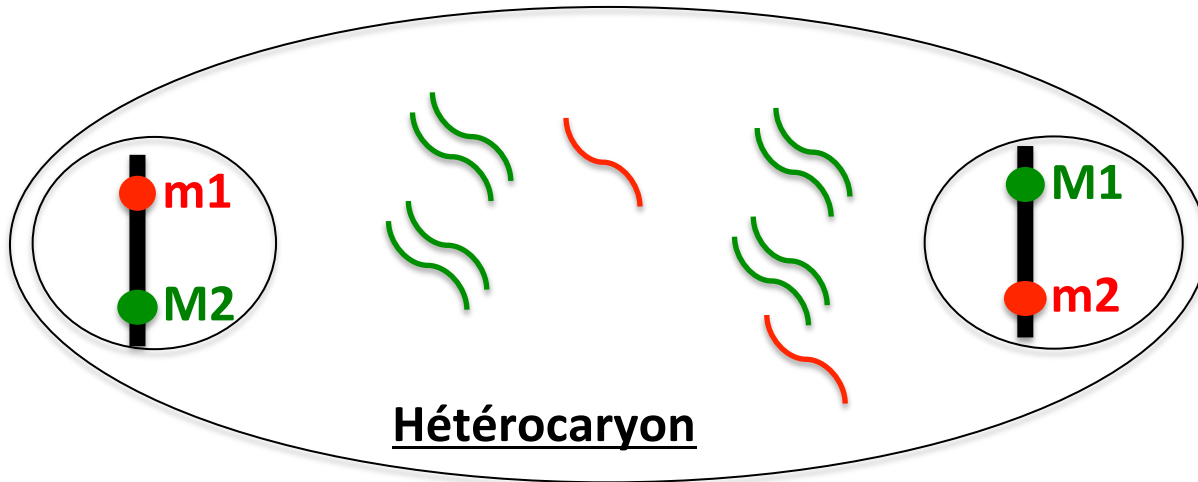
(cas des protéines cytosoliques)



Protéine m1 non fonctionnelle
Protéine M2 fonctionnelle



Protéine M1 fonctionnelle
Protéine m2 non fonctionnelle



Hétérocaryon

Protéine M1 fonctionnelle pour la cellule.
Protéine M2 fonctionnelle pour la cellule.

S'IL N'Y A **PAS** COMPLÉMENTATION

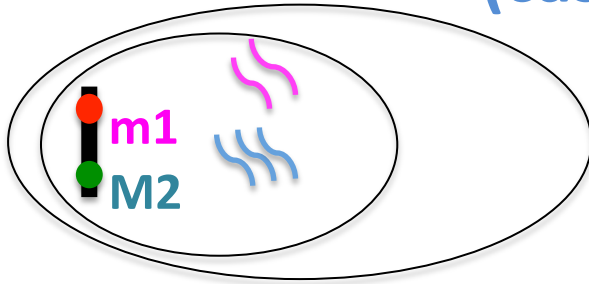
C'est le drame ! On ne peut
RIIIIIIIEN affirmer

Mais comment va-t-on faire ? Où sont les super héros
quand on a besoin d'eux ?

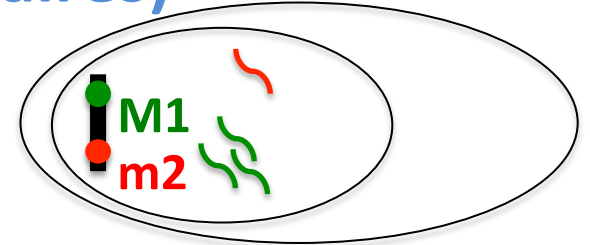


Hétérocaryon

(cas des Protéines nucléaires)



