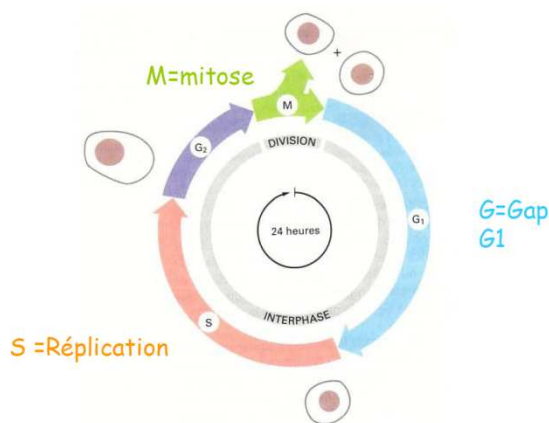


COURS N°10 DE BIOLOGIE CELLULAIRE : LE CYCLE CELLULAIRE

I – Le cycle cellulaire :

- Les cellules normales meurent (les cellules cancéreuses aussi) par apoptose
- Il est nécessaire de garder le même nombre de cellules et donc il faut qu'un certain nombre naissent
- Les cellules doublent leur contenu puis se divisent
- La succession de croissance + division = cycle cellulaire

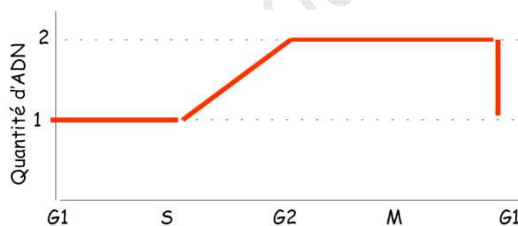
A – Description du cycle cellulaire :



- 2 périodes : interphase + phase M
- Phase M : phase de division cellulaire : mitose + cytotéière
- Interphase : G₁ + S + G₂
- Si un cycle dure 24h
 - o S → 8 à 12 h
 - o M → 1 à 2 h
 - o G₂ → 2 à 4 h
 - o G₁ très variable
 - o Si G₁ est très longue on l'appelle G₀

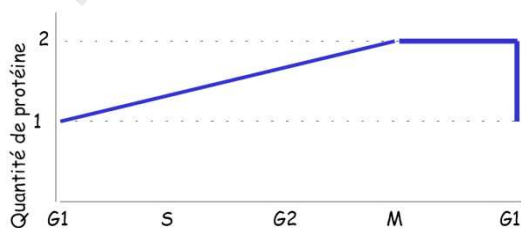
La durée d'un cycle est très différente d'un type de cellule à un autre : parfois jusqu'à 3 ans : on parle alors de cellules en quiescence

Il y a deux cycles distincts dans la cellule : celui du noyau et celui du cytoplasme



⇒ Cycle du noyau

- o Cycle discontinu
- o Synthèse d'ADN en phase S
- o Phase S : doublement de l'ADN



⇒ Cycle du cytoplasme

- o Synthèse constante de protéines
- o Sauf pendant la phase S
- o G₁ → G₂ : contenu en protéine double

B – Moyens d'études du cycle cellulaire

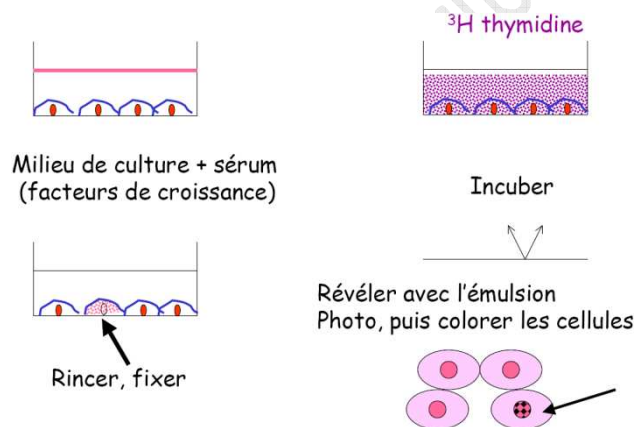
1/ Études en cultures : in vitro :

