

Cycle cellulaire et régulations

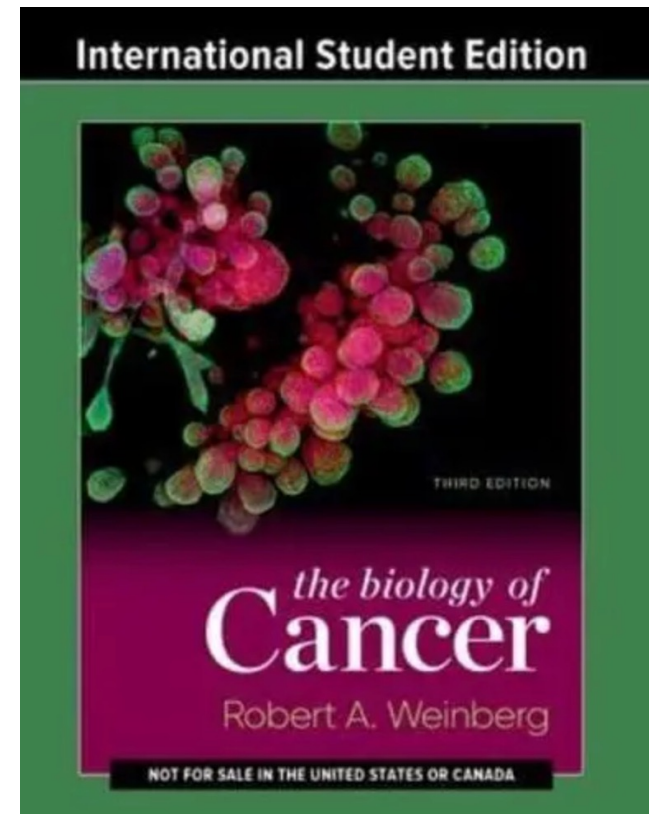
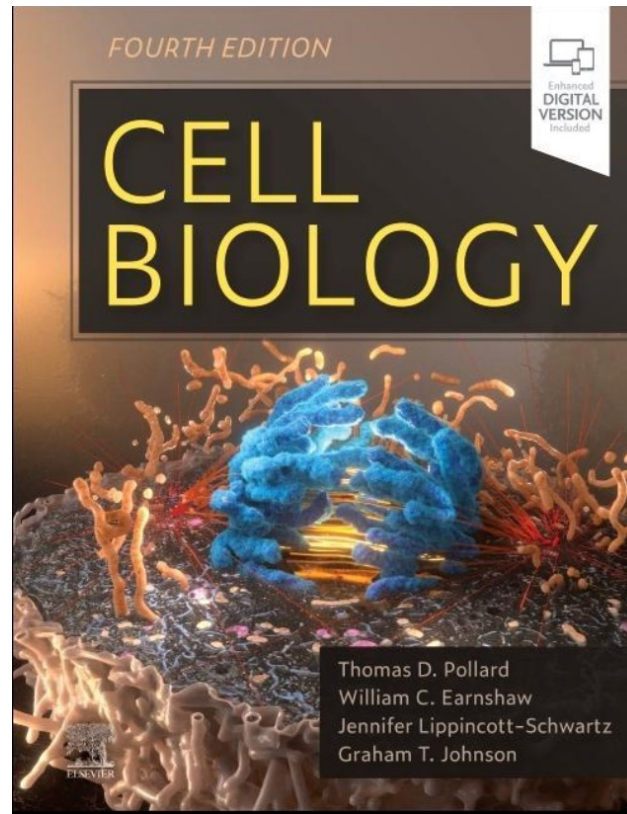
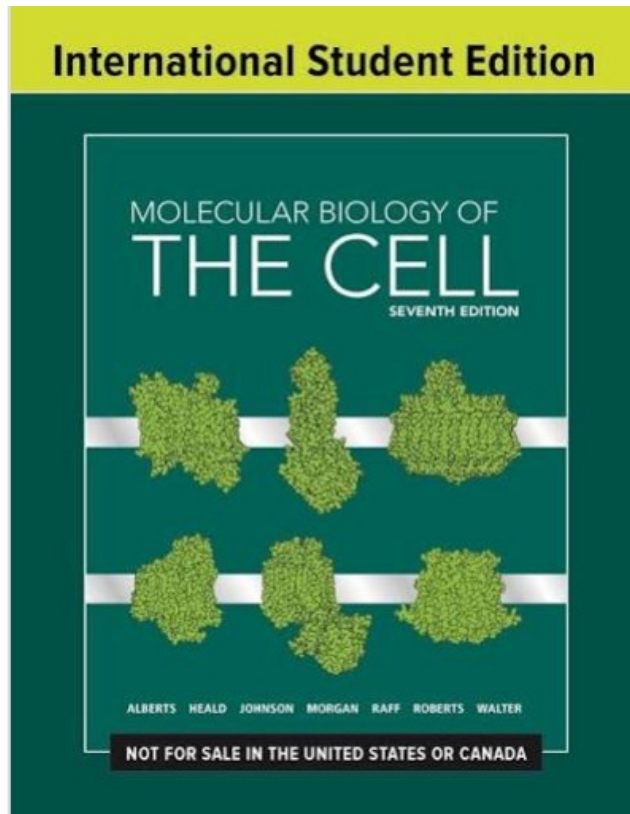
Boris BARDOT, PU Université Paris-Saclay

Centre de recherche Institut Curie

Signalisation, Radiobiologie et Cancer (UMR3347/U1021)

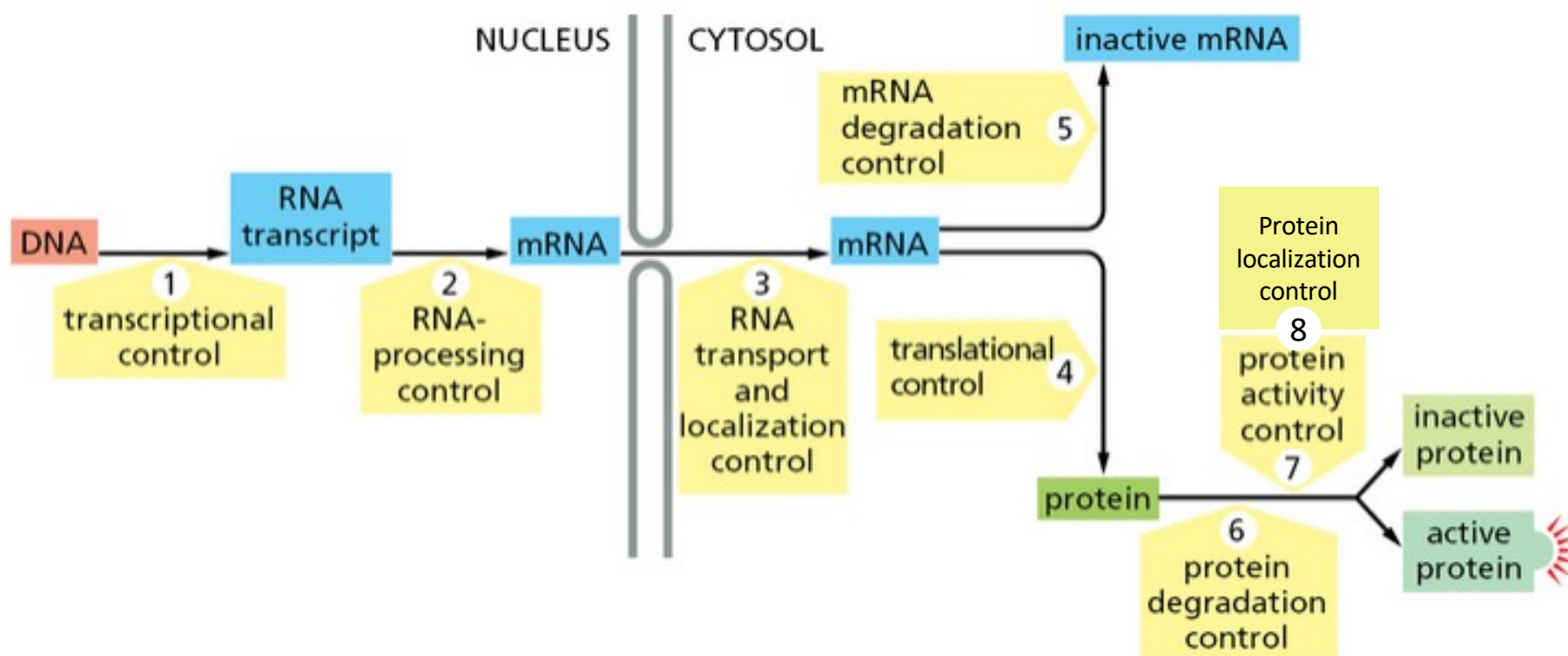
boris.bardot@curie.fr

Lectures recommandées !



A retenir !

Etapes clés de régulations



Tiré du livre « Molecular Biology of the Cell »

Cycle(s) cellulaire(s) et régulations

I-Vue d'ensemble du cycle cellulaire

II- Méthodes pour étudier les cellules en prolifération

III-Régulation du cycle cellulaire

A- Historique

B- Les complexes Cycline/Cdk

C- La transition G1/S

D- Contrôle de la réplication de l'ADN en phase S

E- La transition G2/M

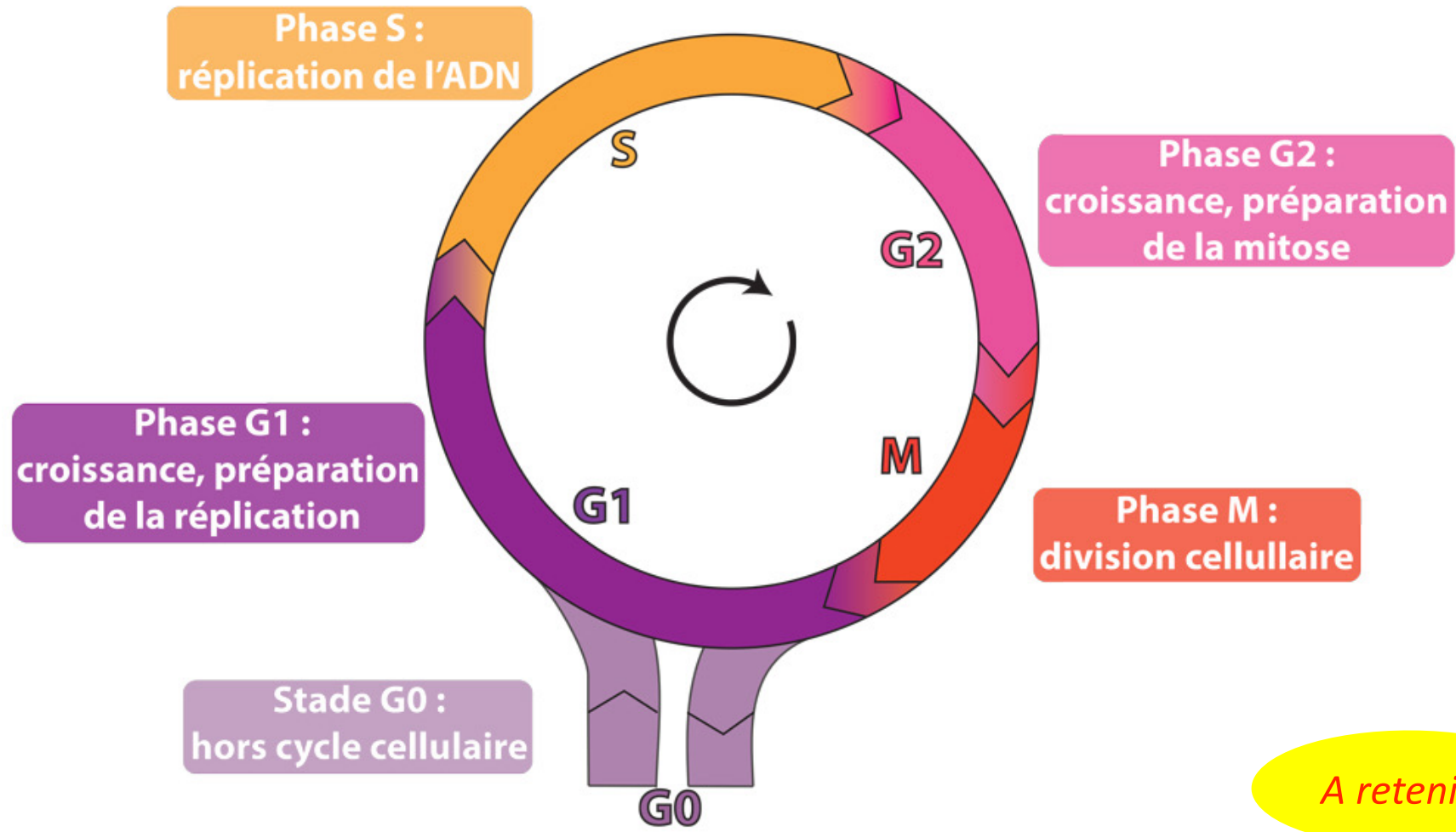
IV-Mécanismes de surveillance du cycle

V- La sénescence cellulaire

I-VUE D'ENSEMBLE DU CYCLE CELLULAIRE

Les différentes phases du cycle cellulaire

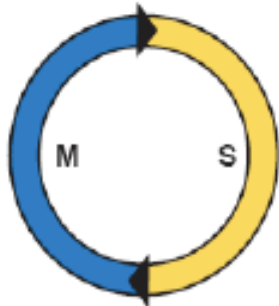
4 phases : G1,S,G2, M



A retenir !

Les différents types de cycles cellulaires

MITOTIC CELL CYCLES



CLEAVAGE CYCLES

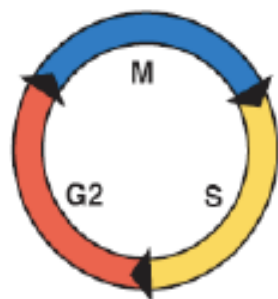
Xenopus and *Drosophila*

Increase cell number
Uncoupled from cell growth
Lack checkpoints

FISSION CYCLE

Chlamydomonas

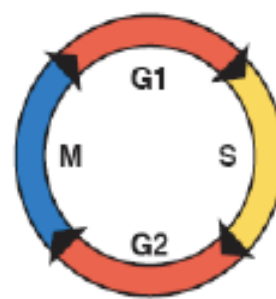
Increases cell number
Coupled to cell growth
through size sensor



CELL CYCLES 14-16

Drosophila

Increase cell number
Uncoupled from cell growth
Contain checkpoints

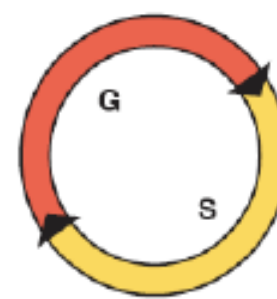


SOMATIC CELL CYCLES

Stem/progenitor cells

Increase cell number
Coupled to cell growth
Contain checkpoints

POST-MITOTIC CELL CYCLE



ENDOCYCLES

Drosophila Follicle cells
Medicago trunculata Root nodule
Arabidopsis Cortex
Nurse cells
Larval tissues

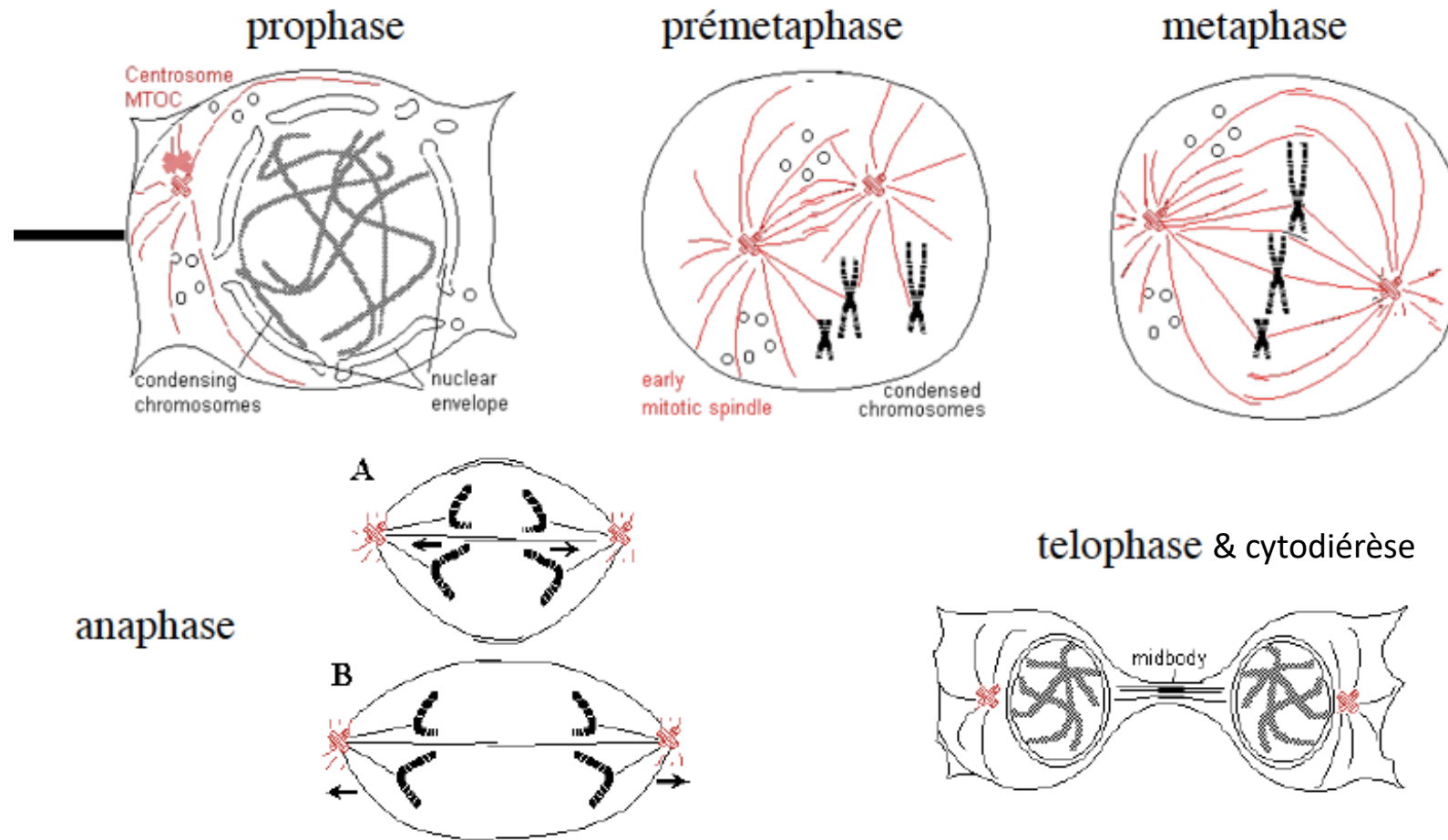
Do not increase cell number
Coupled to cell growth
Increase DNA ploidy

Cycles chez certains embryons
(phases précoces du développement)

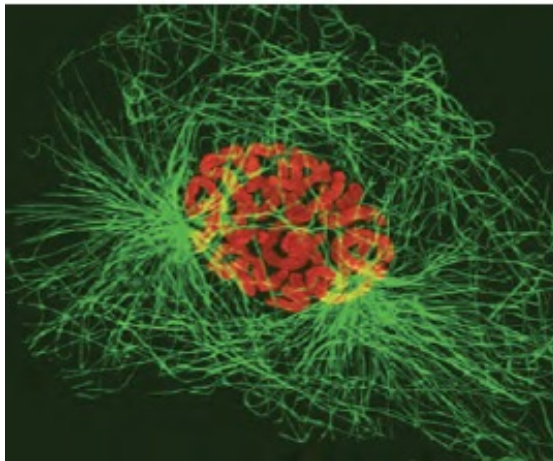
Les différentes étapes de la Mitose (M)

A retenir !