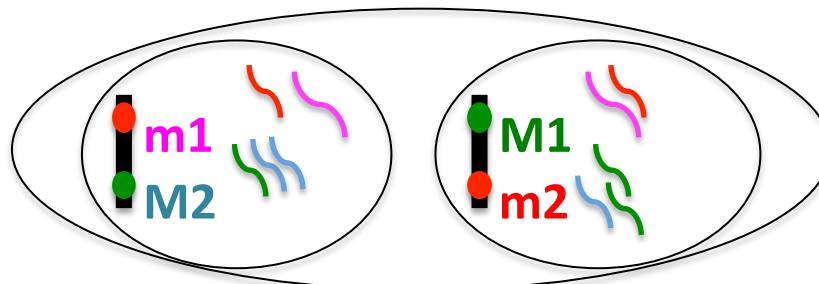
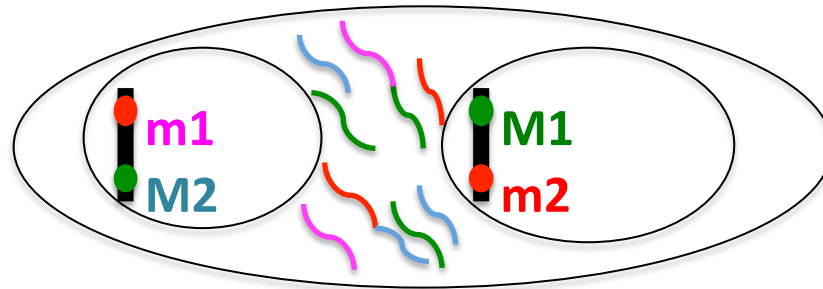
Protéine m1 non fonctionnelle
Protéine M2 fonctionnelle



Protéine M1 fonctionnelle
Protéine m2 non fonctionnelle



Transcriptome
sort du noyau
pour la **traduction**



Hétérocaryon

Complémentation :
Les **protéines fonctionnelles**
se retrouvent dans **les 2**
noyaux et complémentent
donc les **protéines mutées**

HÉTÉROCARYON

➤ S'il n'y a pas complémentation

- **Suggère** que les mutations codent pour un **ARN nucléaire**
- **Démontre** que les mutations appartiennent au **même groupe de complémentation**

➤ S'il y a complémentation

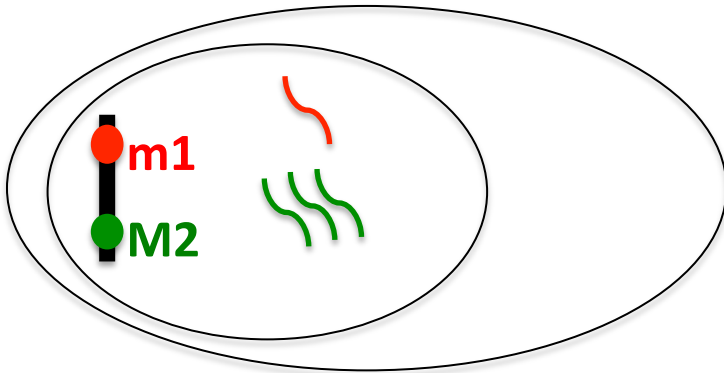
- **Démontre** que les mutations appartiennent à des **groupes de complémentation distincts**
- **Suggère fortement** que les mutations ne sont pas allèles

WTF avec cet ARN nucléaire

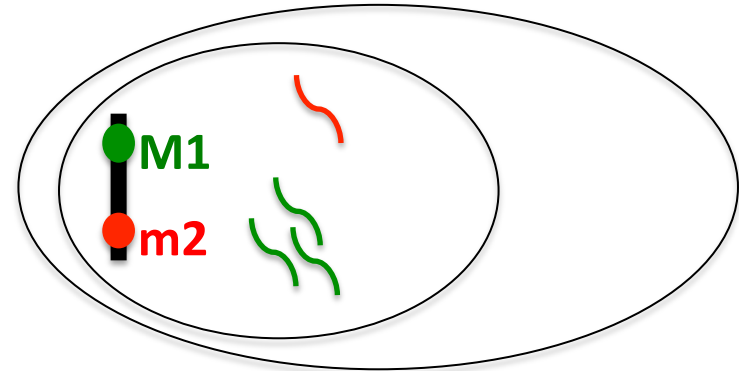
- Ne **pas** passe pas par le **cytosol** lors de la traduction
- Pourquoi ? → parce qu'il n'y a **pas de traduction...**