a/ durée totale du cycle

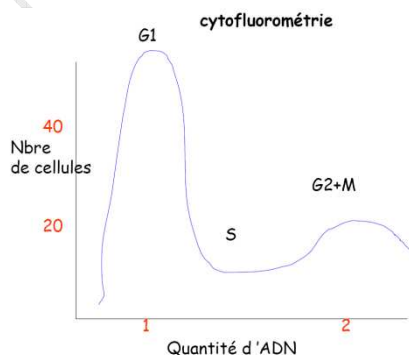
- Dans une boîte de culture, la population des cellules est asynchrone : elles sont toutes à des phases différentes du cycle cellulaire.
- Le temps de doublement du nombre de cellules dans la boîte de culture est la durée du cycle cellulaire

b/ Identifier les différentes phases du cycle cellulaire

- LA MITOSE : regarder au microscope optique : s'il n'y a plus d'enveloppe nucléaire c'est qu'il y a mitose
- PHASE S : 2 méthodes possibles
 - o **Autoradiographie** à la thymidine H3 (tritiée) : elle s'incorpore exclusivement dans l'ADN (pas l'ARN) : elle ne s'incorpore que dans les cellules dont l'ADN incorpore des nucléotides, c'est-à-dire en phase S



- o **Cytofluorométrie** : Incuber les cellules avec un colorant fluorescent de l'ADN : la quantité d'ADN est proportionnelle à l'intensité de la fluorescence, mesurée grâce à un fluoromètre ce qui va permettre de trier les cellules
 - Cellule G1 a 46 chromosomes → 46 molécules d'ADN (1 molécule = 2 brins)
 - Cellule G2/M : 46 chromosomes → 92 molécules d'ADN (4 chromatides)
 - Cellule S : 46 chromosomes → entre 46 et 92 molécules d'ADN



- Avec cette méthode on peut mesurer le nombre de cellules en G1 ou celles en G2+M mais pas celles en phase S car on n'observera pas de pic

Calculer la durée des différentes phases du cycle : exemple

- Règle de base : la durée d'une phase est proportionnelle au pourcentage de cellules qui sont dans cette phase
- On calcule la durée totale du cycle (temps de doublement) = 20h
- 5% des cellules sont en mitose : durée de la phase M = 1h
- Sur le fluoromètre, le 1^{er} pic contient 80% des cellules : durée de la phase G1 = 16h
- Avec l'autoradiographie à la thymidine, 10% des cellules sont marqués : phase S = 2h
- Durée phase G2 = 20 - (1+16+2) = 1h

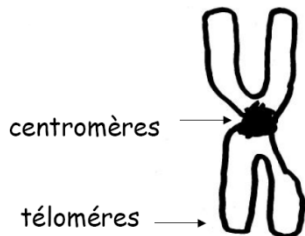
2/ Études in vivo

- Intérêt : les tumeurs qui ont un cycle cellulaire accéléré (on peut observer + de cycles + vite)
- Pour repérer la phase S chez l'homme, on injecte la bromodesoxyuridine (moins dangereuse) qui s'incorpore dans l'ADN en réplication et que l'on révèle avec un anticorps (immunocytochimie)



Tout ces éléments peuvent vous sembler simples, mais entraînez-vous à calculer des cycles cellulaires et leurs phases et surtout, sachez PARFAITEMENT quelles méthodes sont utilisables pour quelles phases !

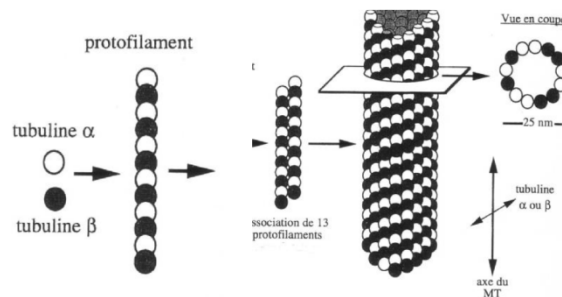
II – La mitose :