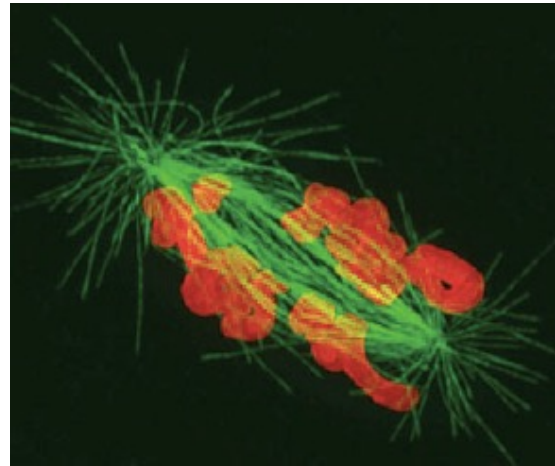
G2 ————— M —————



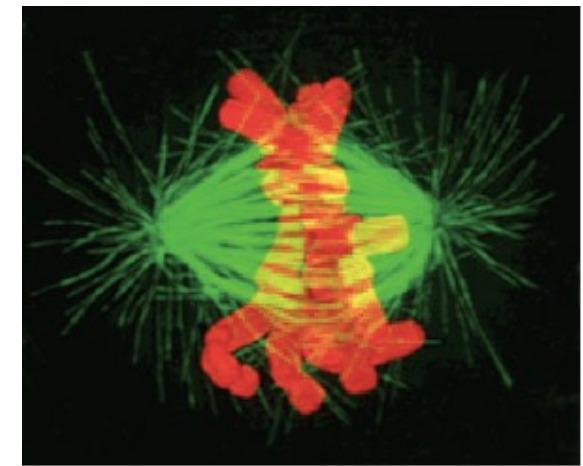
Les différentes étapes de la Mitose (M)



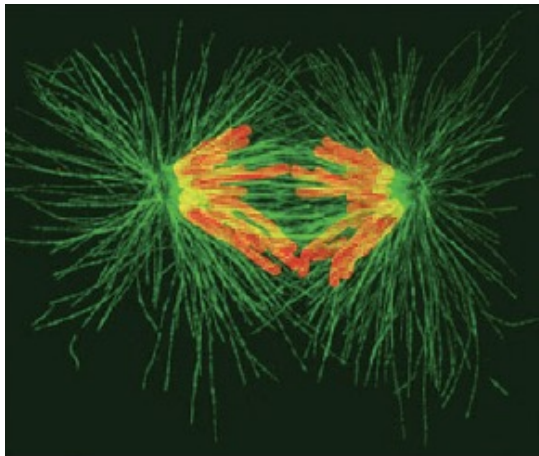
Prophase



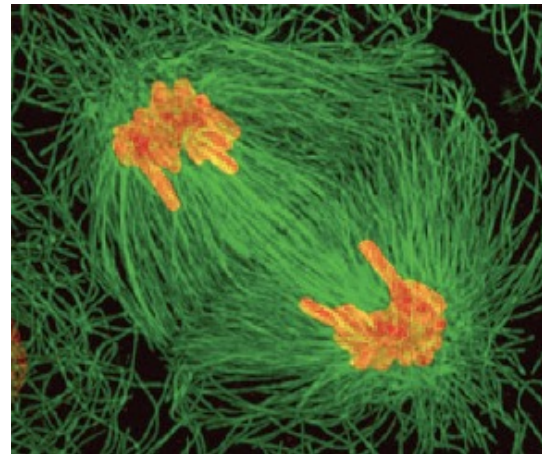
Prométaphase



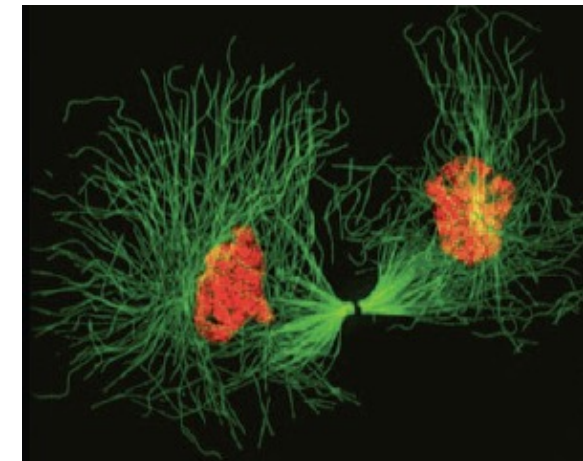
métaphase



anaphase



Télophase



Fin de cytotodièrèse

Condensine et condensation de l'ADN (Prophase)

La Condensine

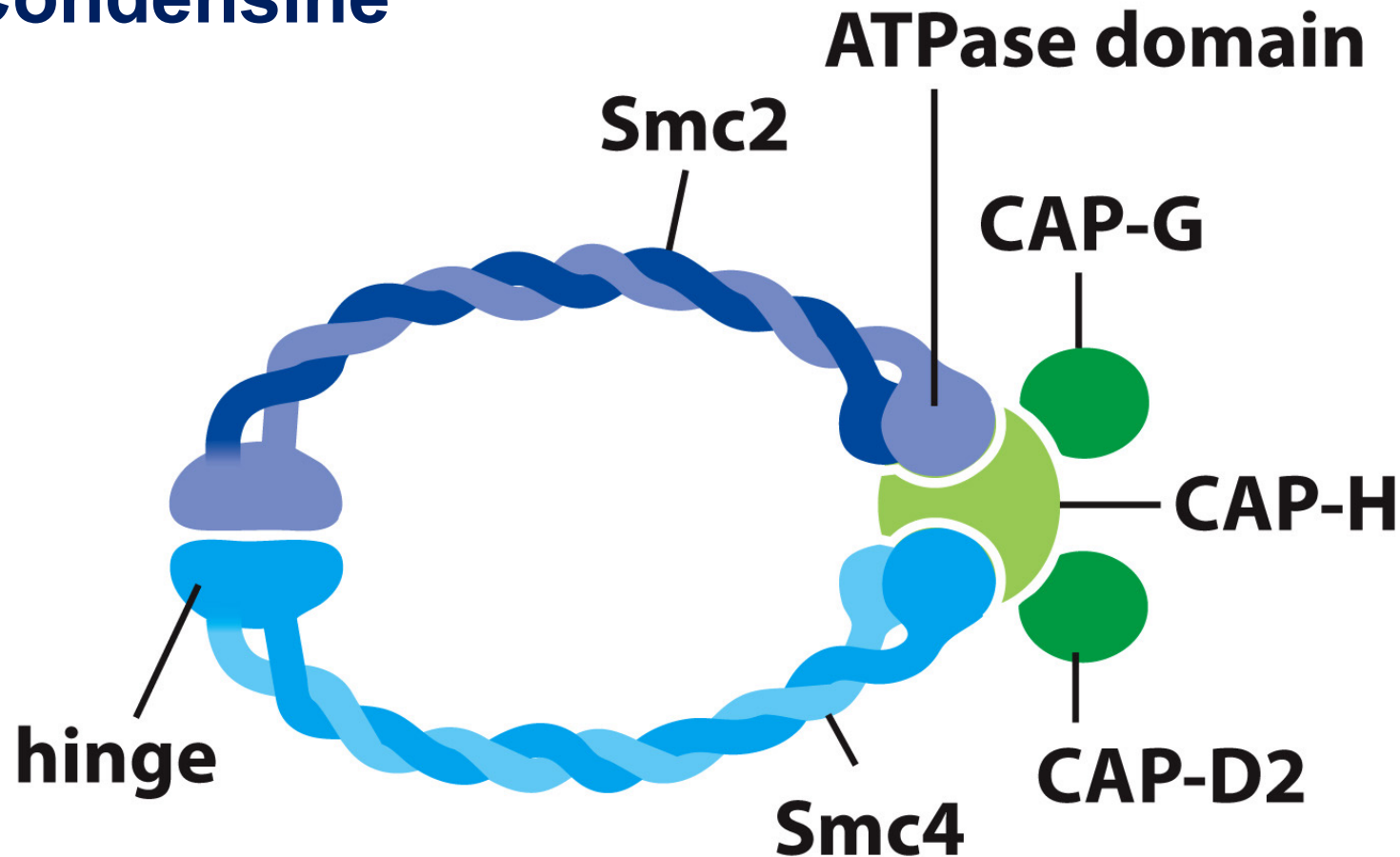


Figure 17-22a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Tiré du livre « Molecular Biology of the Cell »

- Utilise l'énergie d'hydrolyse de l'ATP pour aider à la condensation
- Formées de dimères de protéines SMC + 3 autres sous-unités (SMC: « Structural Maintenance of Chromosome)

Condensine et condensation de l'ADN (prophase)

Le mécanisme utilisé par la condensine pour catalyser la restructuration et la compaction de l'ADN des chromosomes n'est pas très clair, mais il se pourrait qu'elle forme un anneau qui encercle les boucles de l'ADN dans chaque chromatide sœur

Chez l'homme chaque chromosome en interphase se compacte pour former un chromosome mitotique près de 50 fois plus court.

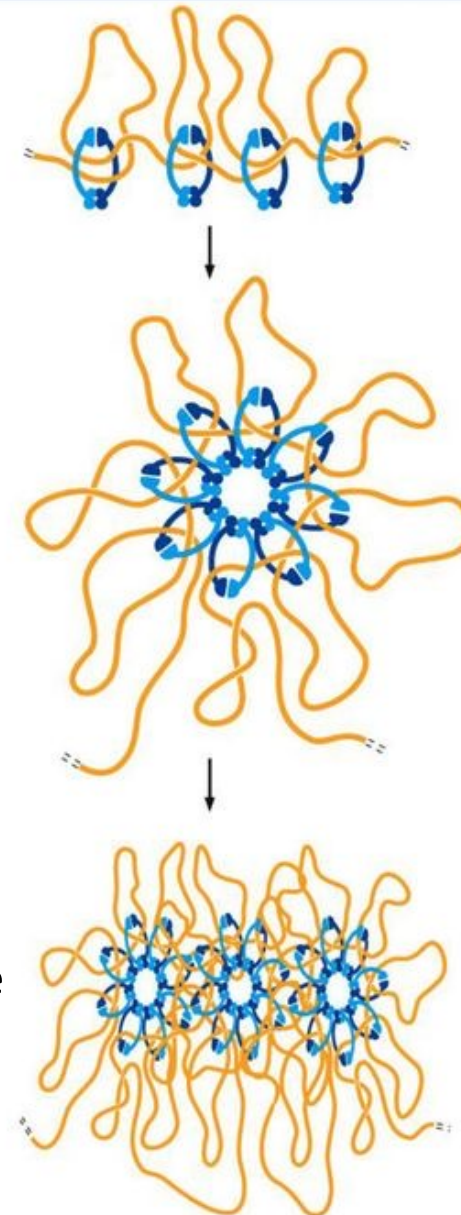
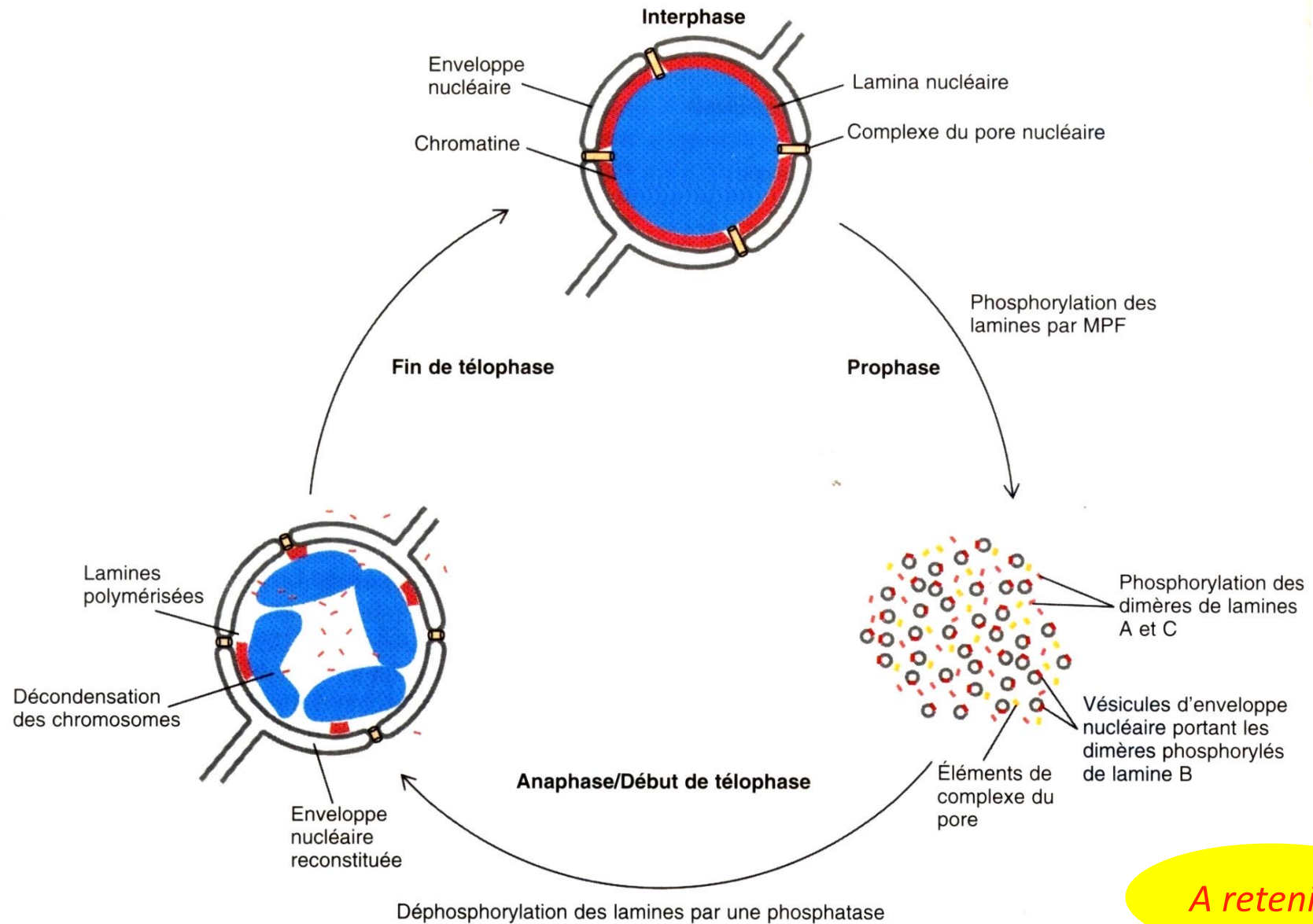


Figure 17-22b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

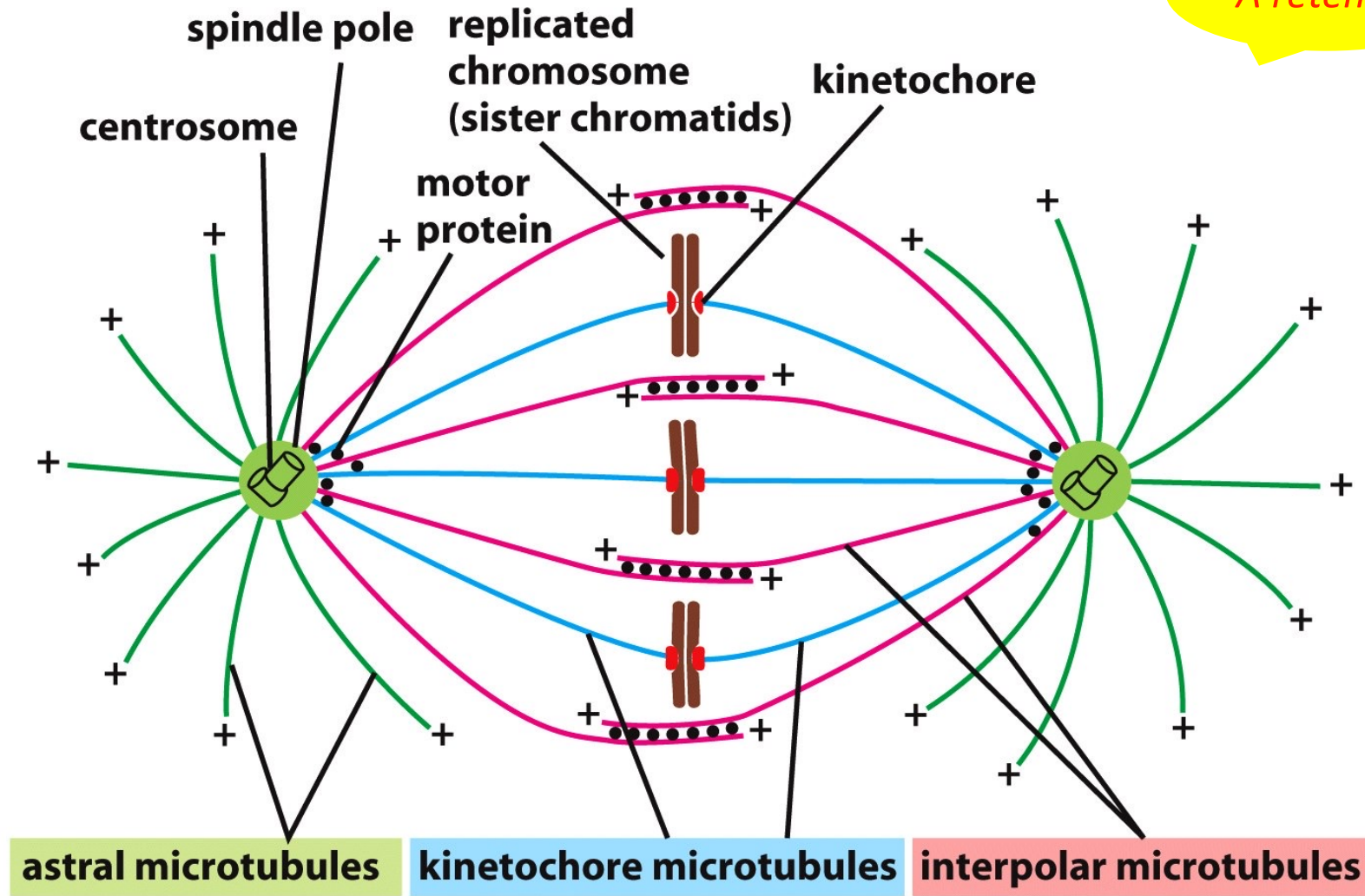
Phosphorylation des lamines et rupture de l'enveloppe nucléaire (Prométaphase)



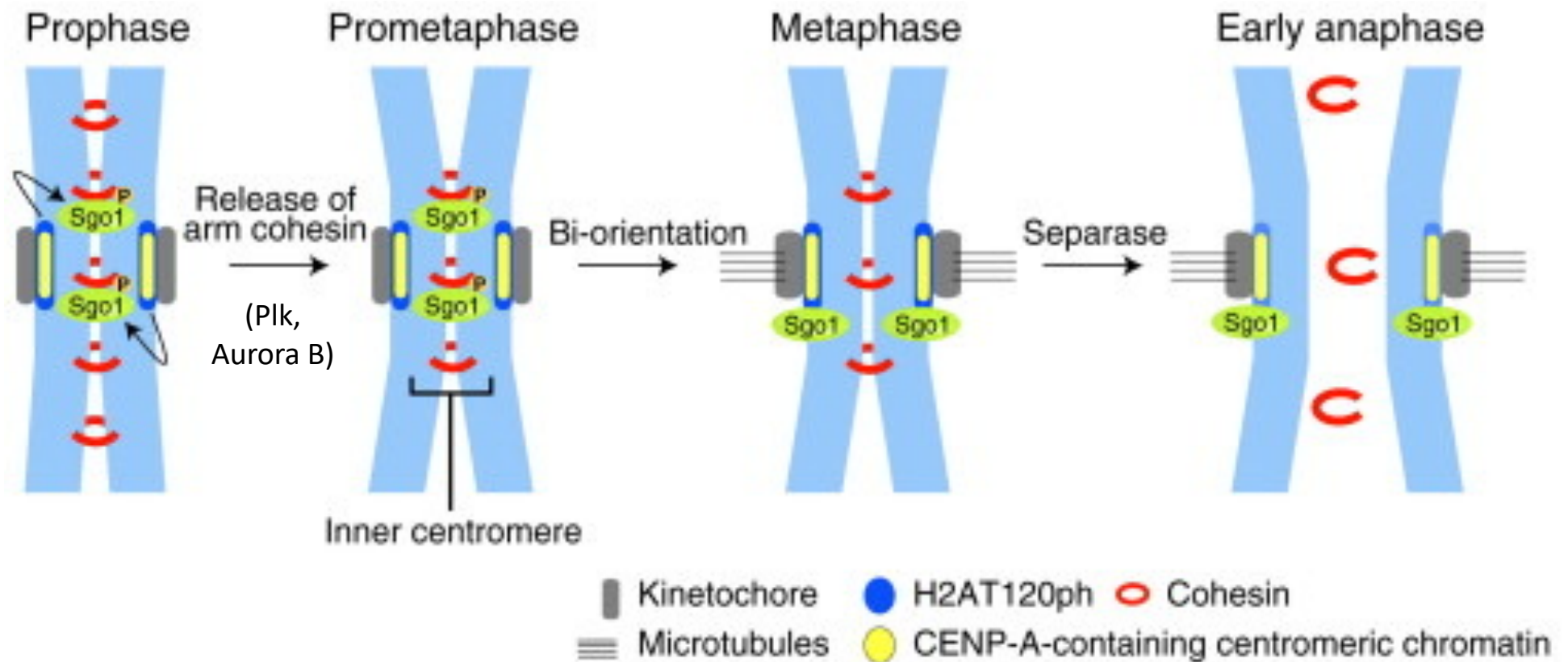
A retenir !