Hétérocaryon

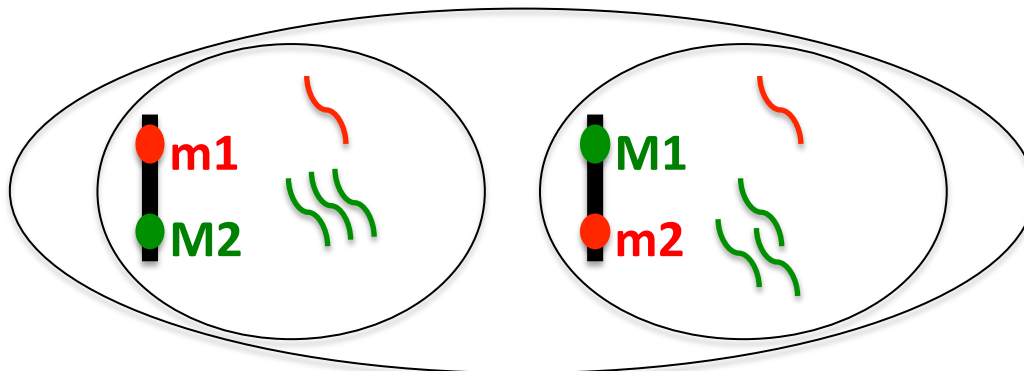
(cas des ARN nucléaires)



ARN m1 non fonctionnel
ARN M2 fonctionnel



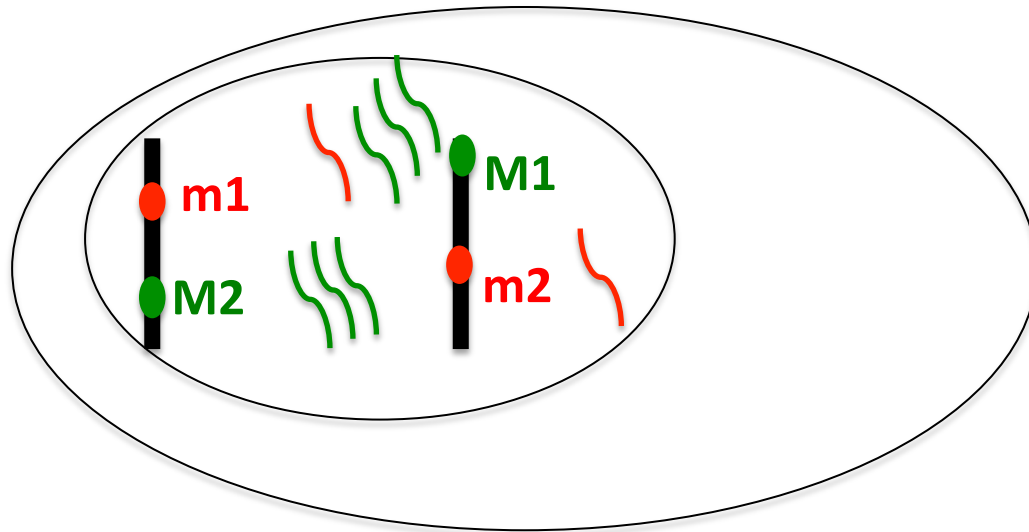
ARN M1 fonctionnel
ARN m2 non fonctionnel



ARN m1 non fonctionnel dans le noyau de gauche.
ARN M2 non fonctionnel dans le noyau de droite.