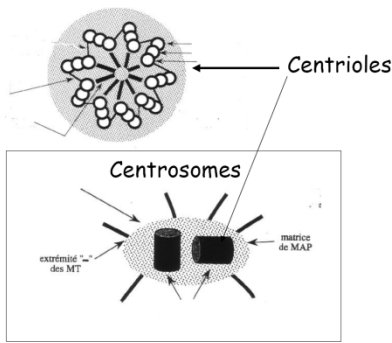
Quand le contenu en ADN du noyau et le contenu en protéines du cytoplasme ont doublé, il y a nécessité de distribuer également l'ADN entre chaque cellule fille

La mitose est le mouvement des chromosomes le long des microtubules, chromosomes à 2 chromatides à la mitose

1/ Les microtubules



- **STRUCTURE** : Instables, formés d'hétérodimères de tubuline α et β qui forment des protofilaments (13 pour former un tube creux : le microtubule)
- Les microtubules sont toujours en polymérisation / dépolymérisation : instabilité dynamique
- Des substances peuvent bloquer ces actions
 - o La colchicine empêche la polymérisation (contre les crises de goutte)
 - o Le taxol bloque la dépolymérisation (lutte contre le cancer)
- A l'interphase, les microtubules sont des filaments isolés qui rayonnent à partir du centrosome vers la périphérie de la cellule



- Centriole : organe creux de $0,2\mu\text{m} \times 0,4\mu\text{m}$ formé de 9 grappes de 3 microtubules (triplet)
- Centrosome : 2 centrioles + nuage de protéines
- Les deux centrioles sont perpendiculaires
- Pas de contact entre les extrémités négatives des microtubules et les centrioles : ce sont les protéines MAP qui nucléent les microtubules de la cellule
- Le microtubule est polarisé avec le pôle négatif au niveau du centrosome

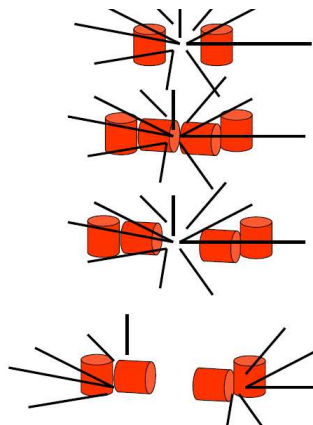
2/ Duplication des centrosomes

Fin G1 :

phase S :

début prophase :

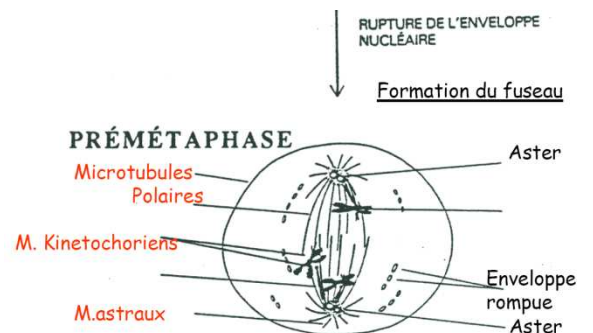
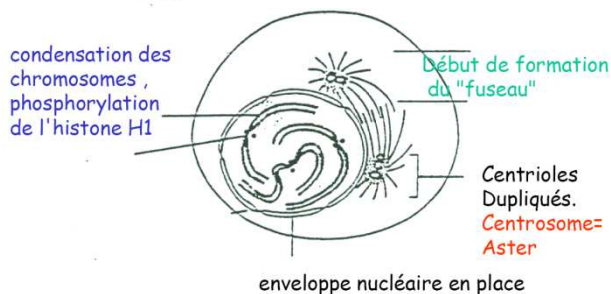
fin prophase : "Aster".