Assemblage du fuseau mitotique et Ségrégation des chromatides soeurs

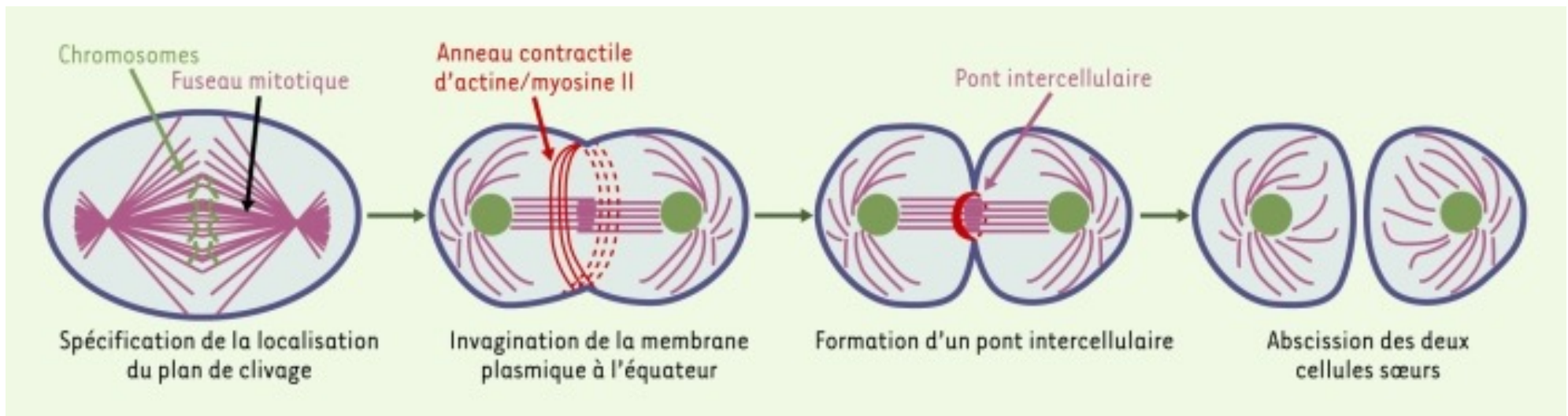
A retenir !



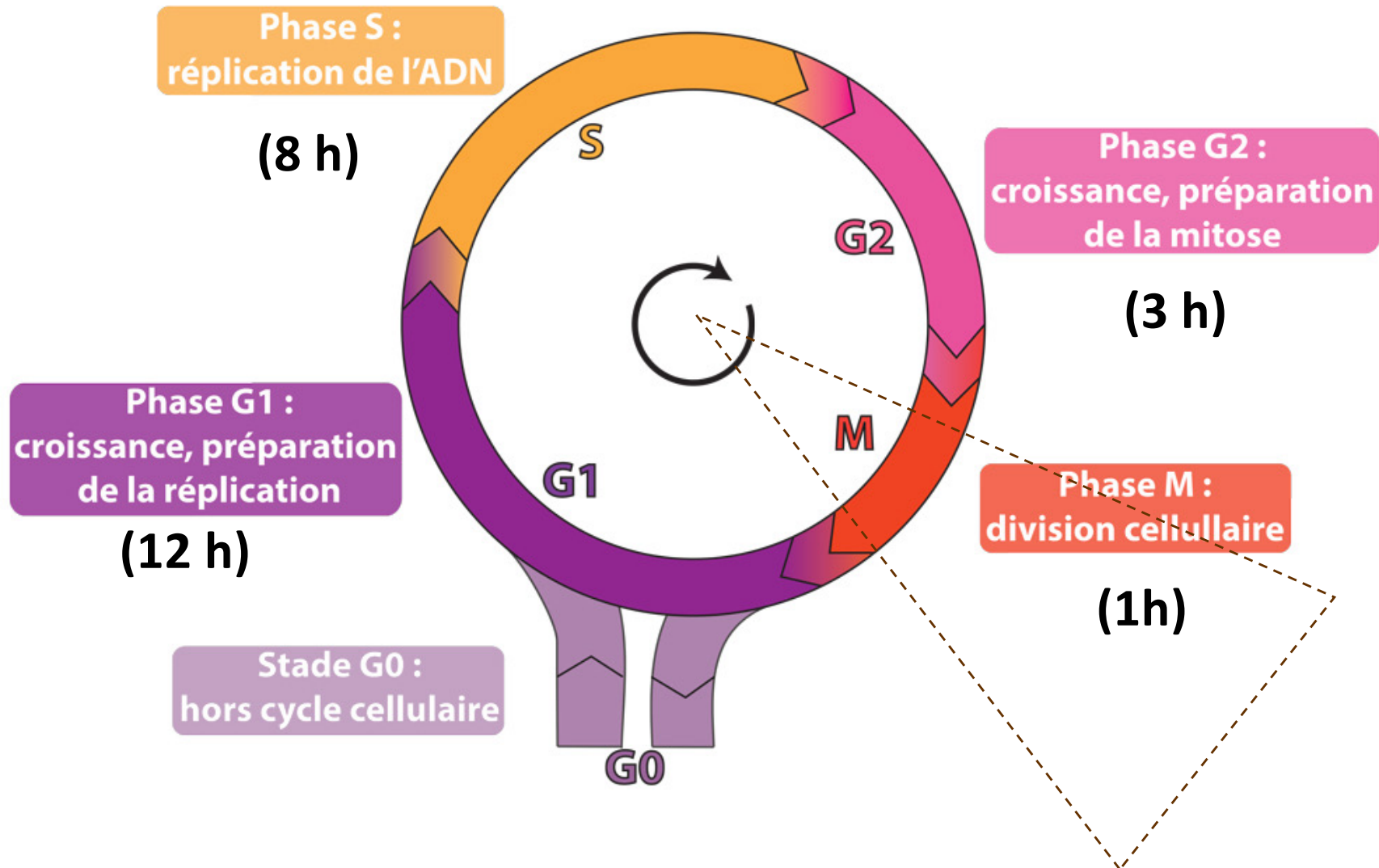
Cycle des cohésines et Ségrégation des chromatides soeurs



Formation de l'anneau contractile et cytotodiérèse (cytocinèse)



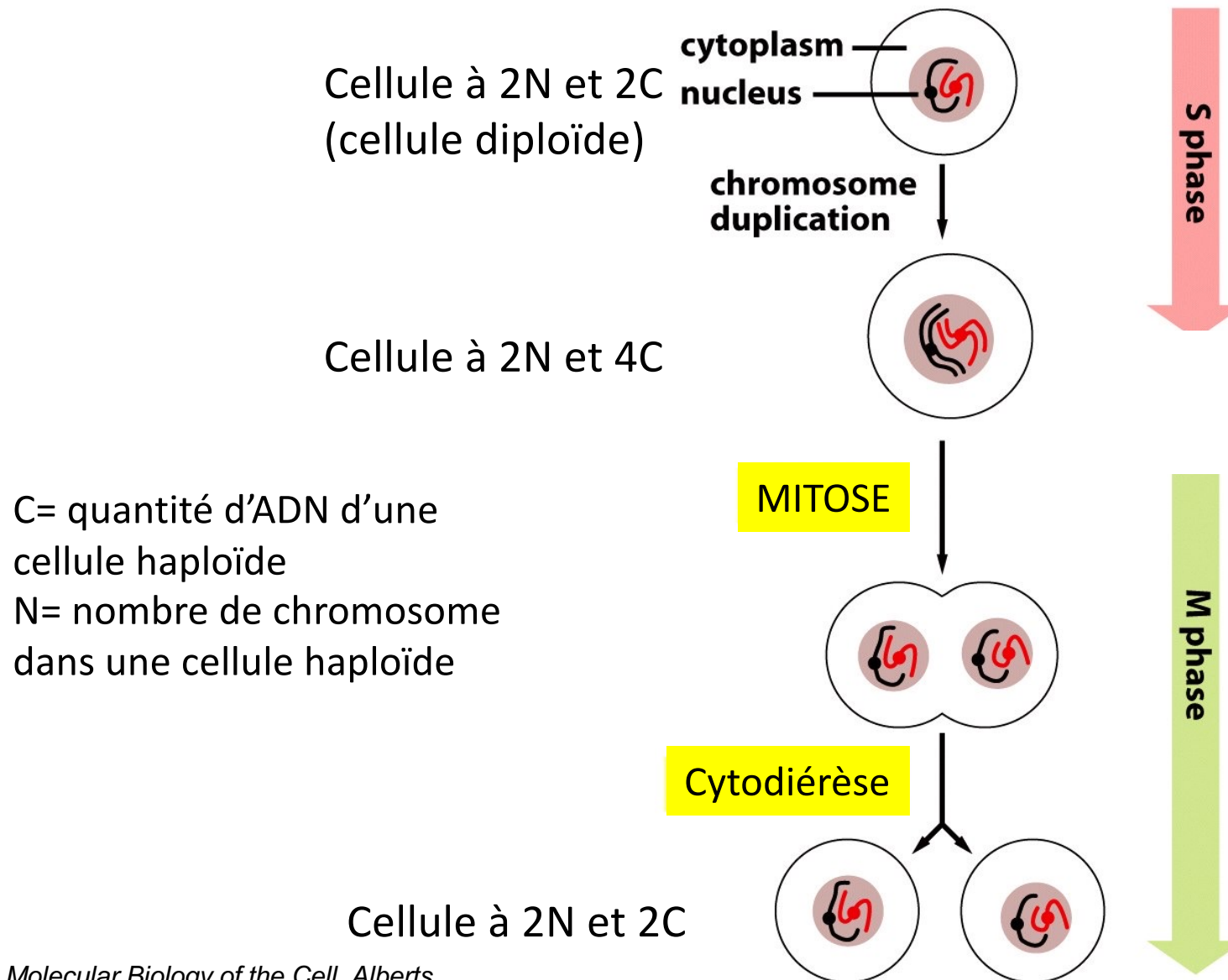
DURÉE DES DIFFÉRENTES PHASES DU CYCLE CELLULAIRE



La Phase S et la Réplication de l'ADN

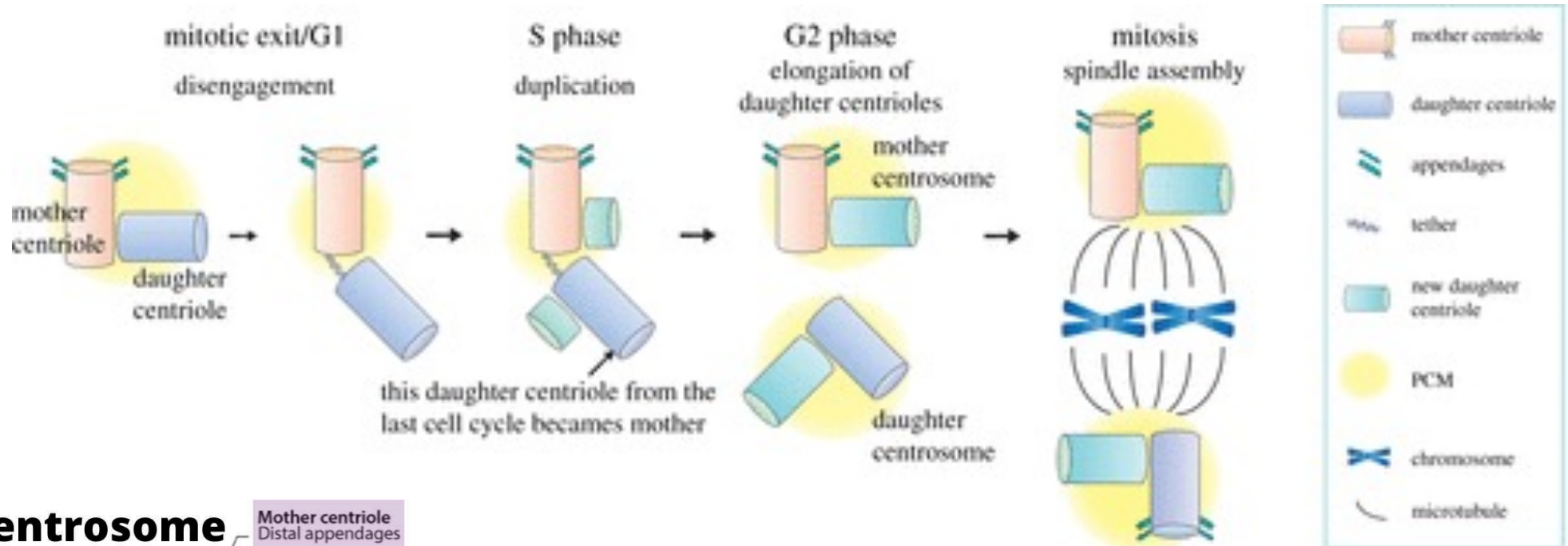
Rappel : La quantité d'ADN varie au cours du cycle

A retenir !

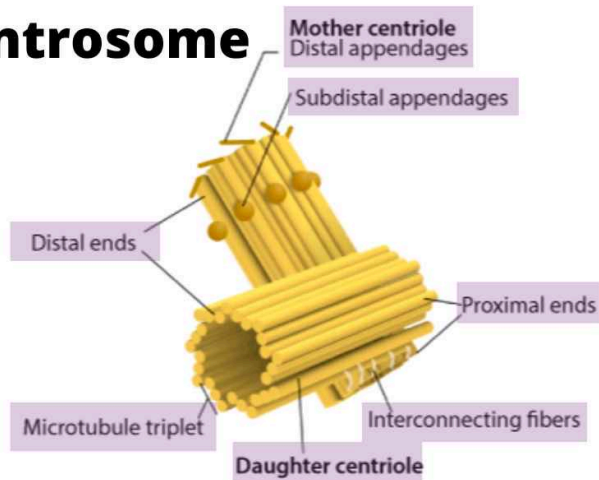


C= quantité d'ADN d'une cellule haploïde
N= nombre de chromosome dans une cellule haploïde

La Phase S et la Duplication des Centrosomes



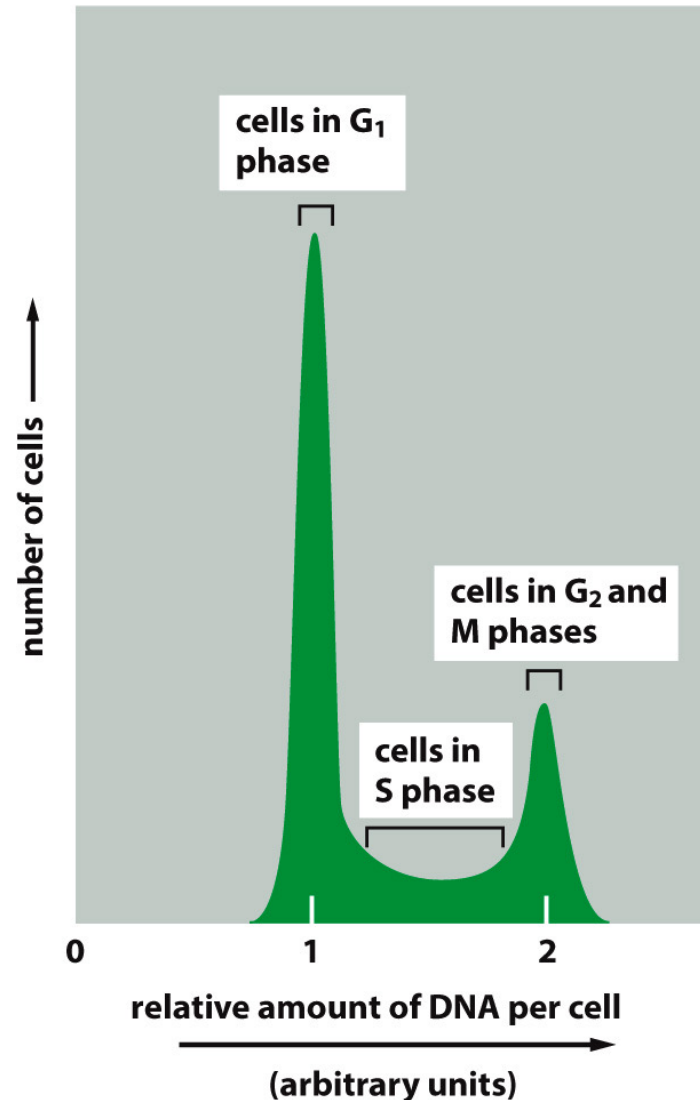
Centrosome



A retenir !

II- MÉTHODES POUR CARACTERISER LES CELLULES EN PROLIFERATION

II.A. MÉTHODE BASEE SUR LE CONTENU EN ADN



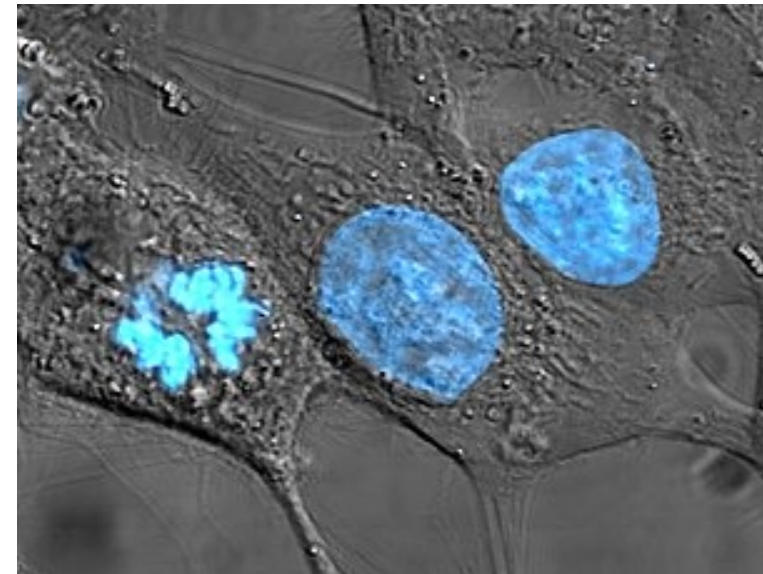
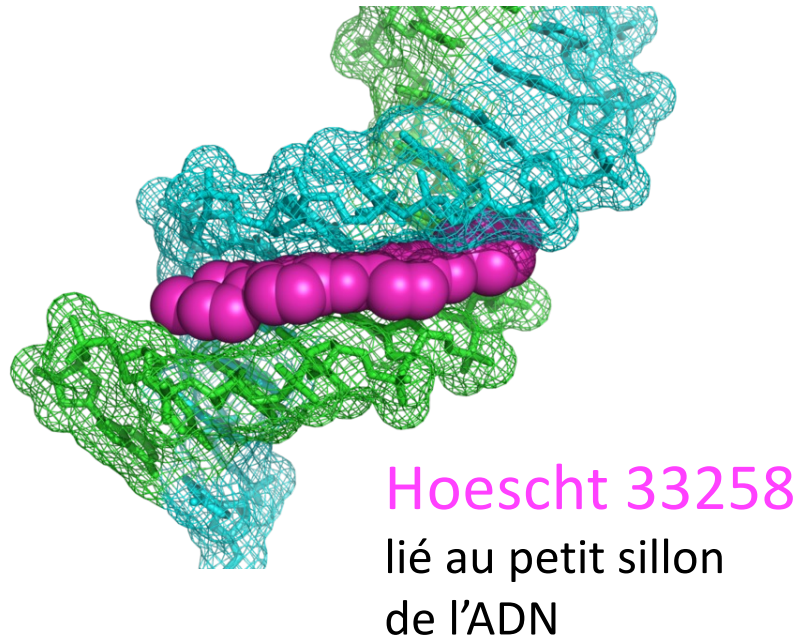
Analyse du contenu en ADN par cytométrie en flux

Utilisation d'un intercalant de l'ADN :
Bromure d'Ethidium
Iodure de Propidium
Hoescht 33258....