Hétérocaryon

Hybride somatique tétraploïde



Ici BIG NOYAU → les protéines M1 et M2 sont fonctionnelles dans le noyau commun.

→ **Phénotype sauvage**



LA MORT CELLULAIRE

- APOPTOSE
- NECROSE





CCPIXel.net
CC BY-NC-ND

APOPTOSE

APOPTOSE

- = **mort programmée** des cellules = suicide
- **Physiologique** ou **pathologique**
- Déclenchée de manière CONTROLÉE, par des signaux **EXTRA** et **INTRA-cellulaires**
- Mise en place d'une cascade réactionnelle et activation de gènes spécifiques
- **ATP dépendant !!!!**
- **ABSENCE** de réponse inflammatoire

PROCESSUS PHYSIOLOGIQUE

- Indispensable au **développement normal de l'embryon** (ex de la morphogénèse des doigts)
- Indispensable à **l'homéostasie tissulaire**
- Impliquée dans **l'élimination des cellules malades**



CARACTERISTIQUES DE LA CELLULE APOPTOTIQUE

- **Condensation générale** de la cellule
- **Condensation anormale de la chromatine**
- **Fragmentation de l'ADN** → fragmentation complète de la cellule → corps apoptotiques qui sont reconnus par les macrophages
- **Phagocytose sans réaction inflammatoire**
- **Protéolyse**



LA NECROSE



NECROSE

- **Non spécifique** par des actions chimiques ou physiques
- Peut être aussi programmée (new)
- **Processus ATP-indépendant**
- La cellule gonfle, puis **explose**, → **rupture de la membrane**
- **Réaction inflammatoire** par le relargage de certains composants



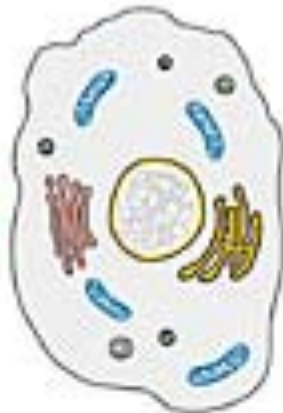
La cellule nécrotique

- **∅ fragmentation** de l'ADN
- **∅ condensation** de l'ADN
- Cellule gonfle, meurt par **rupture de la mb**
- Processus **ATP-indépendant**
- **→ Réaction inflammatoire !!!**

Nécrose



Cellule normale



Gonflement réversible

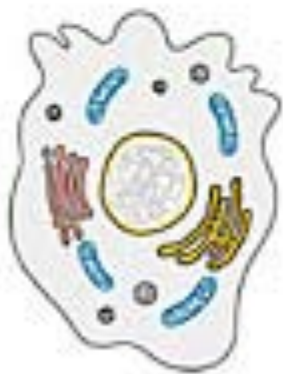


Gonflement irréversible



Désintégration

Apoptose



Cellule normale



Condensation



Fragmentation



Corps apoptotiques phagocytaires

Apoptose ou Nécrose ?

- Iodure de propidium **NE PASSE PAS** la membrane → seul les cellules NECROTIQUES seront colorées
- HOESCHT = contrôle, il est capable de passer la membrane → APOPTOTIQUES et NECROTIQUES