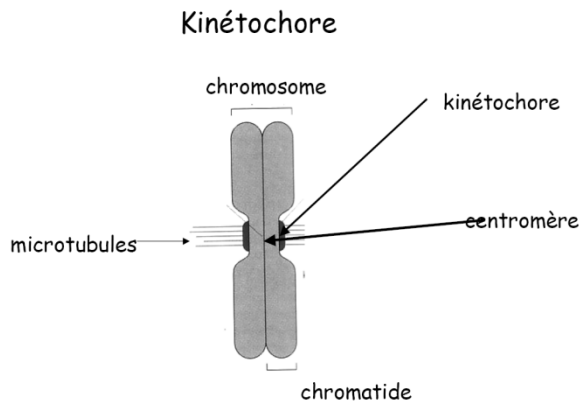


- Fin G1 : les centrioles s'écartent
- Phase S : Duplication des centrioles
- Début Prophase : Les microtubules rayonnent toujours du même centrosome mais les 2 centrosomes commencent à s'écarter
- Fin Prophase : Chaque centrosome devient un centre de rayonnement pour les microtubules : on parle alors d'Aster, début de la formation du fuseau mitotique

3/ Les différentes phases de la mitose

PROPHASE

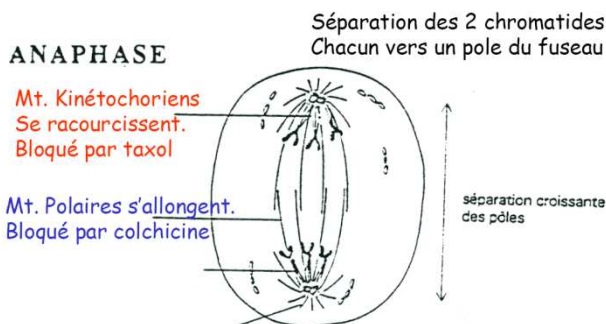
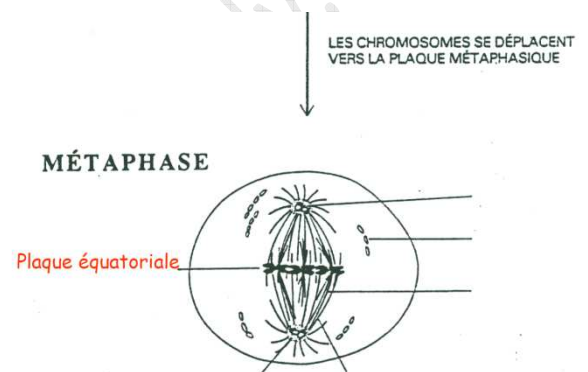




- Kinétochore : complexe protéique se formant durant la prophase autour des centromères des chromosomes. Il contient des protéines associées aux microtubules
 - Le kinétochore attrape un jeu de microtubules (qui deviennent kinétochoriens) en provenance d'un des deux pôles, ce qui rend les chromosomes très mobiles

En effet le kinétochore est relié à un seul des deux pôles par son microtubule qui se polymérise et dépolymérise sans cesse ce qui permet le déplacement le long du microtubule

- **MÉTAPHASE** : phase la plus longue (30 min) de la mitose, phase d'équilibre, notamment pour les microtubules
- Le kinétochore a attrapé 2 jeux de microtubules venant chacun d'un des 2 pôles opposés du fuseau. Le chromosome est attaché à chacun d'eux comme à des ressorts : les chromosomes se mettent dans un plan perpendiculaire à celui du fuseau : la plaque équatoriale