II.A. MÉTHODE BASEE SUR LE CONTENU EN ADN

Principe :

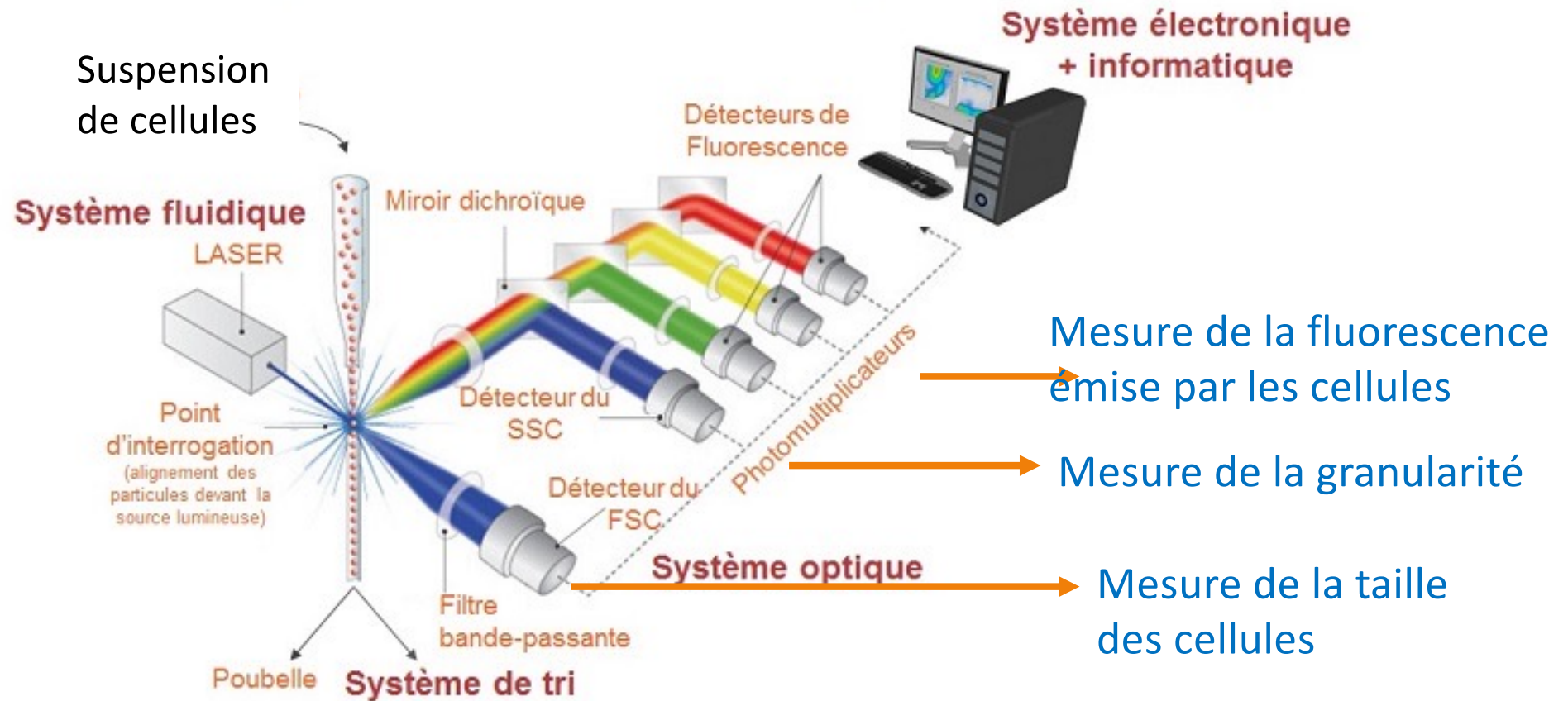
Marquage de l'ADN des cellules avec un composant fluorescent (Hoescht, DAPI)
Mesure de la fluorescence des cellules par **cytométrie en flux**



Cellules humaines (HeLa) marquées
au Hoescht 33258 observées en
microscopie photonique (superposition
de 2 images)

II.A. MÉTHODE BASEE SUR LE CONTENU EN ADN

Principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux



- Le cytomètre enregistre les caractéristiques de la cellule quand celle-ci passe devant le laser en mesurant:
 1. La diffusion de la lumière incidente (informations sur taille, granularité)
 2. L'émission de fluorescence

II.B. MÉTHODE BASEE SUR L'INCORPORATION D'UN ANALOGUE DE LA THYMIDINE PENDANT LA PHASE S

Ephitelium intestinal de zébrafish exposé au BrdU (bromodeoxyuridine). Détection avec un anticorps fluorescent anti BrdU

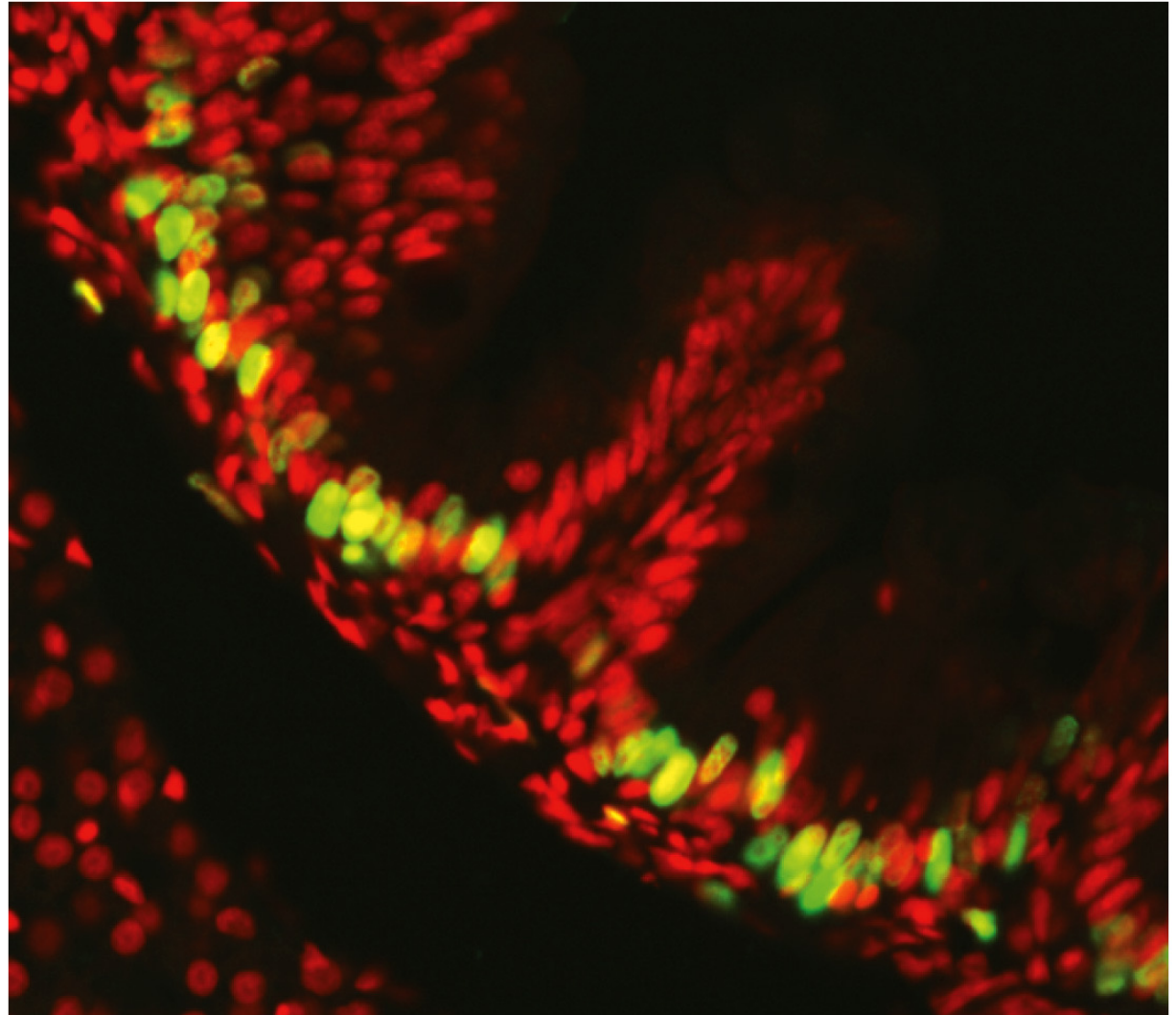
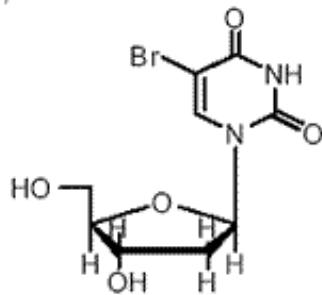
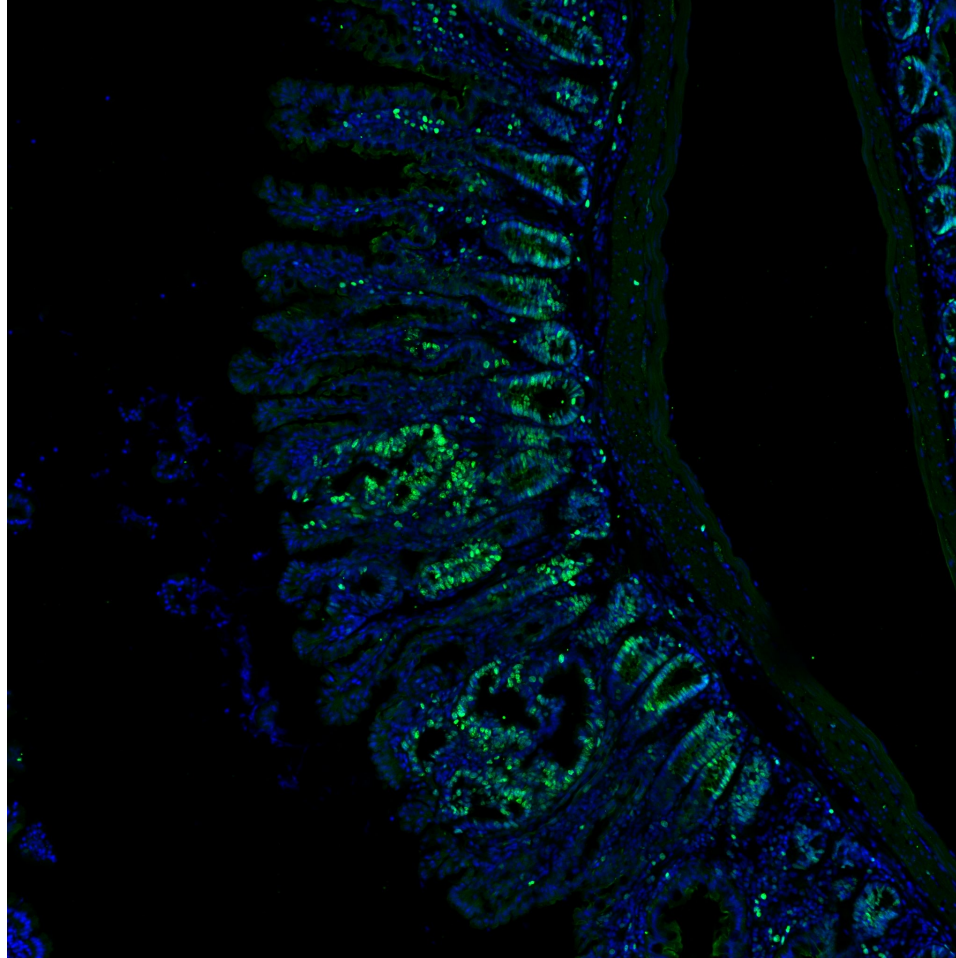


Figure 17-7 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

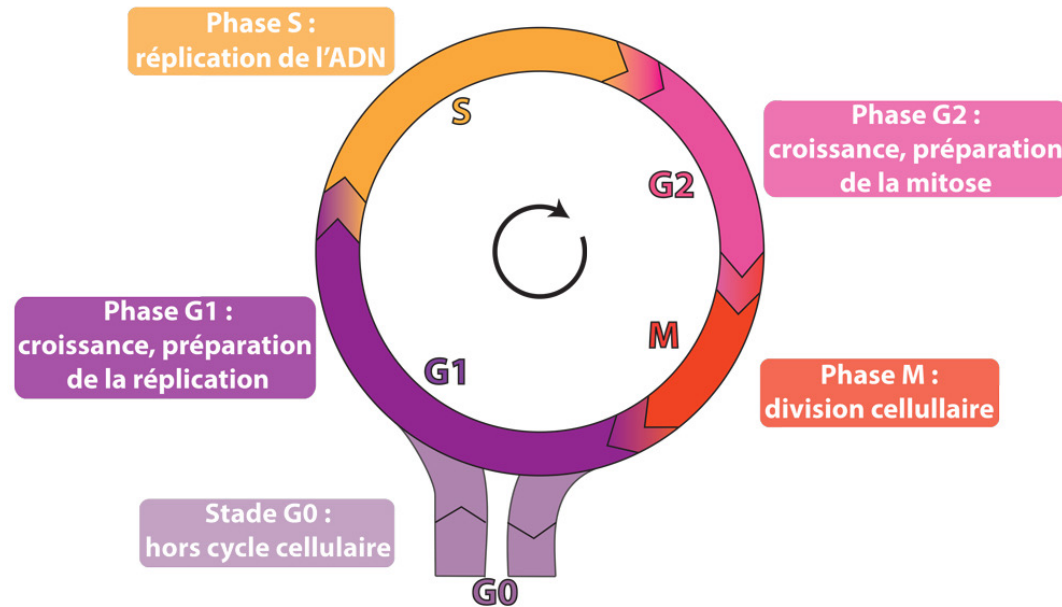
II.C. IMMUNOMARQUAGE KI67



Ki67 est exprimé dans toutes les phases actives du cycle (G1, S, G2 et M) mais est absent des cellules quiescentes (G0)

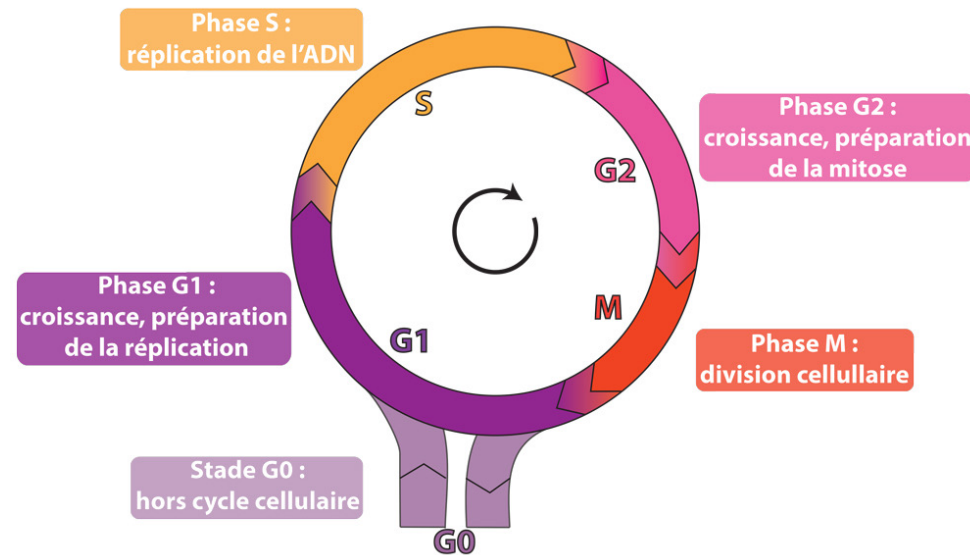
III-RÉGULATIONS DU CYCLE CELLULAIRE

Enjeux et caractéristiques du système de contrôle du cycle cellulaire



- Les différents processus essentiels du cycle cellulaire doivent s'enchaîner selon l'ordre correct.
- Chaque processus doit être terminé avant de commencer le suivant.
- Chaque évènement ne doit se déclencher qu'une fois par cycle
- Les différents évènements sont déclenchés de façon complète et irréversible

Point de restriction et points de contrôles



- **Point de restriction** (contrôle l'entrée en phase S)

- Environnement permissif ou non pour le cycle cellulaire (ex: présence ou non de facteurs de croissance; absence de dommages de l'ADN)

-**Point de contrôle d'entrée en phase G2**

- ADN répliqué (une seule fois)

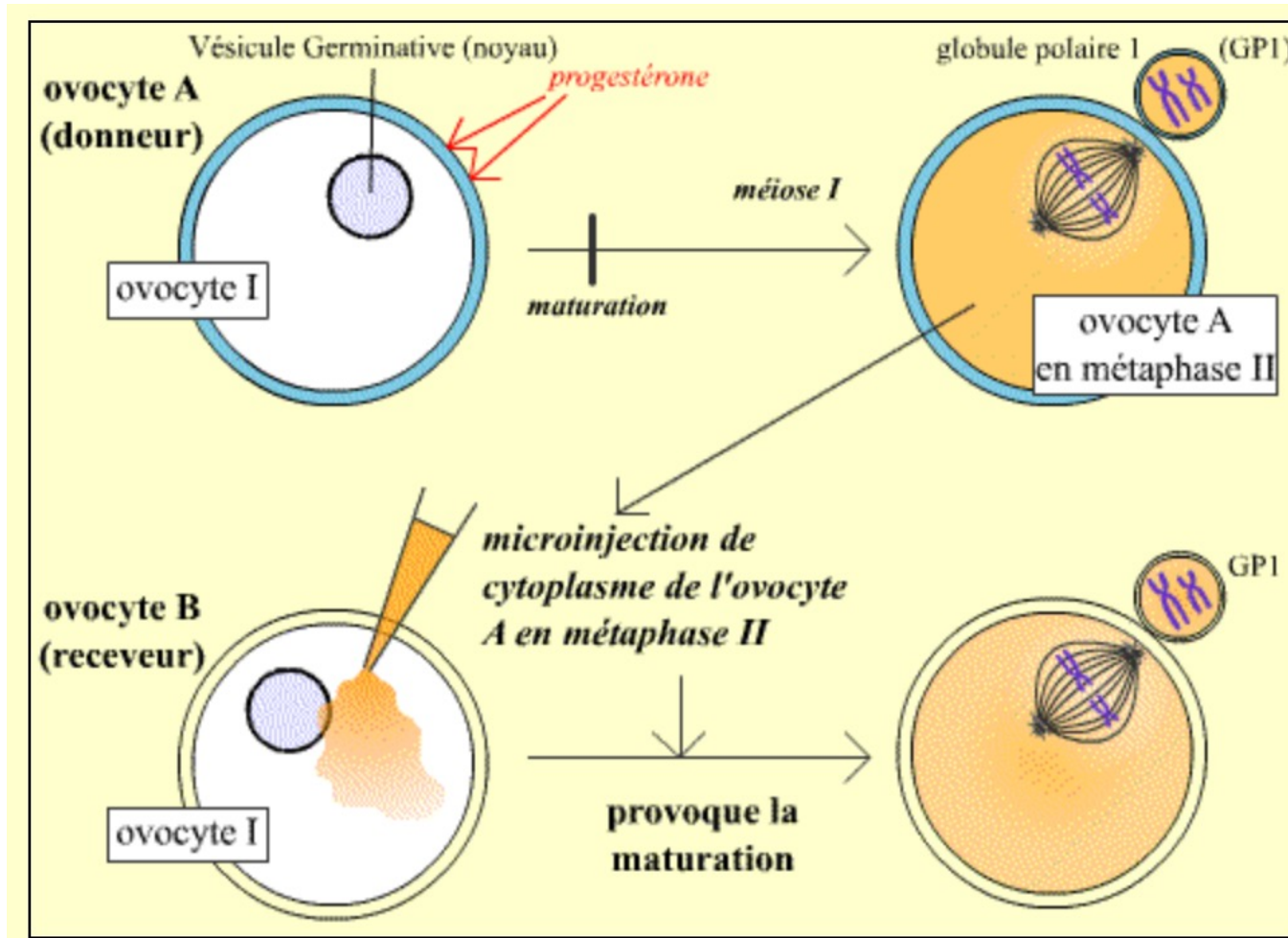
-**Point de contrôle en phase M (transition métaphase/anaphase)**

- Alignement des chromosomes en plaque métaphasique

A retenir !

IIIA-HISTORIQUE

Travaux de *Yoshio Masui* (1969-1971) chez le Xénope

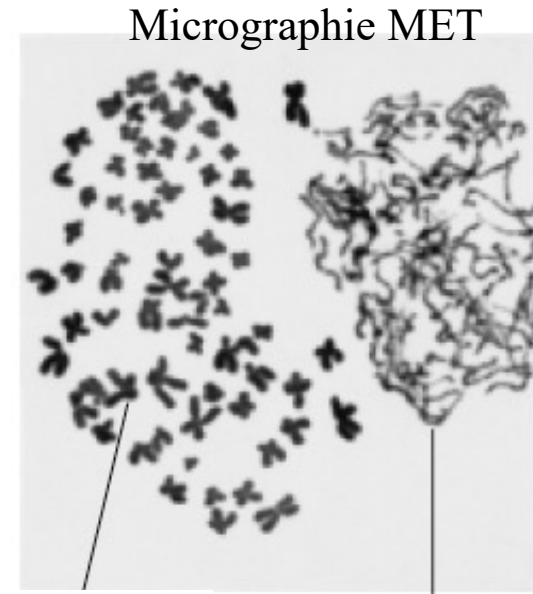
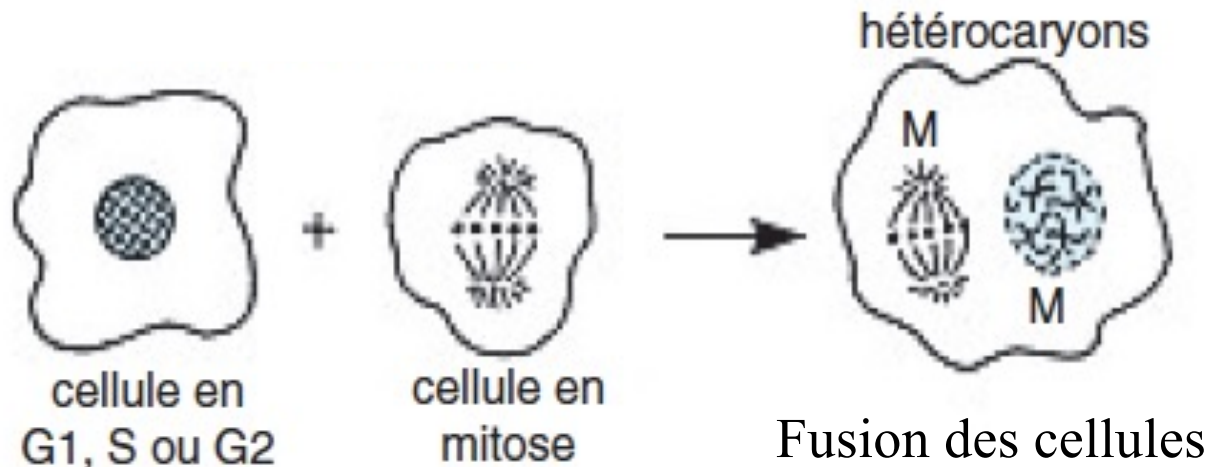


Un composé appelé MPF (Meiosis Promoting Factor) présent dans le cytoplasme de l'ovocyte bloqué en métaphase II est suffisant pour induire le passage en méiose!