ANNEXINE V

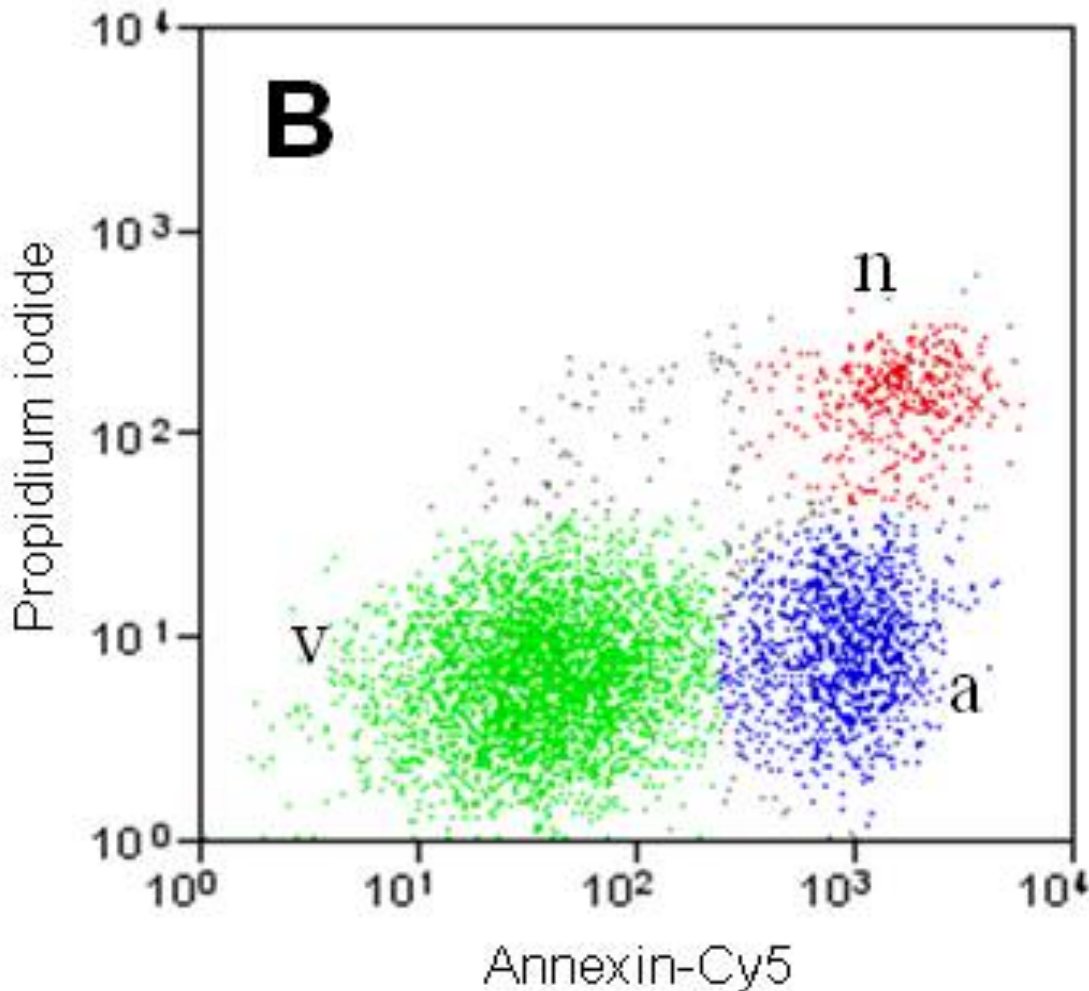
- Marqueur des phosphatidylsérines impliquées dans le processus d'apoptose → marque les cellules APOPTOTIQUES
- **ATTENTION!** Les cellules NECROTIQUES vont être aussi POSITIVES à l'annexine-5, elle ne change pas l'asymétrie de la membrane mais elle **EXPLOSE** → exposant la face interne de la membrane au marqueur!



RAPPEL

	HOESCHT	IODURE PROPIDIUM	ANNEXINE-5
NORMAL	+	-	-
NECROTIQUES	+	+	+
APOPTOTIQUES	+	-	+

Bonhomme, elle est où l'expérience?!



V = cellule vivante
A = cellule apoptotique
N = cellule nécrotique

La légende ne sera bien sur pas présente, le but étant de trouver où sont les différentes cellules 😊

C'EST FINI !!!

**Vous allez enfin pouvoir rentrer chez
vous et réviser**

**BON COURAGE ET DÉFONCEZ TOUT
AU CONCOURS**

PS: Les diapos précédentes étaient du FAKE,
bien sur **PIKACHU EST TOUJOURS VIVANT !**