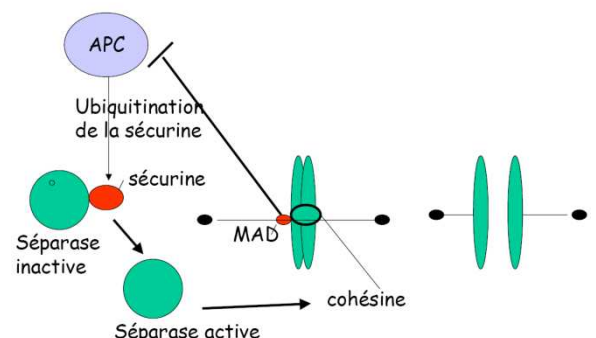


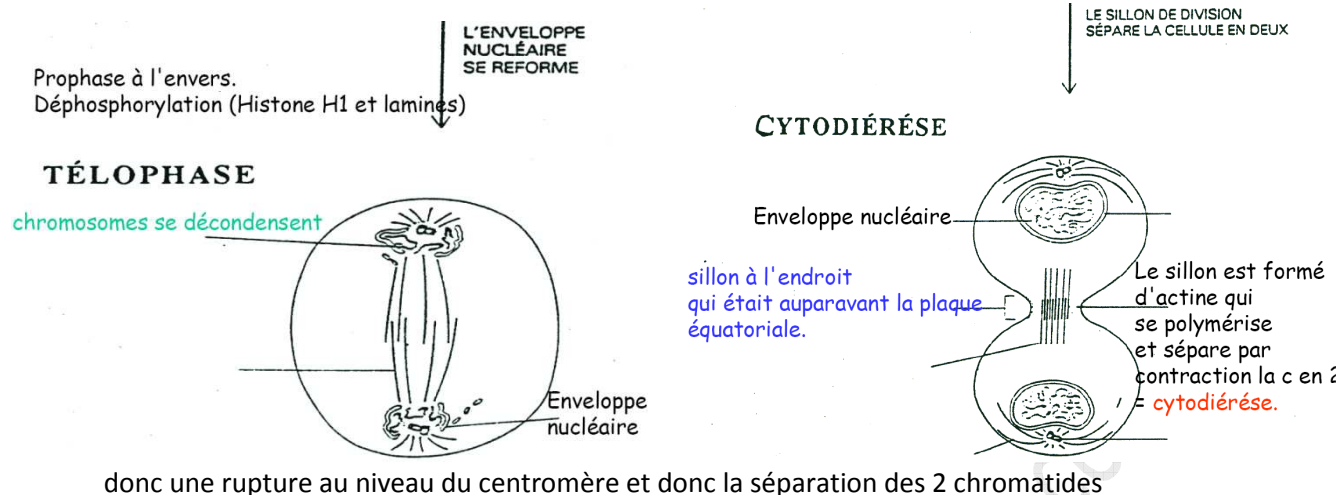
- **ANAPHASE** : phase très importante car les chromatides doivent être également réparties entre les 2 cellules filles
 - La protéine MAD du kinétochore, codée par le gène MAD (Mitosis Arrest Deficient) doit être présente en prophase et pré-métaphase, mais doit disparaître quand le kinétochore est attaché à chacun des pôles : sinon cela bloque l'APC et donc l'anaphase !

- Le raccourcissement des microtubules kinétochoriens permet l'inhibition du gène MAD (le gène « sent » la tension) : la protéine du kinétochore est donc un signal inhibiteur de l'anaphase

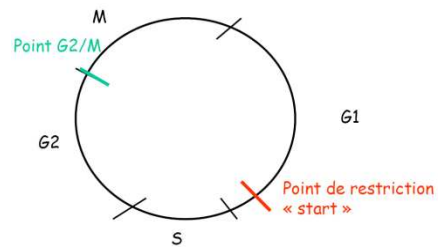
- APC : Anaphase Promoting Complex
- L'APC est actif durant l'anaphase et induit la dégradation d'une protéine du kinétochore qui est la « colle » entre les deux chromatides : cohésine
- L'APC ubiquitine la sécurine ce qui active la séparase qui dégrade la cohésine : l'APC permet

Contrôle biochimique de l'Anaphase et de la sortie de mitose



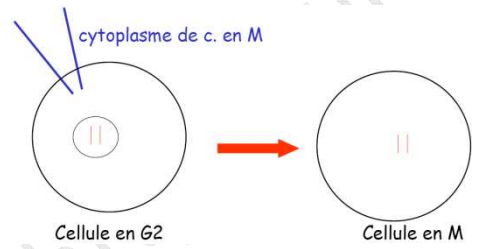


III – Contrôle du cycle cellulaire



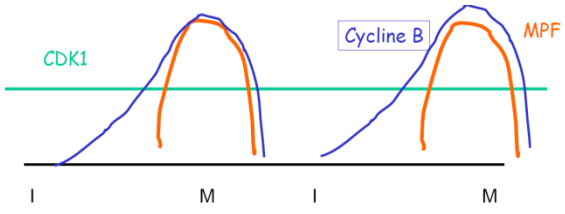
- Les kinases sont des enzymes qui induisent la phosphorylation de protéines : ce sont des modifications post-traductionnelles qui changent drastiquement l'activité des protéines
- Il y a deux types de kinases
 - o Les sérines thréonine kinases qui contrôlent le cycle cellulaire
 - o Les tyrosines kinases impliquées avec de nombreux facteurs de croissance
- Les phosphatases enlèvent les phosphates (déphosphorylation)