IIIA-HISTORIQUE

Expérience de fusion de cellules humaines dans les différentes phases du cycle

Rao et Johnson 1970



Chromosomes mitotique

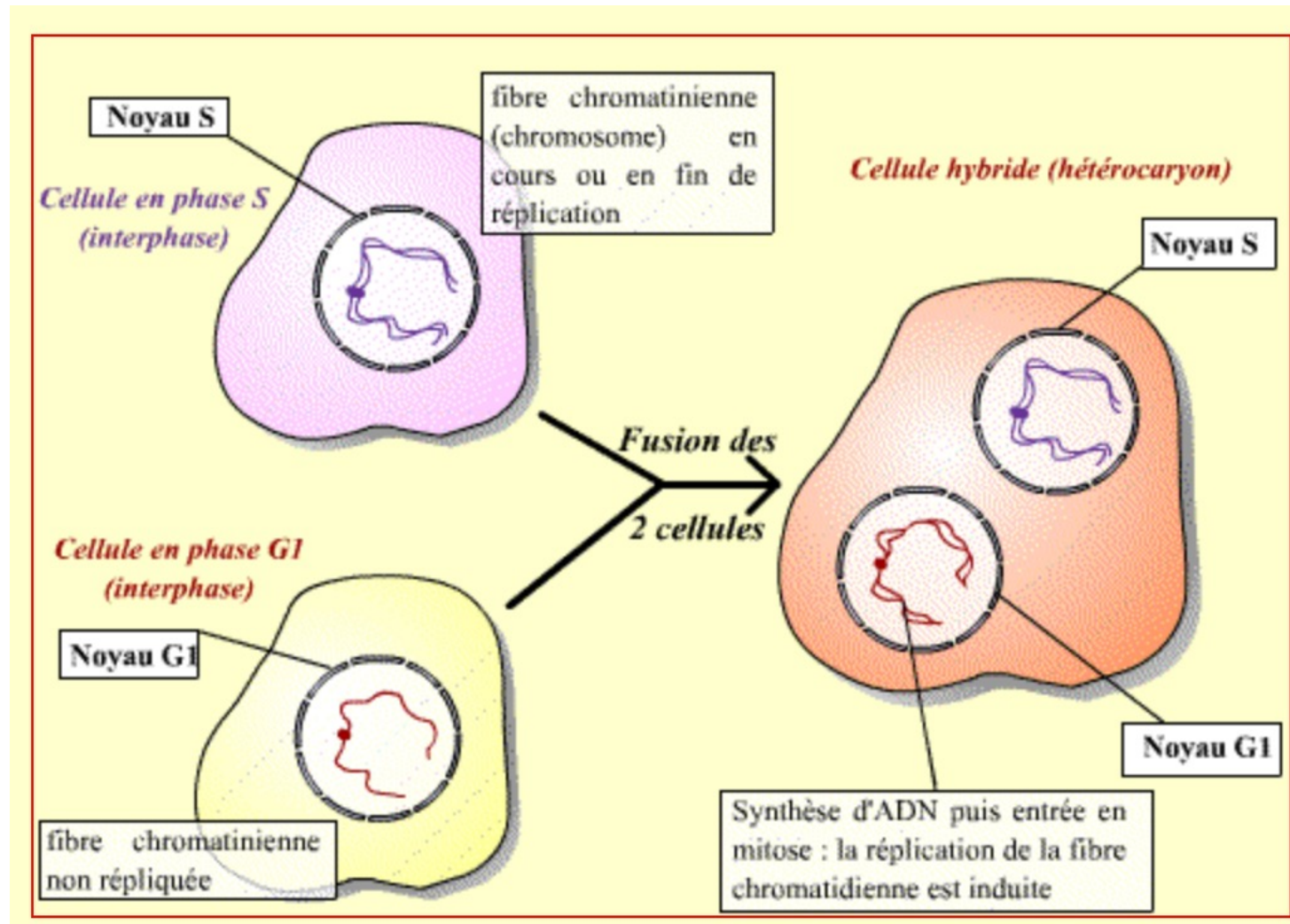
Condensation des chromosomes de la cellule en G1 suite à la fusion

➤ **Facteurs dans les cellules en phase M qui déclenche l'entrée en mitose**

- **Condensation prématurée des chromosomes**
- **Disparition de l'enveloppe nucléaire**

IIIA-HISTORIQUE

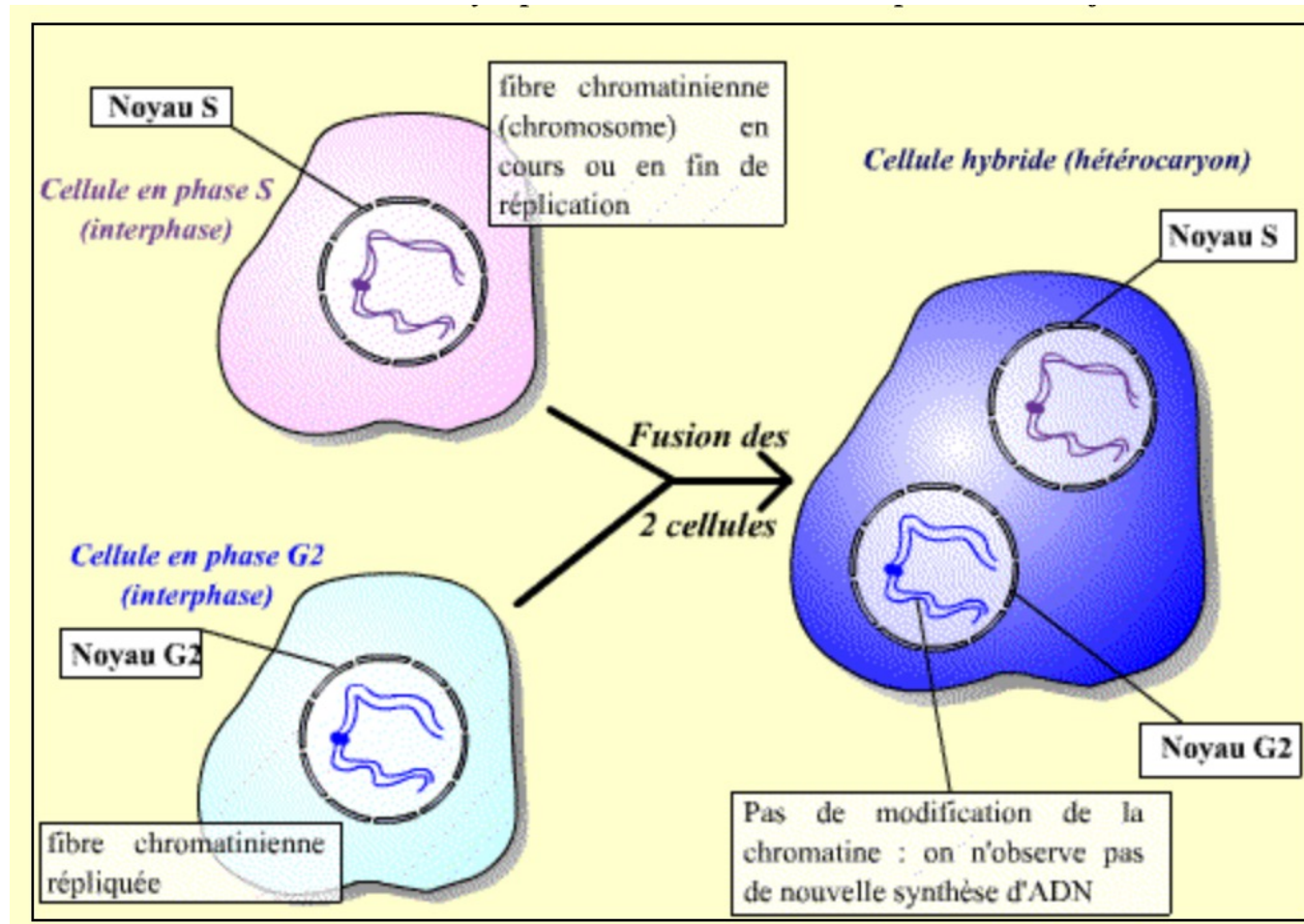
Expérience de fusion de cellules humaines dans les différentes phases du cycle
Rao et Johnson 1970



Un facteur contenu dans le cytoplasme de la cellule en phase S peut induire la synthèse d'ADN d'une cellule en G1

IIIA-HISTORIQUE

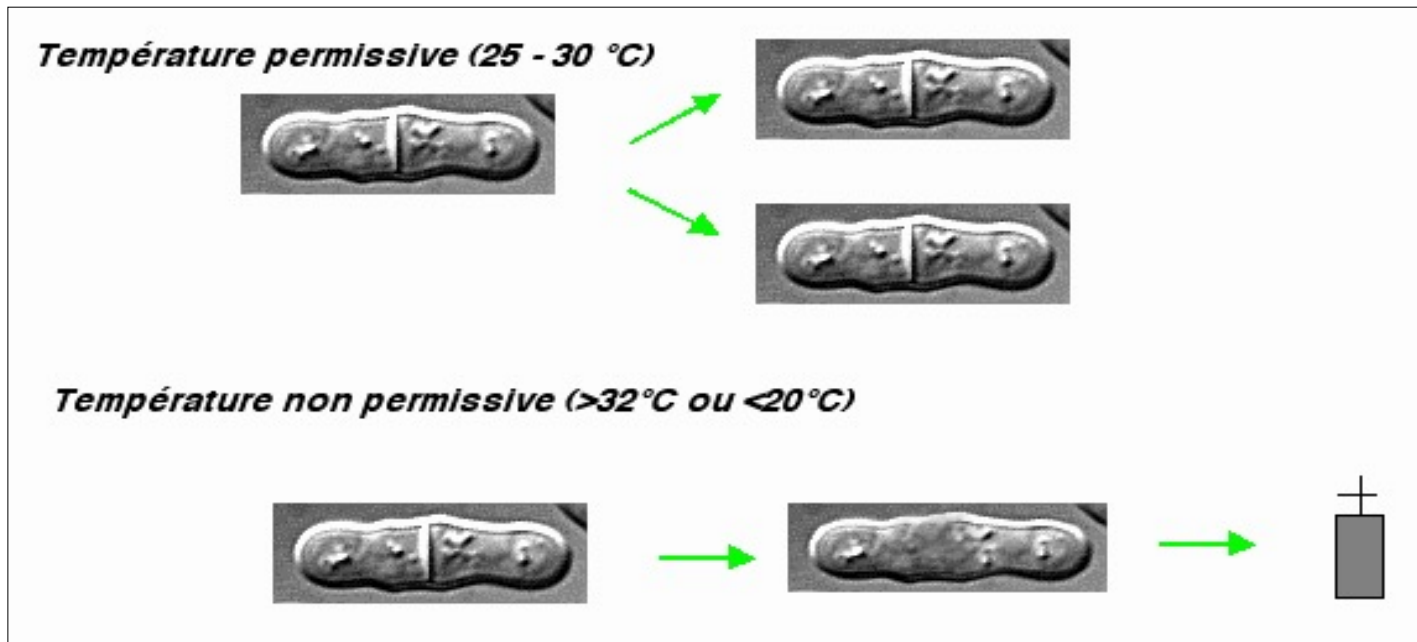
Expérience de fusion de cellules humaines dans les différentes phases du cycle
Rao et Johnson 1970



Ce facteur pouvant induire la synthèse d'ADN n'agit pas sur les fibres chromatiniennes déjà répliquées. Il existe donc un mécanisme qui bloque toute nouvelle répllication tant que la mitose n'a pas eu lieu!

IIIA-HISTORIQUE

Mise en évidence de mutants du cycle chez des levures



Leland H Hartwell
for the checkpoints



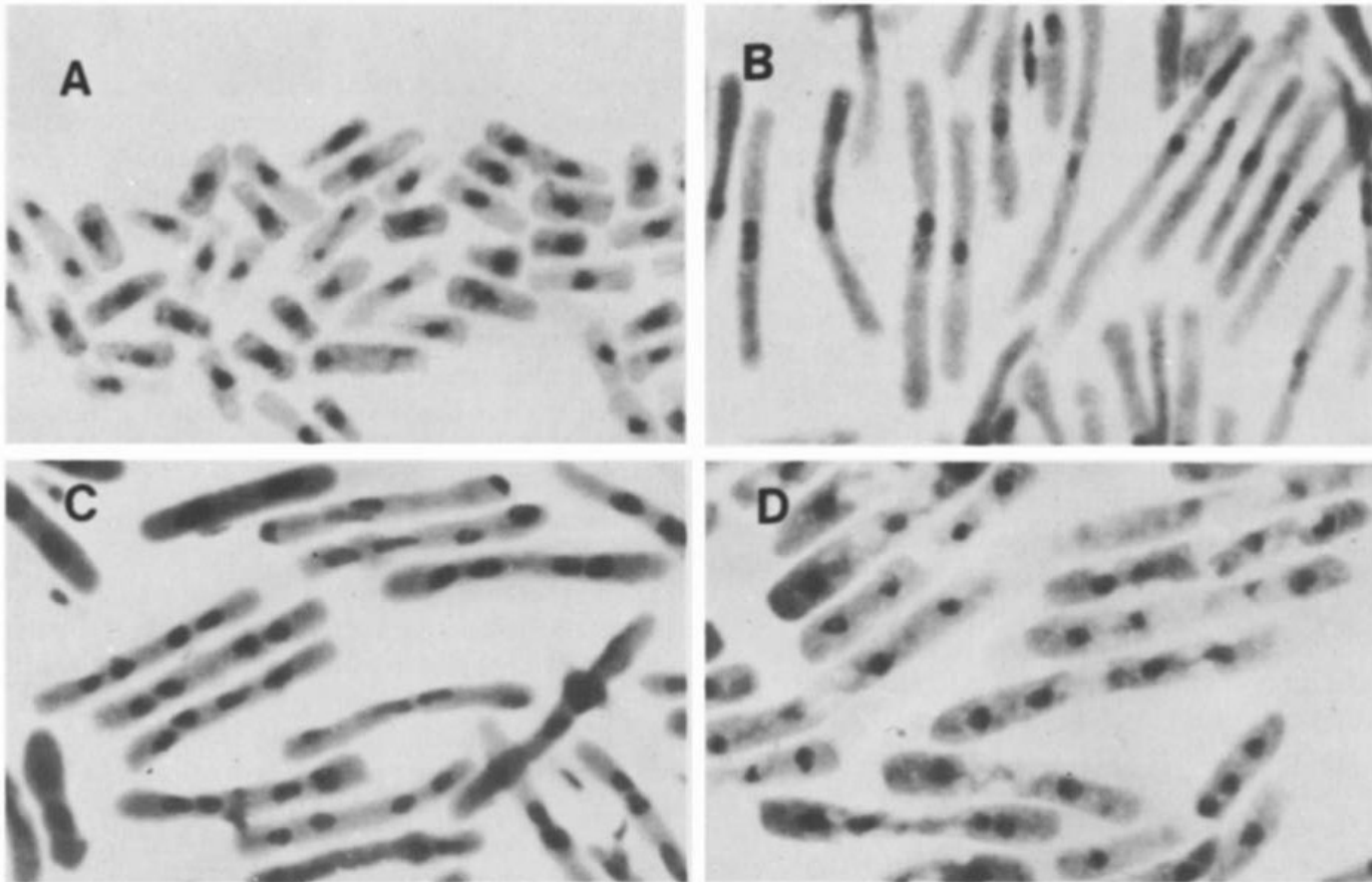
Sir Paul Nurse
for the cdk's

Prix Nobel de
Médecine 2002

Mutants themosensibles de *Shizosaccharomyces pombe*

IIIA-HISTORIQUE

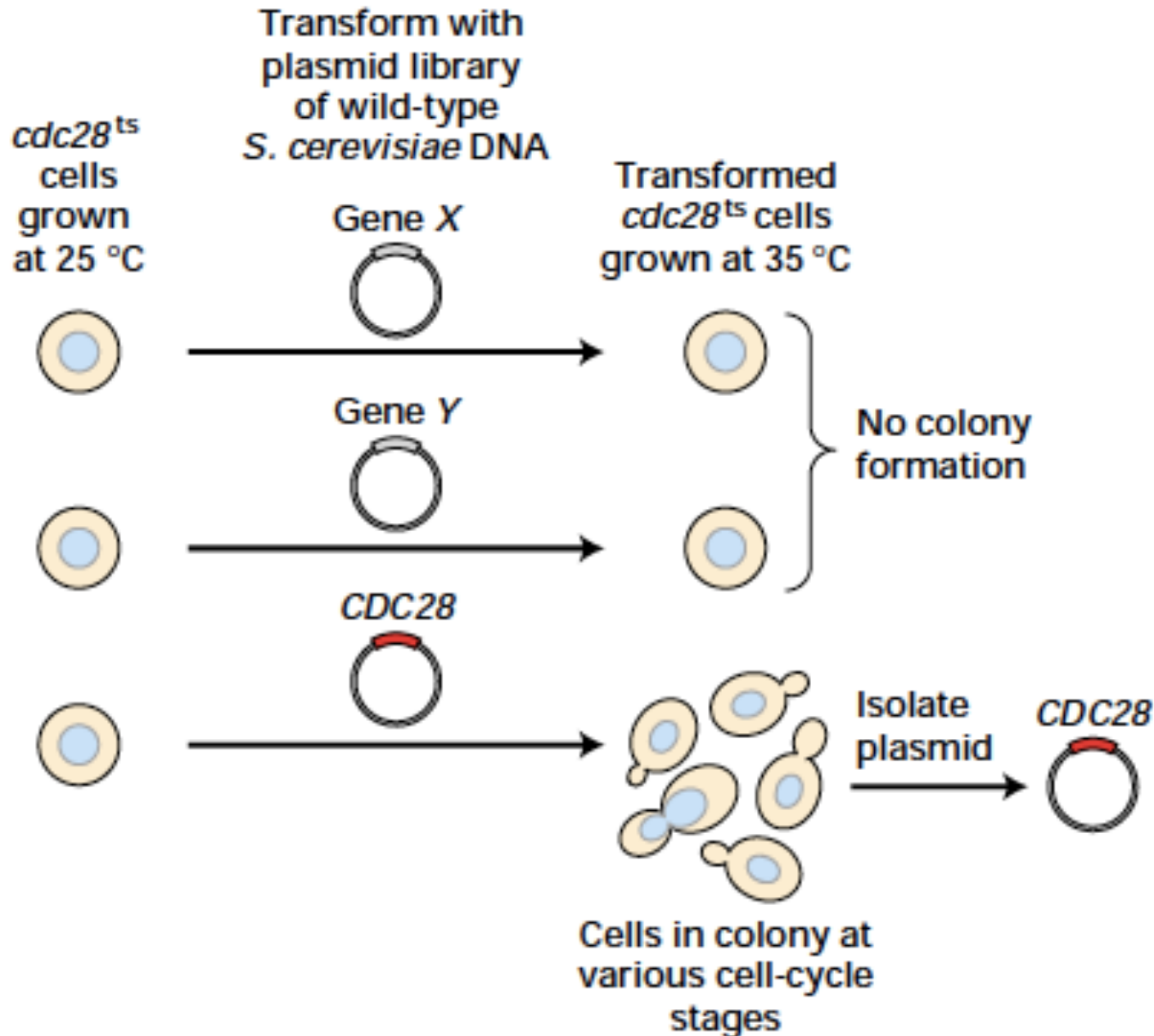
Mise en évidence de mutants du cycle chez des levures



- **Découverte des mutants du cycle (cdc pour cell division control)**

IIIA-HISTORIQUE

Détermination de la séquence des gènes CDC



Principe de la méthode pour le mutant de *Saccharomyces cerevisiae cdc28^{ts}* (*cdc2^{ts}* chez *S.pombe*)

IIIA-HISTORIQUE

Identification du MPF : 2 protéines

Protéine Cdc2 kinase homologue à la protéine de 34kDa du MPF=CDK1

Découverte de la cycline B chez l'oursin

Cycline B= protéine de 45KDa du MPF de Xénope

MPF = CDK1/Cycline B contrôle l'entrée en phase M



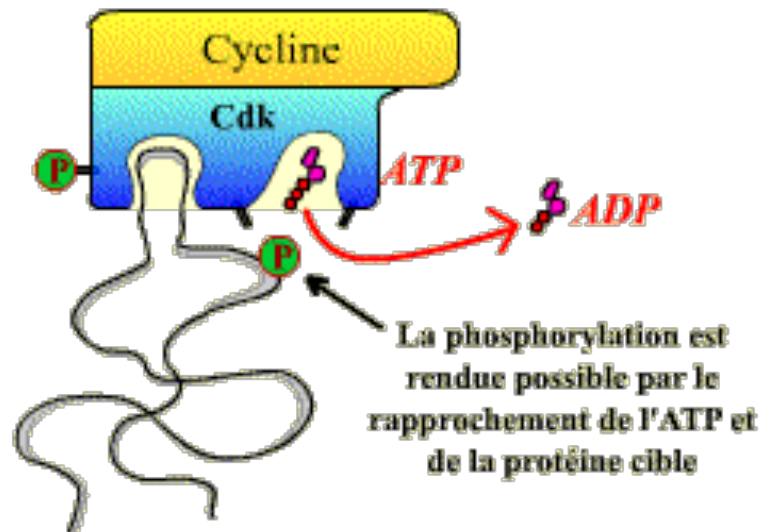
*Sir Tim Hunt
for the cyclins*

Prix Nobel de
Médecine 2002

IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

Une protéine **cycline** + une **kinase cycline-dépendante : CdK** (rappel).
CdK est une sérine-thréonine kinase qui n'est active qu'associée à la cycline

mode d'action simplifié des Cycline / Cdk



Association avec la cycline



Changement de conformation au niveau de CdK

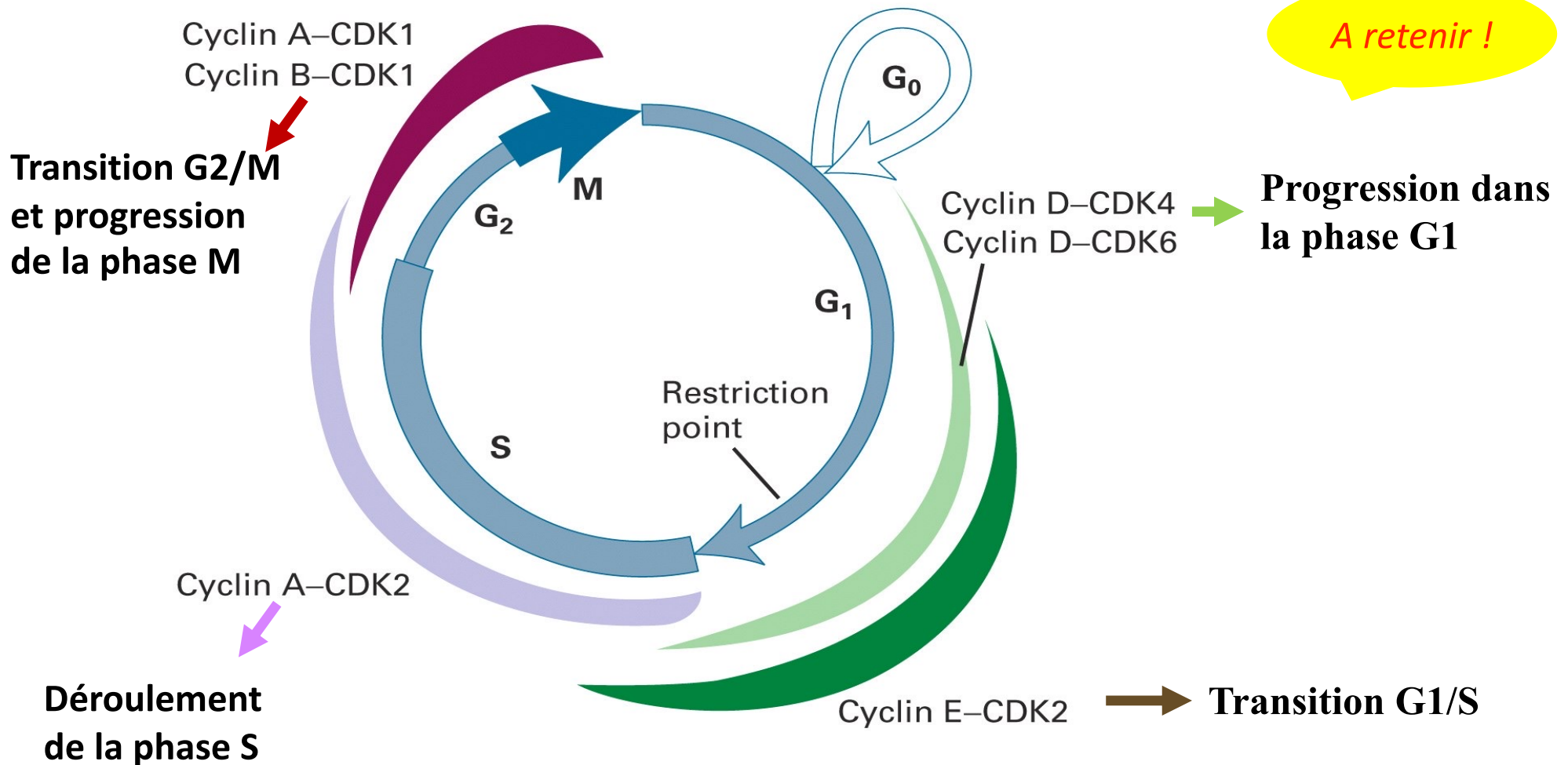


Fixation du substrat possible

A retenir !

IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

Les différents couples Cycline-Cdk dans les cellules de mammifères

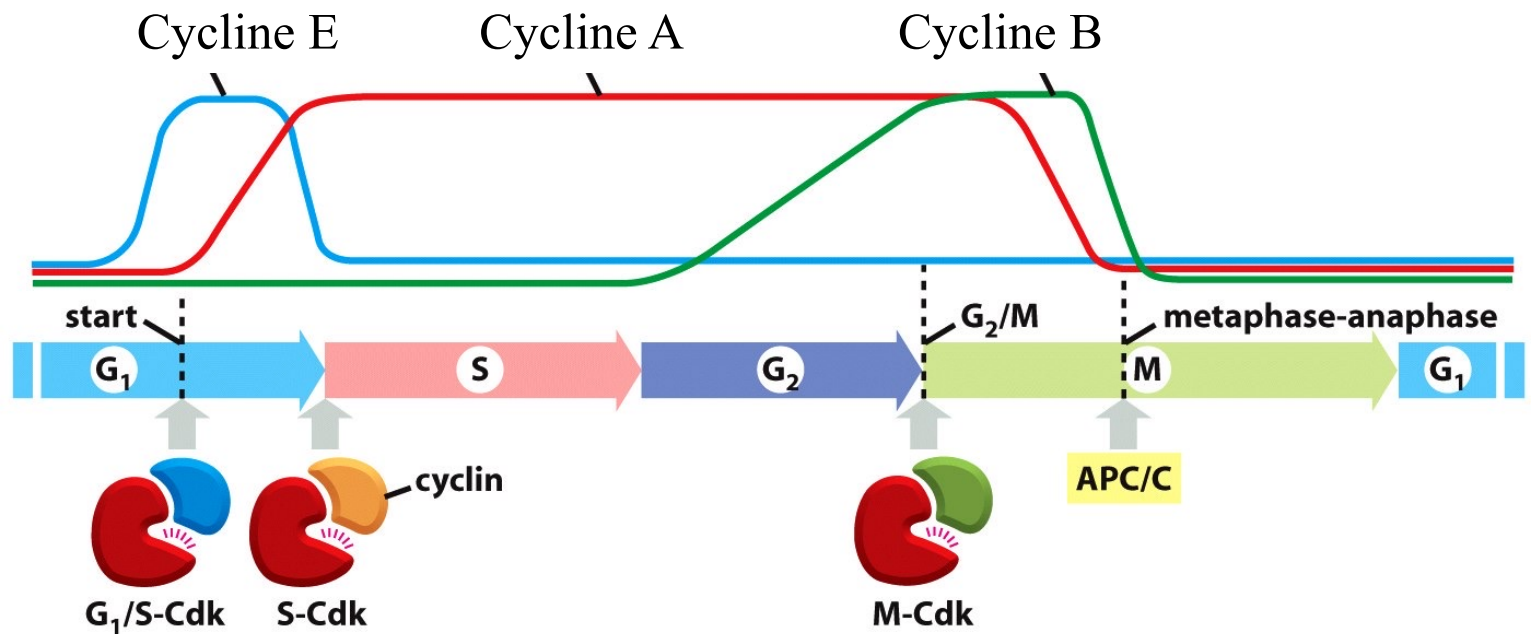


IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

Contrôle de l'activité des couples Cycline-Cdk

I. Par synthèse /dégradation des cyclines

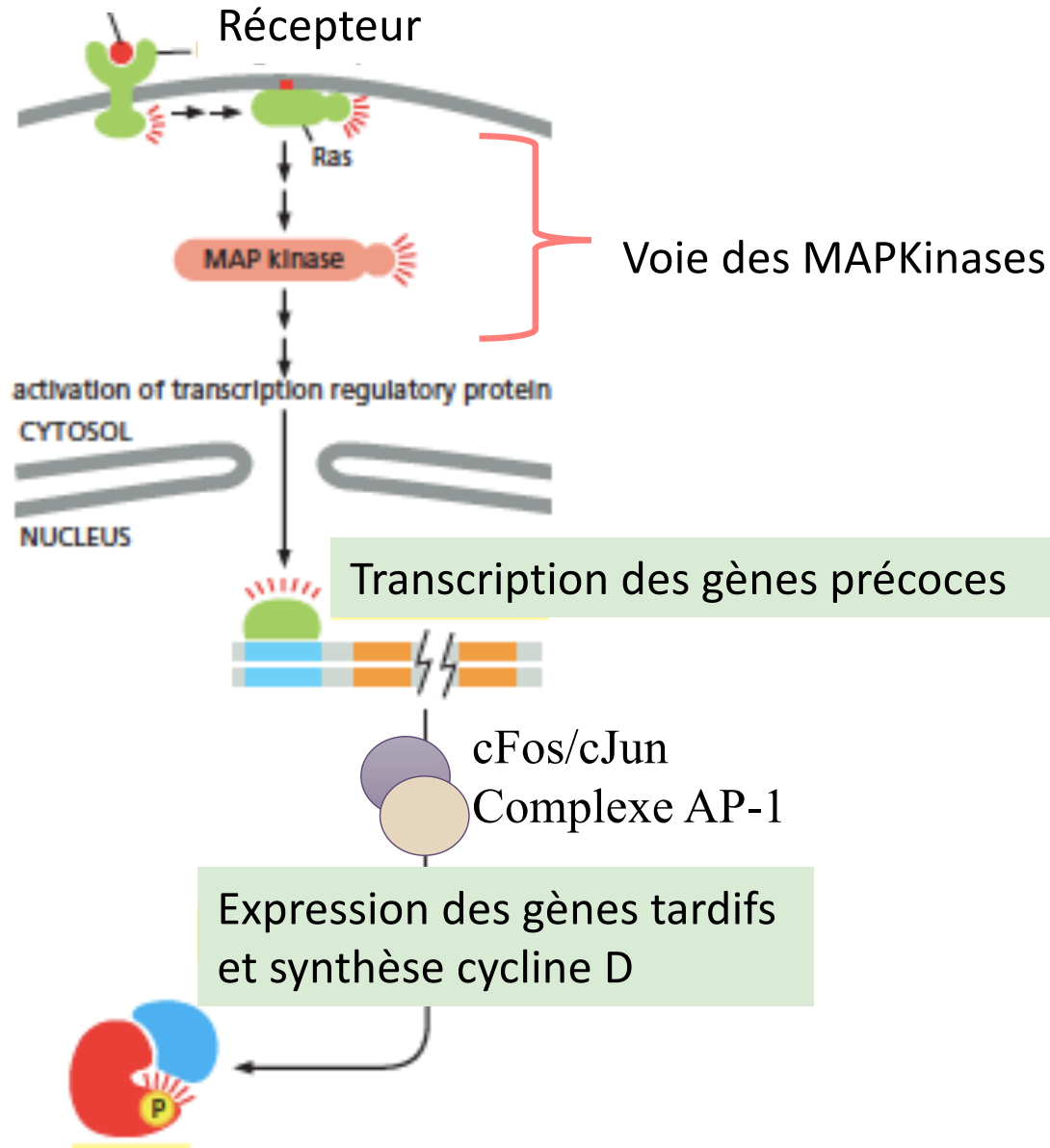
Fluctuation
des taux de cyclines
au cours du cycle



IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

❖ Ex: Régulation de l'expression des Cyclines D par les facteurs de croissance

Facteur de croissance



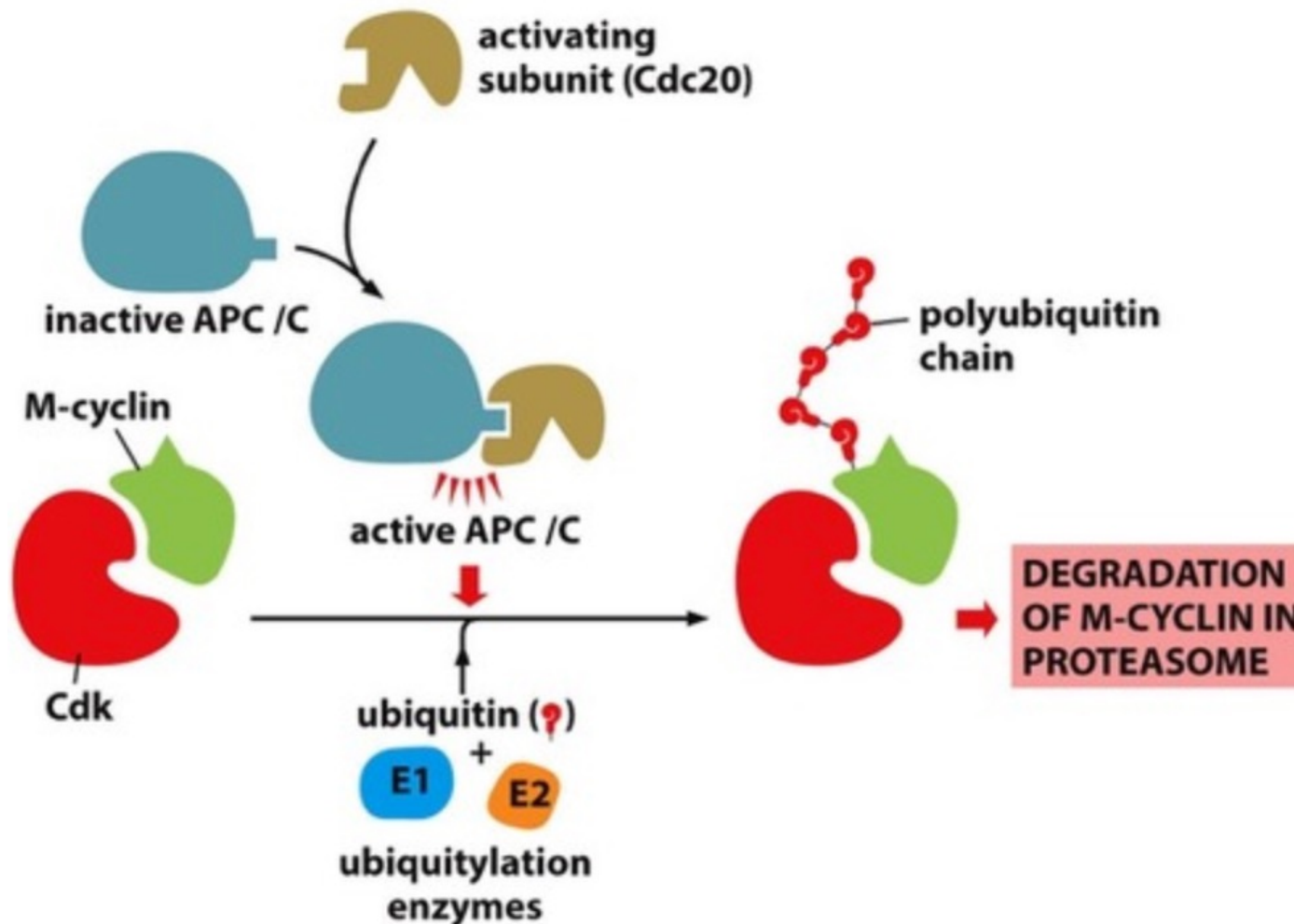
A retenir !

IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

❖ Dégradation de la cycline B par le complexe APC/C

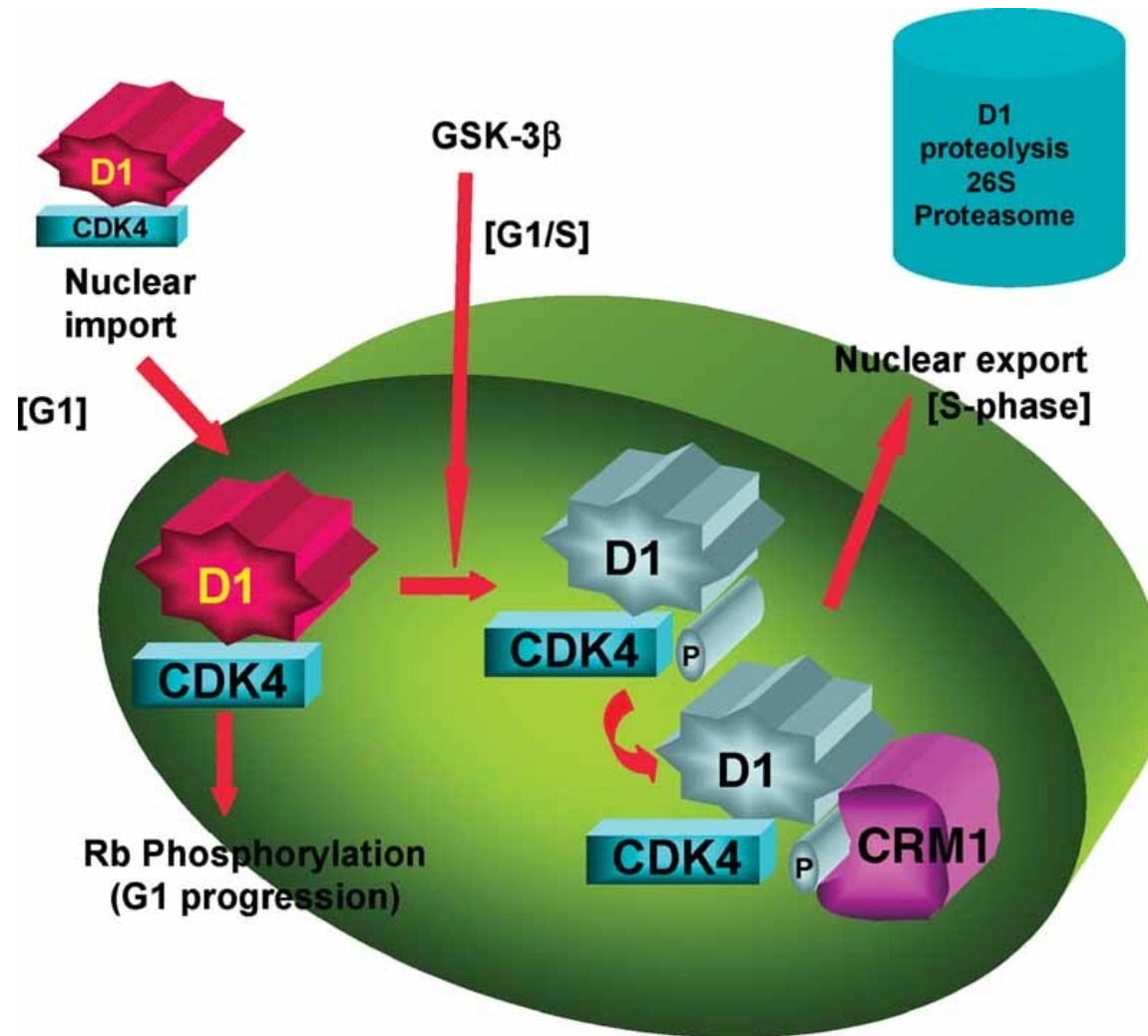
A retenir !

control of proteolysis by APC / C (Anaphase Promoting Complex / Cyclosome)



IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

❖ Ex: Régulation de de la localisation subcellulaire de la cycline D1



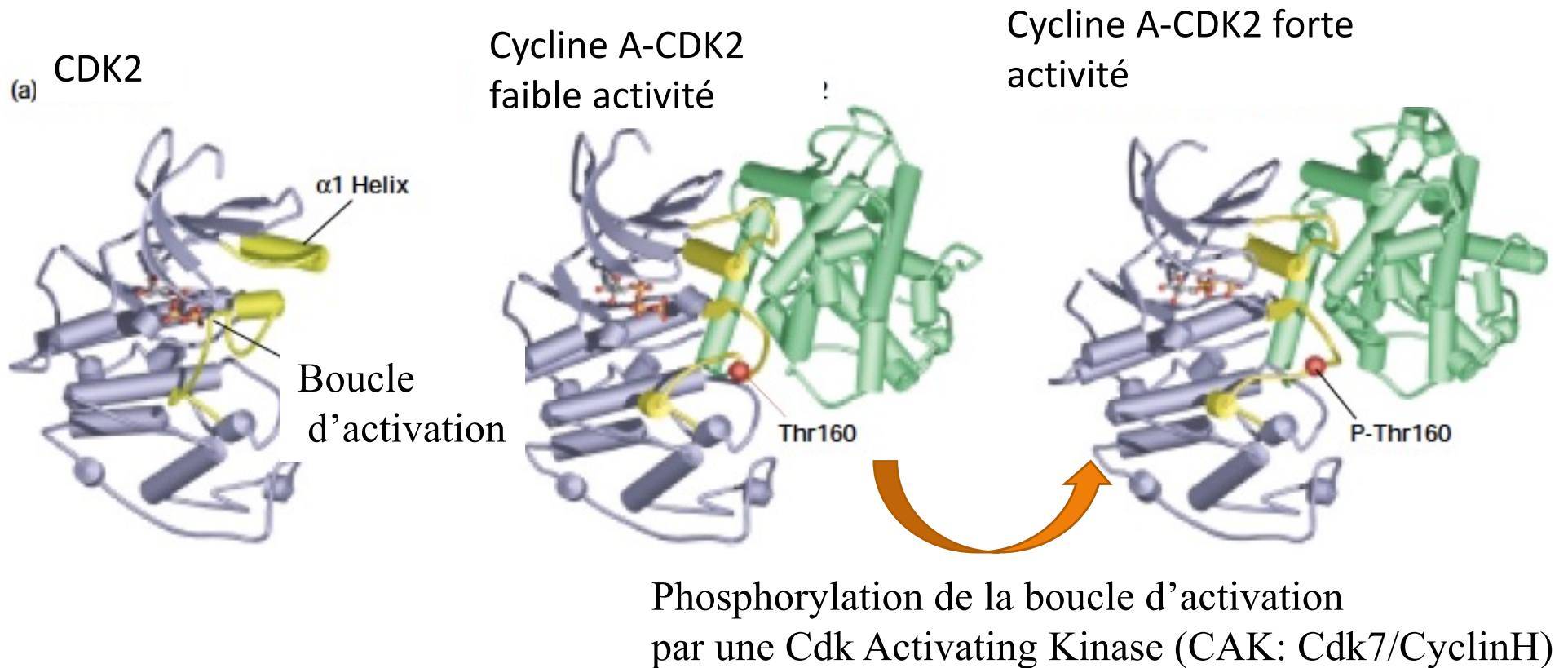
CRM1 = Exportin 1

IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

Contrôle de l'activité des complexes Cycline-CDK

A retenir !