Le point G2/M et le déclenchement de la mitose



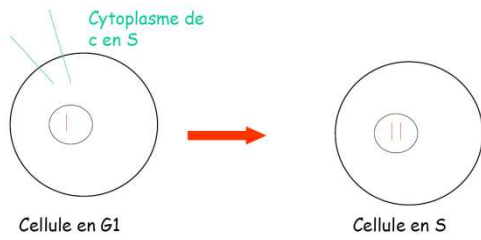
- Certaines levures ont un cycle cellulaire anormal : elles ne passent pas la mitose
- Il leur manque le gène cdc2 qui code pour une protéine de 34kd, appelée p34,cdc2
- Chez l'homme à la place de cdc2,p34 il s'agit de la CDK1 (Cyclin Dependant Kinase)

- C'est une sérine thréonine kinase inactive
- Au cours du cycle cellulaire le taux de cette kinase ne varie pas
- Cette CDK1 possède un cofacteur : la Cycline B, le taux de ce cofacteur
 - o Augmente progressivement durant l'interphase
 - o Est à son maximum à la mitose
 - o Disparaît à la fin de la mitose



- Cycline B + CDK1 = MPF (Mitose Promoting Factor)
- Les substrats de phosphorylation du MPF sont les Histones 1 (H1) et les lamines

- Tout le cycle cellulaire est contrôlé par des kinases dépendant des cyclines : c'est ainsi le cas pour le passage du point de restriction « start »



- Il existe plusieurs CDK : CDK2, CDK7, ...
- Les Cyclines C, D et E sont appelées Cyclines G1 et se lient aux CDK souvent sans réelles spécificités
- Néanmoins fréquemment on observe
 - o Cycline D + CDK4
 - o Cycline E + CDK2

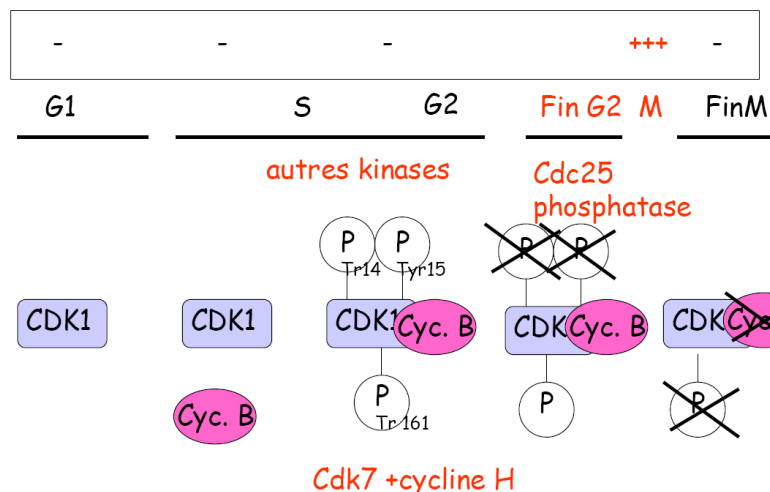
- Toutes les cyclines sont
 - o Synthétisées au moment du cycle où elles sont nécessaires
 - o Détruites par la suite par ubiquitination
 - o Des protéines transitoires