II. Par phosphorylation/déphosphorylation des CDK



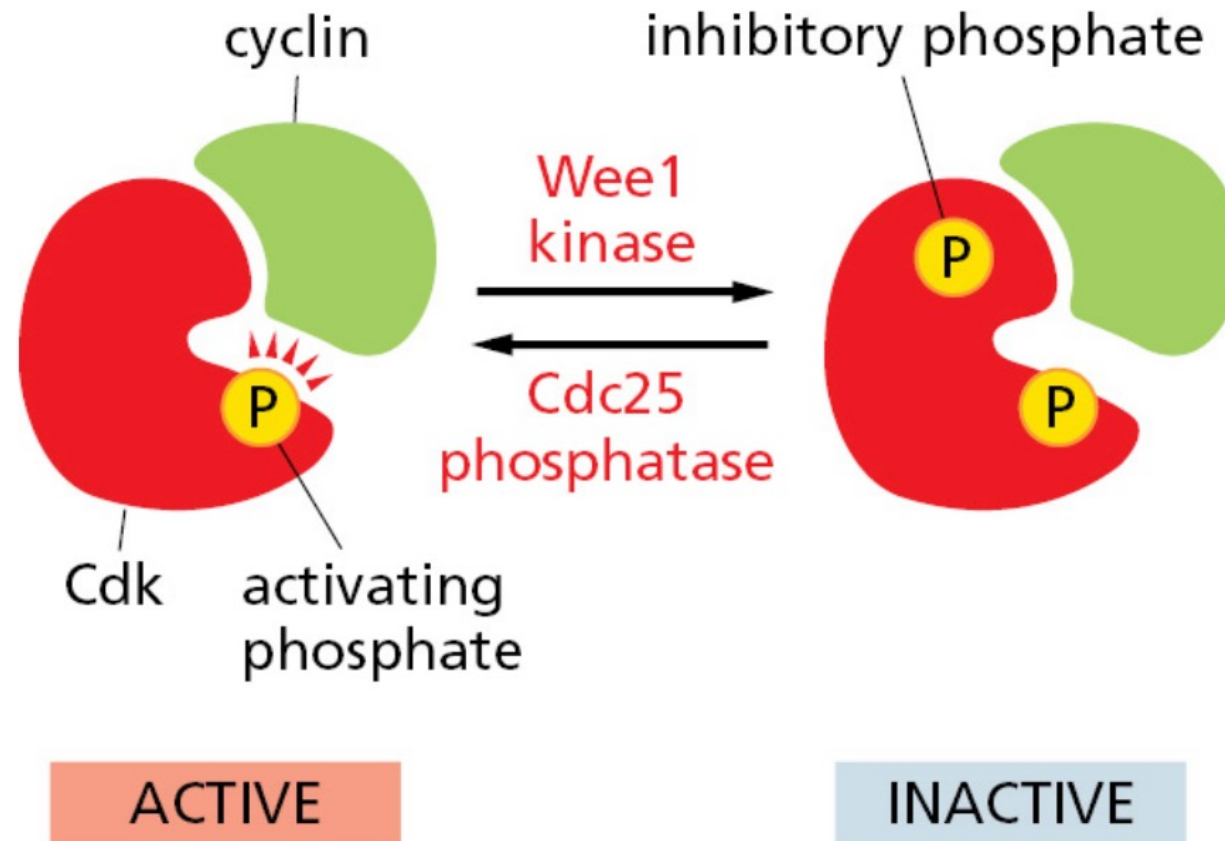
Pour certains complexes Cycline-CDK : contrôles additionnels cf partie IID

IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

Contrôle de l'activité des complexes Cycline-CDK

II. Par phosphorylation/déphosphorylation des CDK

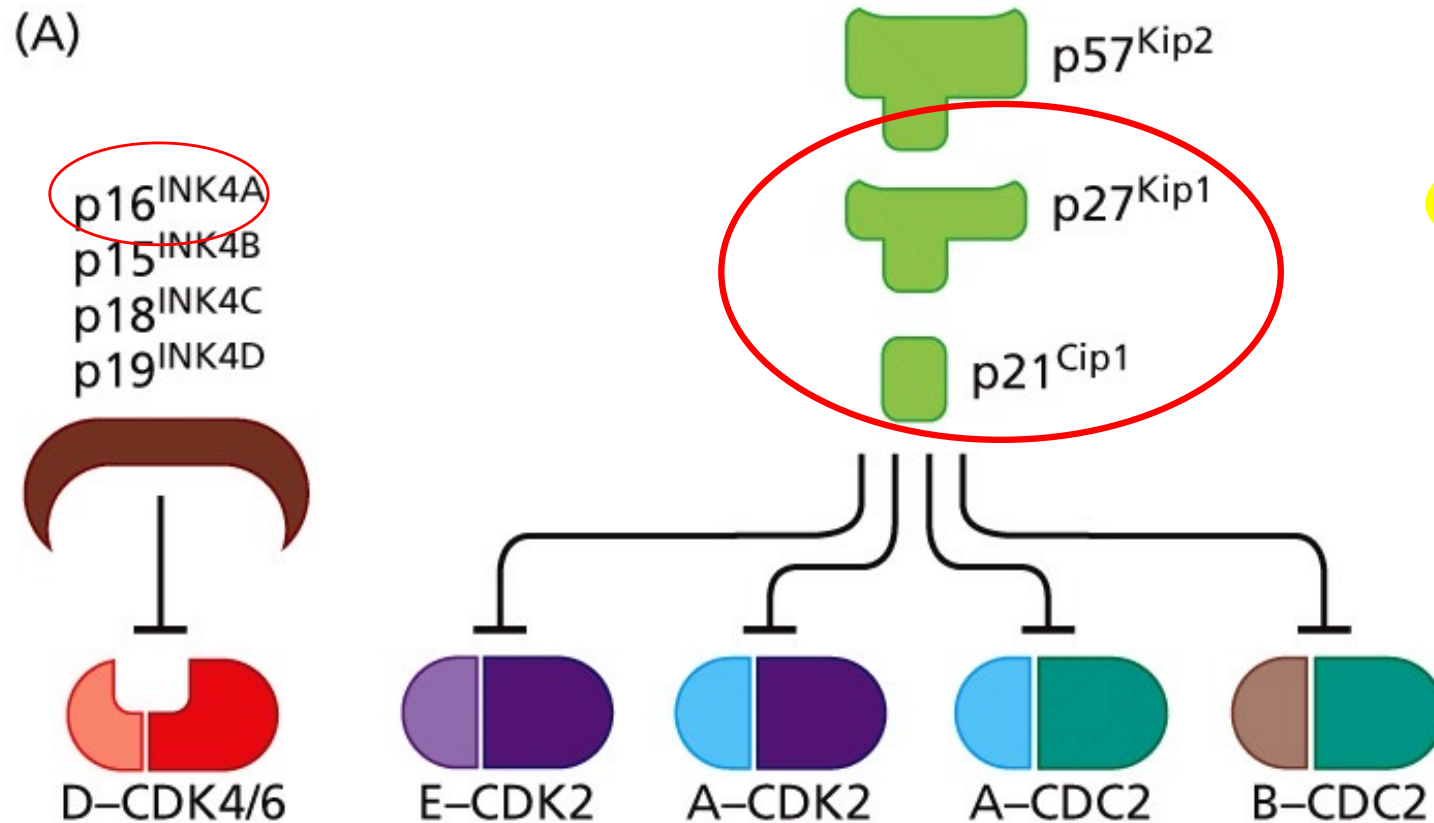
A retenir !



IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

Contrôle de l'activité des couples Cycline-CDK

III Par de petites molécules inhibitrices qui s'associent au complexe Cycline/CDK : inhibiteur de CDK ou CDKi

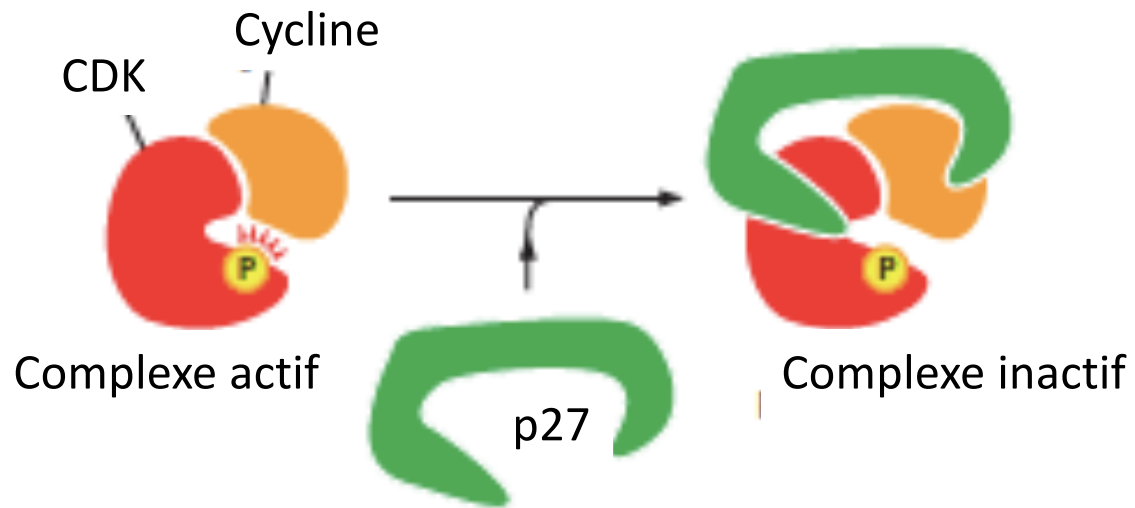


A retenir !

IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

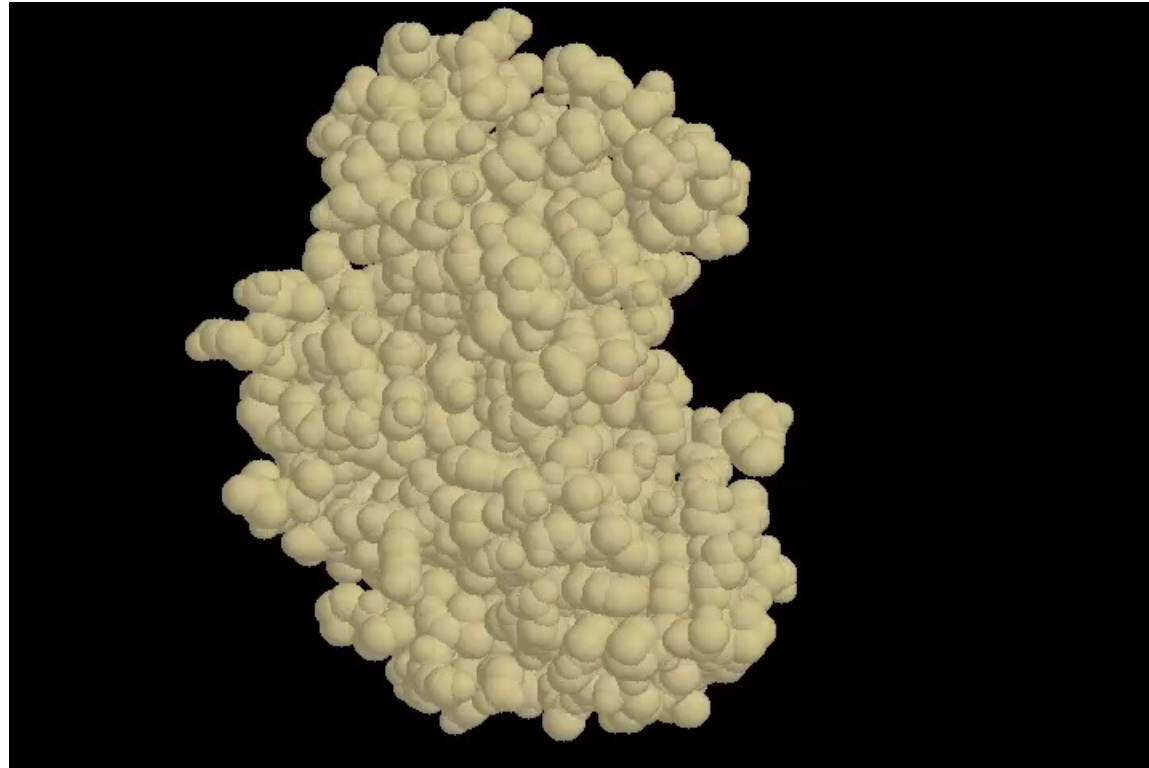
Contrôle de l'activité des couples Cycline-CDK

III Par de petites molécules inhibitrices qui s'associent au complexe Cycline/CDK : inhibiteur de CDK ou CDKi



IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

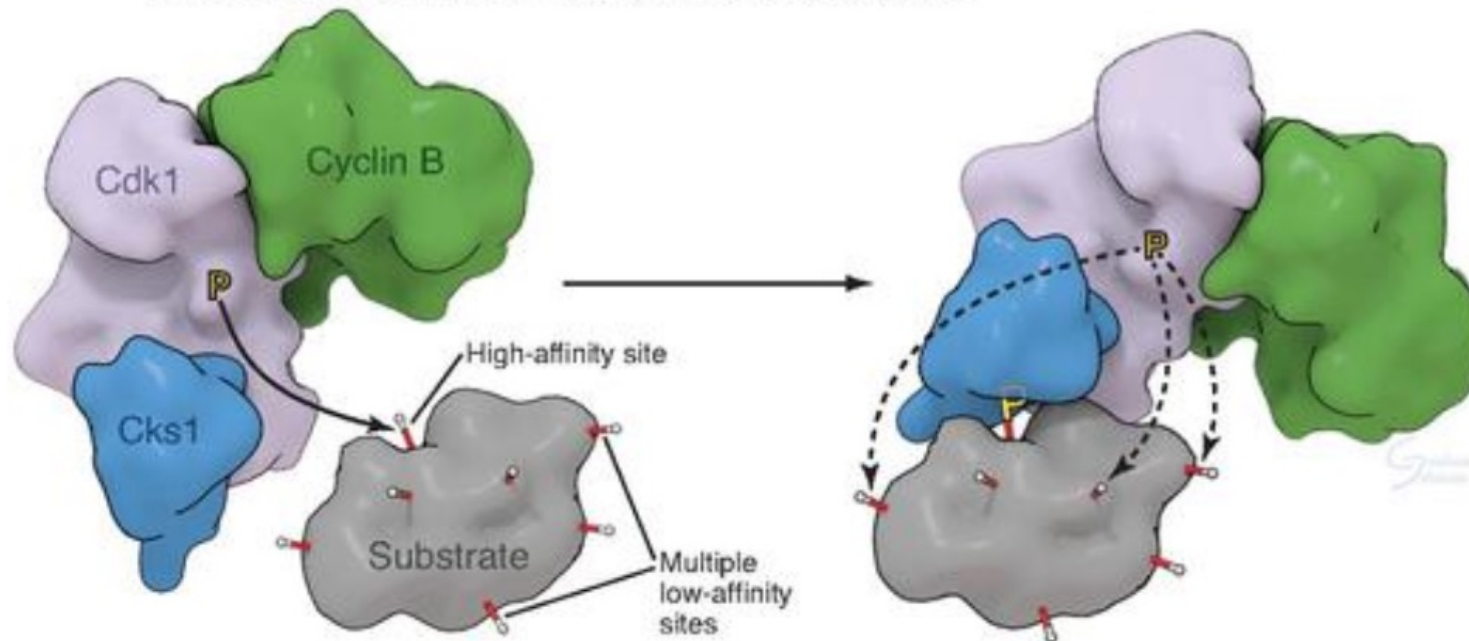
Vidéo résumé sur l'aspect structural



IIIB- LES COMPLEXES CYCLINE/CDK

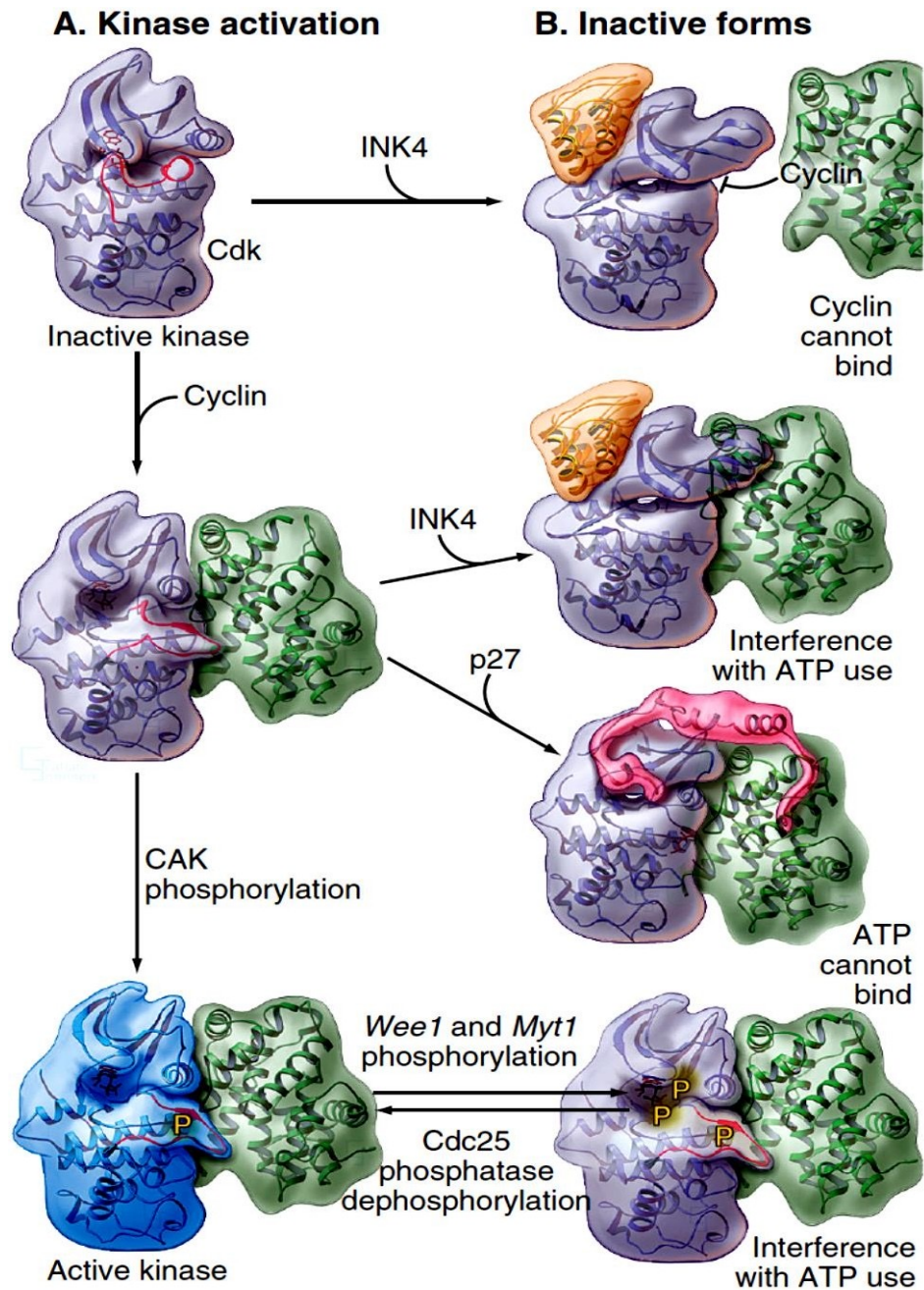
III Par de petites molécules qui s'associent au complexe Cycline/CDK et qui jouent le rôle de « phosphoadaptateur »

E. Cks1 is a phosphoadaptor subunit involved in CDK1 interactions with cell substrates

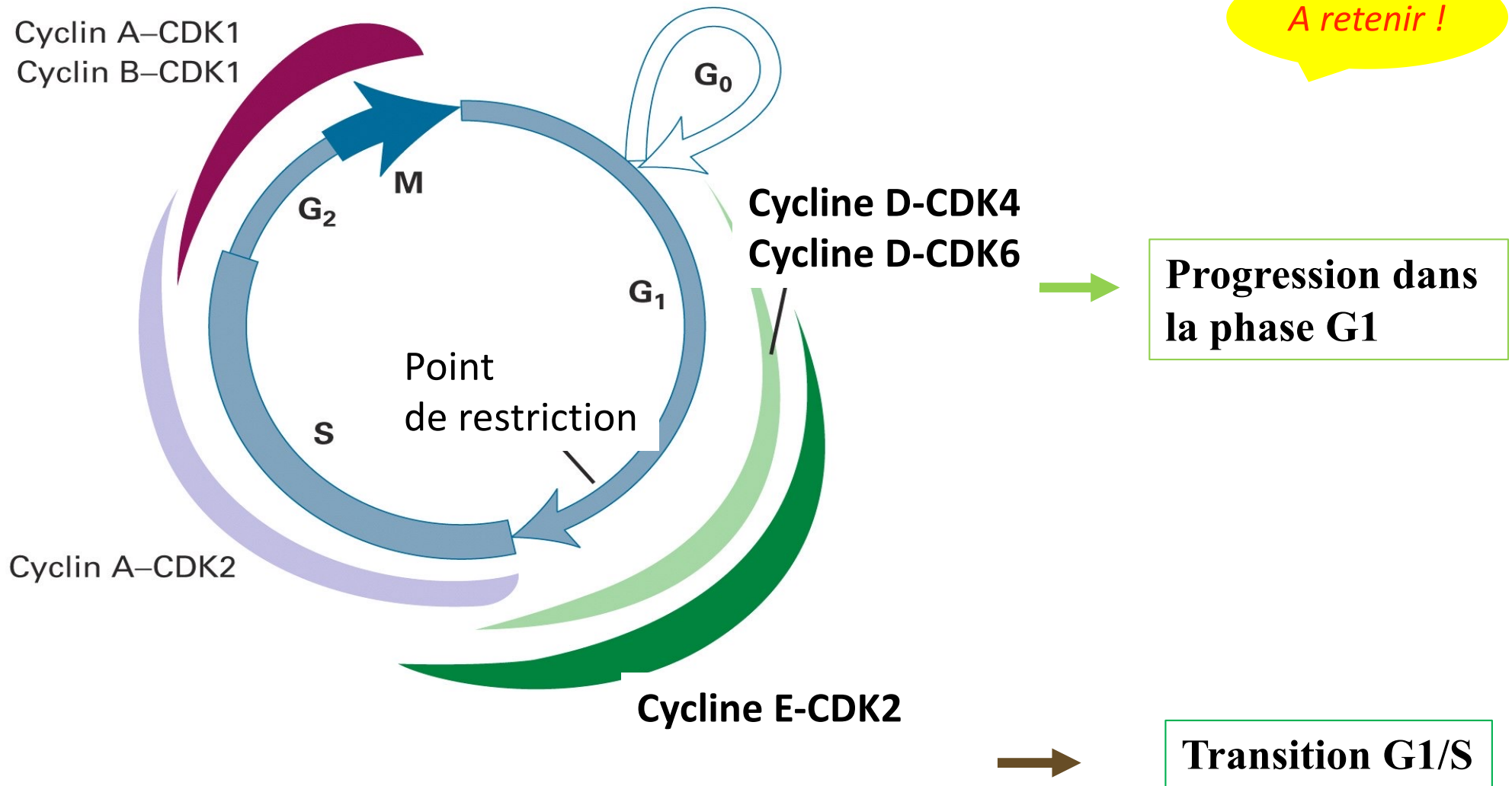


A retenir !