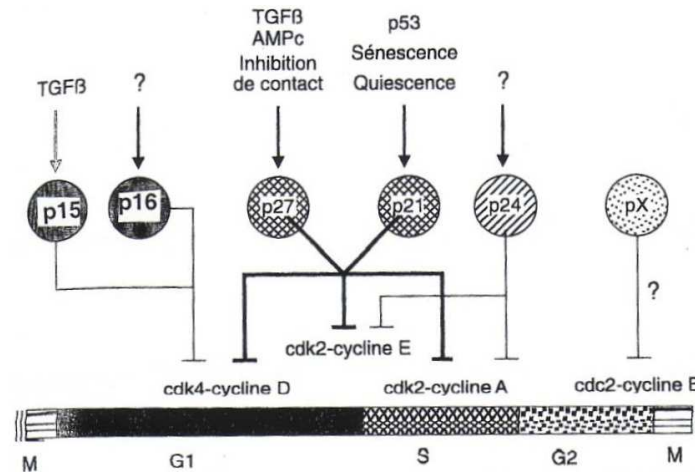
Ces noms peuvent sembler durs à apprendre au début, mais avec la partie suivante et pas mal de relectures, la logique devrait vous apparaître. Même si c'est inutile de le rappeler : tout est à savoir par cœur dans la partie précédente (et la suivante aussi)

- Mécanisme irréversible du contrôle des passages G2/M et G1/S : ubiquitination des cyclines
 - o Le complexe APC a une action ubiquitine ligase : il est responsable de l'ubiquitination de la Cycline B qui est dégradée dans des protéasomes, et de ce fait, de la fin de la mitose (afin d'éviter qu'une 2^{ème} anaphase survienne de suite après ce qui ferait plutôt une méiose ratée)
 - o Les Cyclines G1 sont également détruites par ubiquitination (mais pas à cause de l'APC)
- Mécanisme réversible du contrôle des passages G2/M et G1/S : dé/phosphorylations : ex de CDK1 et de l'entrée en mitose
 - o 2 phosphorylations sont inhibitrices (sur la thréonine 14 et la tyrosine 15)
 - o 1 phosphorylation est activatrice (sur la thréonine 161)
 - o Ces phosphorylations sont effectuées par une CDK : CDK7 + Cycline H
 - o Au début de la phase M, une phosphatase (cdc25) enlève les deux phosphates inhibiteurs
 - o Le complexe CDK1 + Cycline B (activant le MPF) n'est actif que si ces déphosphorylations / phosphorylations ont eu lieu !

Activité H1 kinase



- Contrôle biochimique par des protéines inhibitrices : les CDI



- CDI : Cycline Dependant Kinase Inhibitors se lient aux complexes Cycline + CDK
- Certaines CDI sont spécifiques :
 - o p16 spécifique du complexe CDK4 + Cycline D
 - o p21 et p26 sans spécificité
- Quand la synthèse de ces protéines est augmentée, le cycle cellulaire ralentit voire s'arrête
- Les CDI sont + produites quand
 - o Les cellules se touchent : inhibition de contact
 - o Des facteurs de croissance inhibiteurs de prolifération sont activés (TGFβ → p27)
 - o Des gènes suppresseurs de tumeurs sont activés (p53 → p21)
 - o Sénescence : p16 et p21

- Mise en œuvre des contrôles

- o Bloc de réplication : une cellule ne peut pas être induite à répliquer 2 fois son ADN
- o Impossibilité de passer en phase M tant que l'ADN n'est pas répliqué
- o Ex : si l'on traite les cellules en phase S avec un inhibiteur de l'ADN polymérase, les cellules ne passeront pas en mitose tant que la phase S ne sera pas terminée
- o Durant la réplication cdc25 est inactive

- Contrôle du cycle et de la réparation de l'ADN

- o Malgré la fonction d'édition de l'ADN polymérase, il se produit des mésappariements dus aux UV et aux substances mutagènes
- o Arrêt transitoire du cycle cellulaire le temps que les mécanismes de réparation agissent
- o Protéines responsables du ralentissement si l'ADN est abîmé (« senseurs »)
 - Rad9 et ATM avant G2 → inactivation de cdc25
 - p53 avant la phase S induit une CDI et bloque la réplication



Le schéma en bas de la page 7 est vraiment à savoir par cœur ! Il est essentiel de bien comprendre les mécanismes de ce cours car c'est un peu la base des 3 cours de biocell sur noyau et cycle cellulaire. Bon courage !

Ce document, ainsi que l'intégralité des cours de P1, sont disponibles gratuitement à l'adresse suivante : <http://coursp1bichat-larib.weebly.com>