IIIB- CONTRÔLE DE L'ACTIVITÉ DES COMPLEXES CYCLINE/CDK

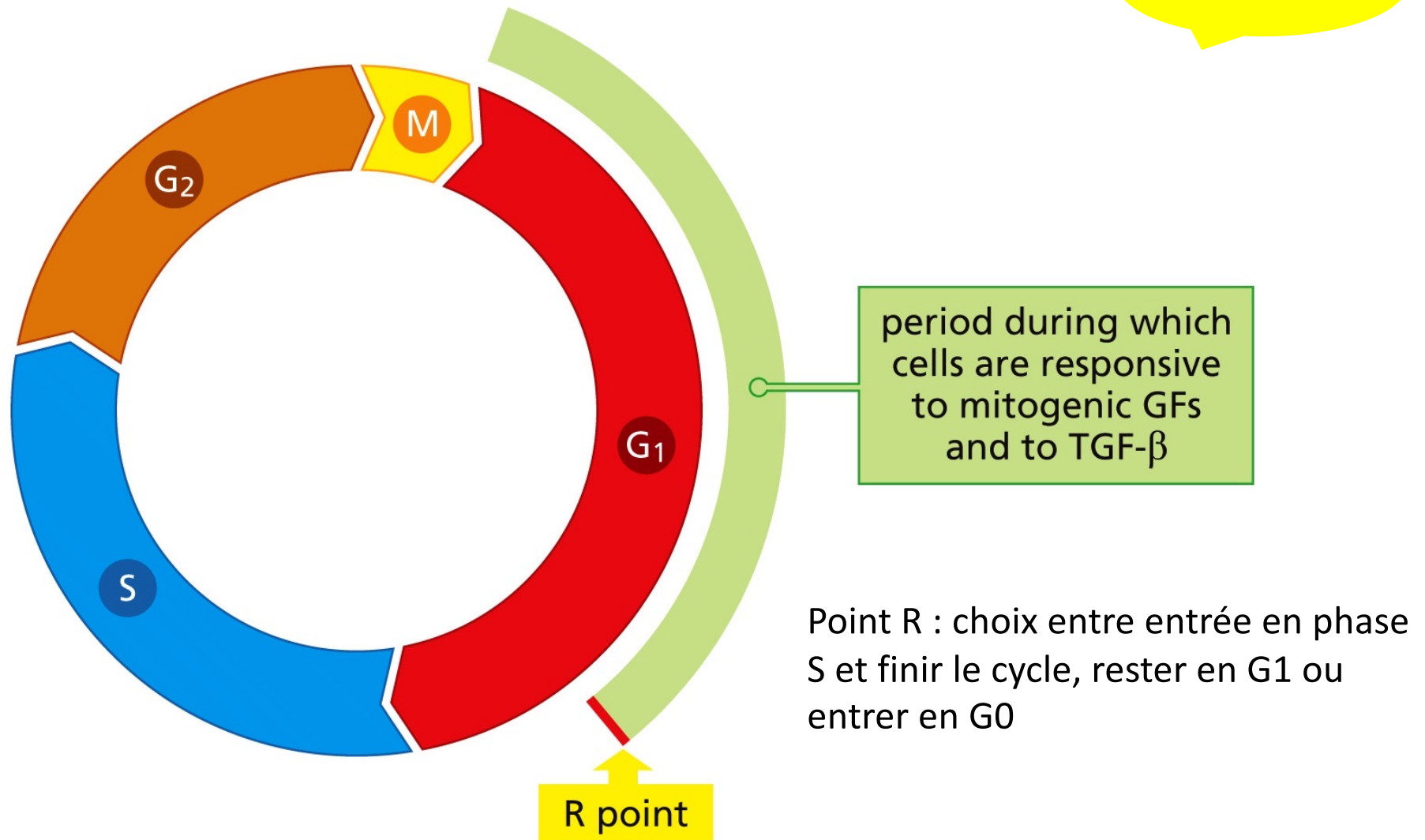


IIIC- PROGRESSION EN G1 ET TRANSITION G1/S



III.C- LE POINT DE RESTRICTION

A retenir !



Point R : choix entre entrée en phase S et finir le cycle, rester en G₁ ou entrer en G₀

III.C- LE POINT DE RESTRICTION

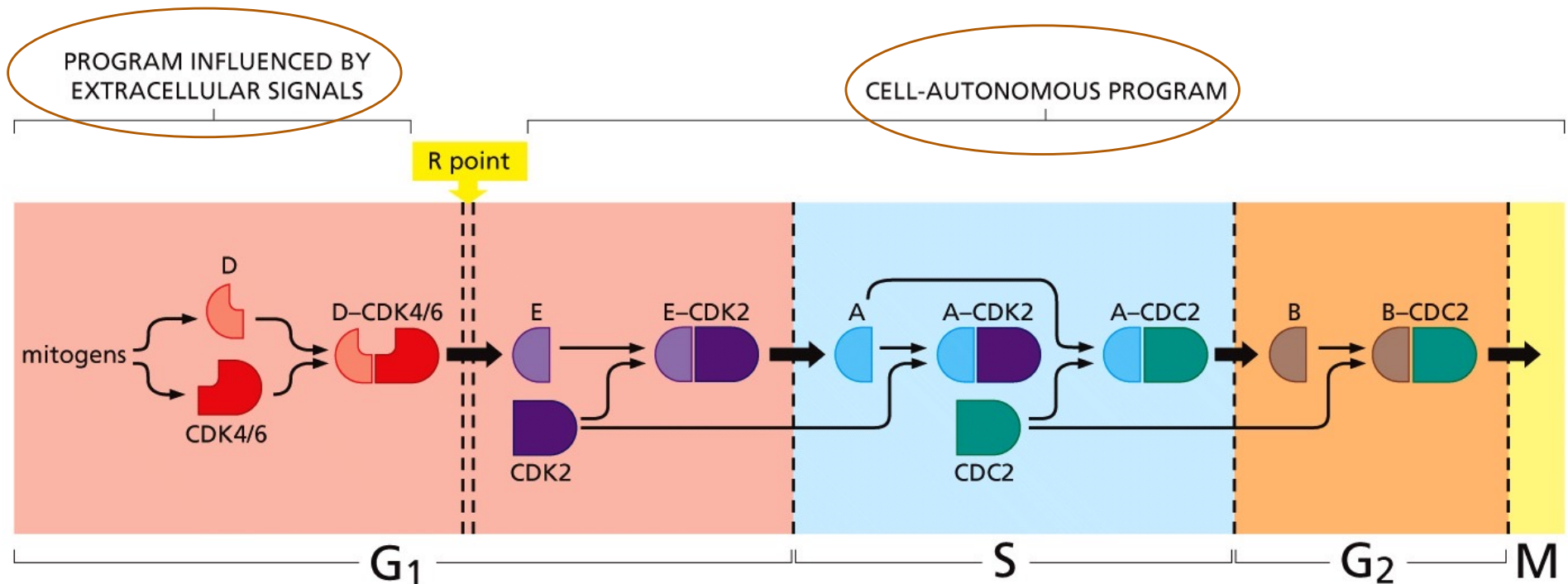


Figure 8.12 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

**Après le point R, les complexes
CDK/cyclines stimulent l'avancée du cycle**

CDC2 = CDK1

A retenir !

Les cellules utilisent plusieurs mécanismes pour rester en état de quiescence:

- Faible niveau d'expression des gènes qui codent les cyclines D
- Les protéines Cyclines D phosphorylées par la kinase GSK3b sont dégradées par le protéasome après ubiquitination par le complexe SCF.
- Les complexes RB/E2F/DP répriment la transcription des gènes codant les cyclines E et A
- De hauts niveaux des CDKI p27 et/ou p21 inhibent l'activité des complexes Cyclines/CDK

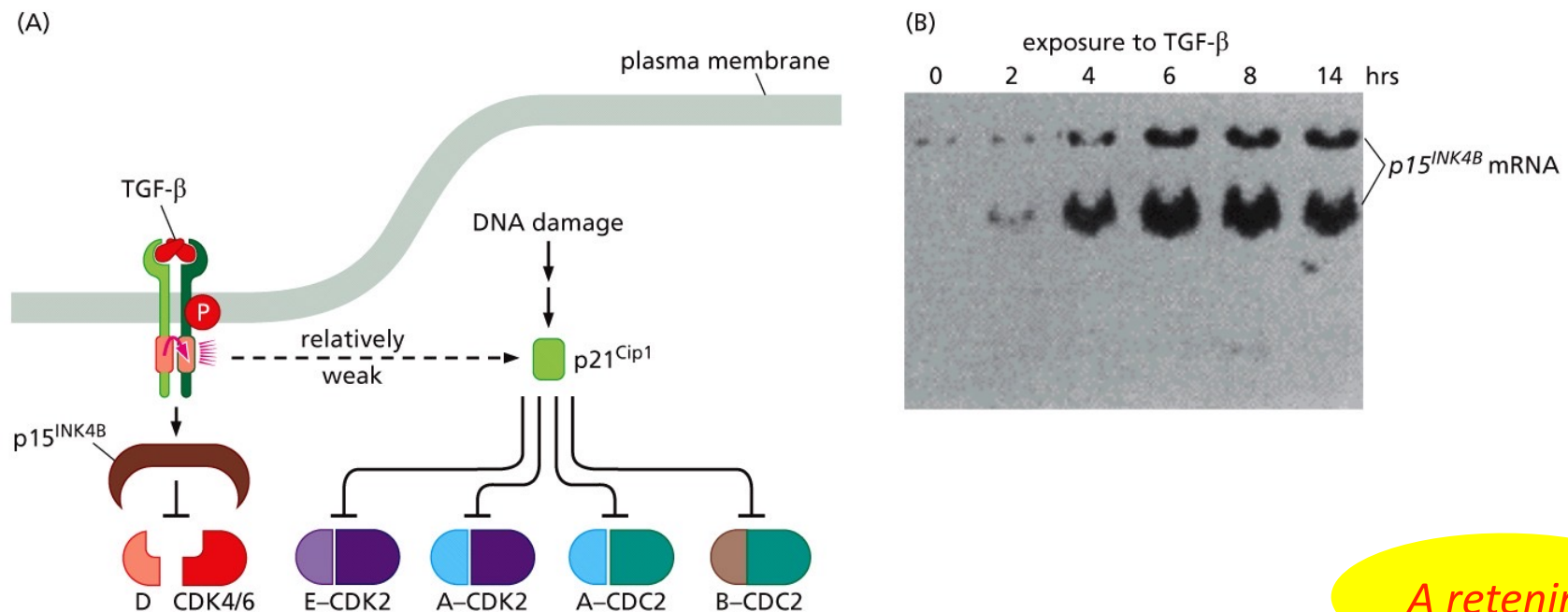


Figure 8.14 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

A retenir !

La voie de signalisation du TGFbeta exerce un effet inhibiteur sur la progression du cycle

Le niveau de cyclines D intègre de multiples facteurs internes et externes

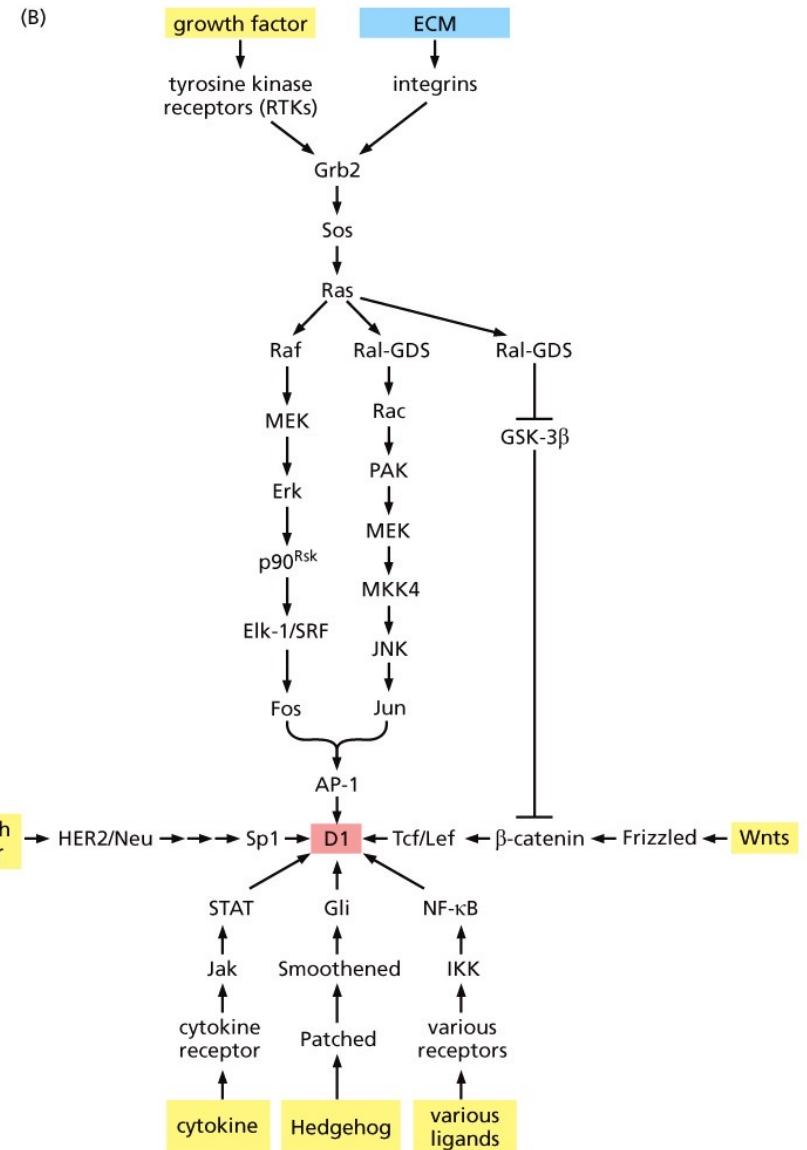
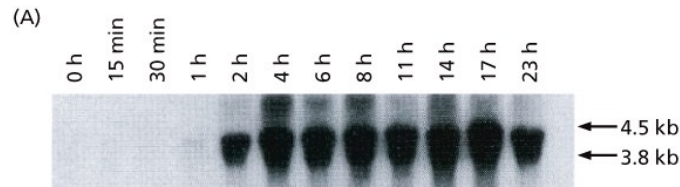
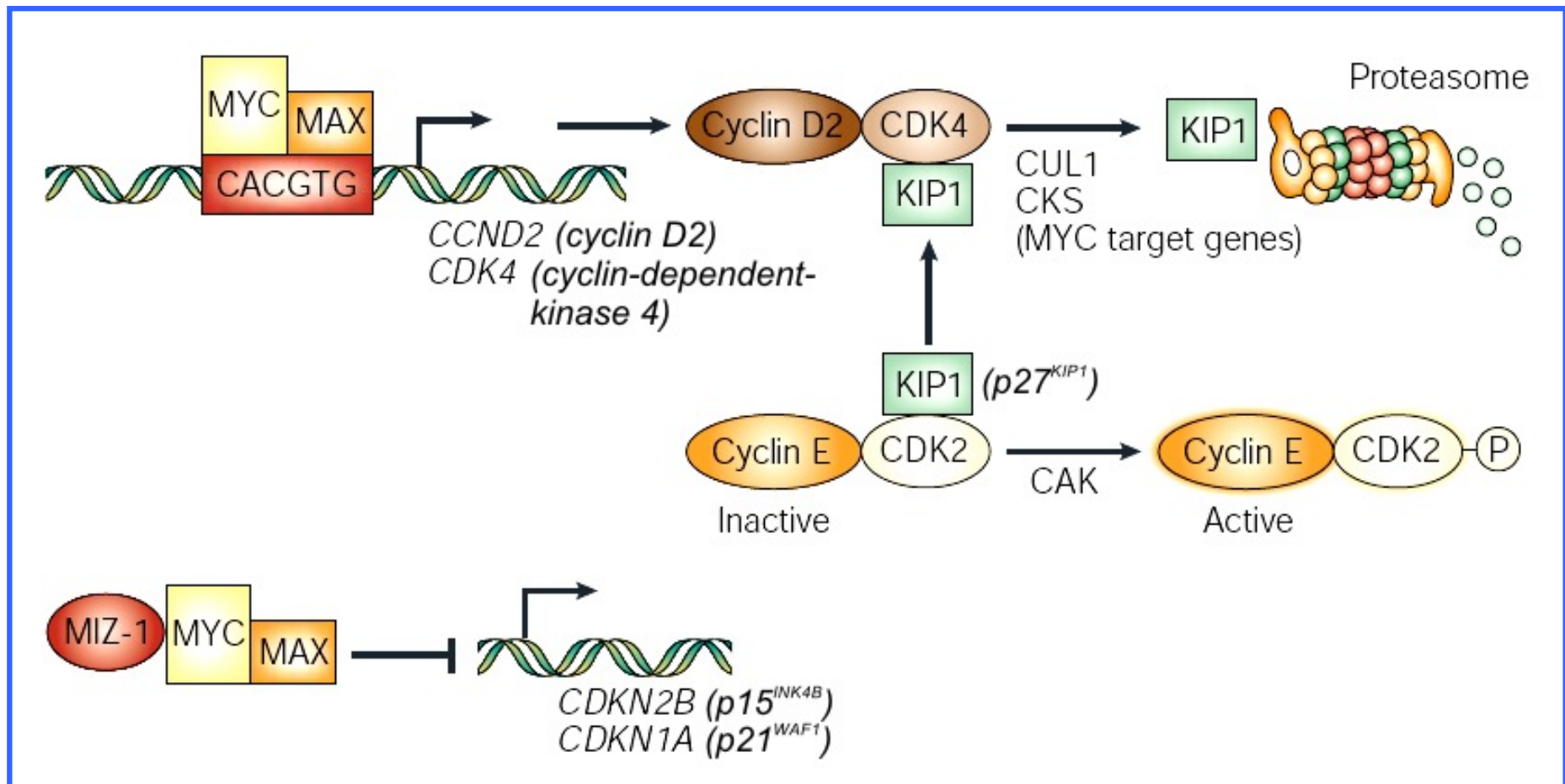


Table 8.1 Induction of D-type cyclin expression by extracellular signals

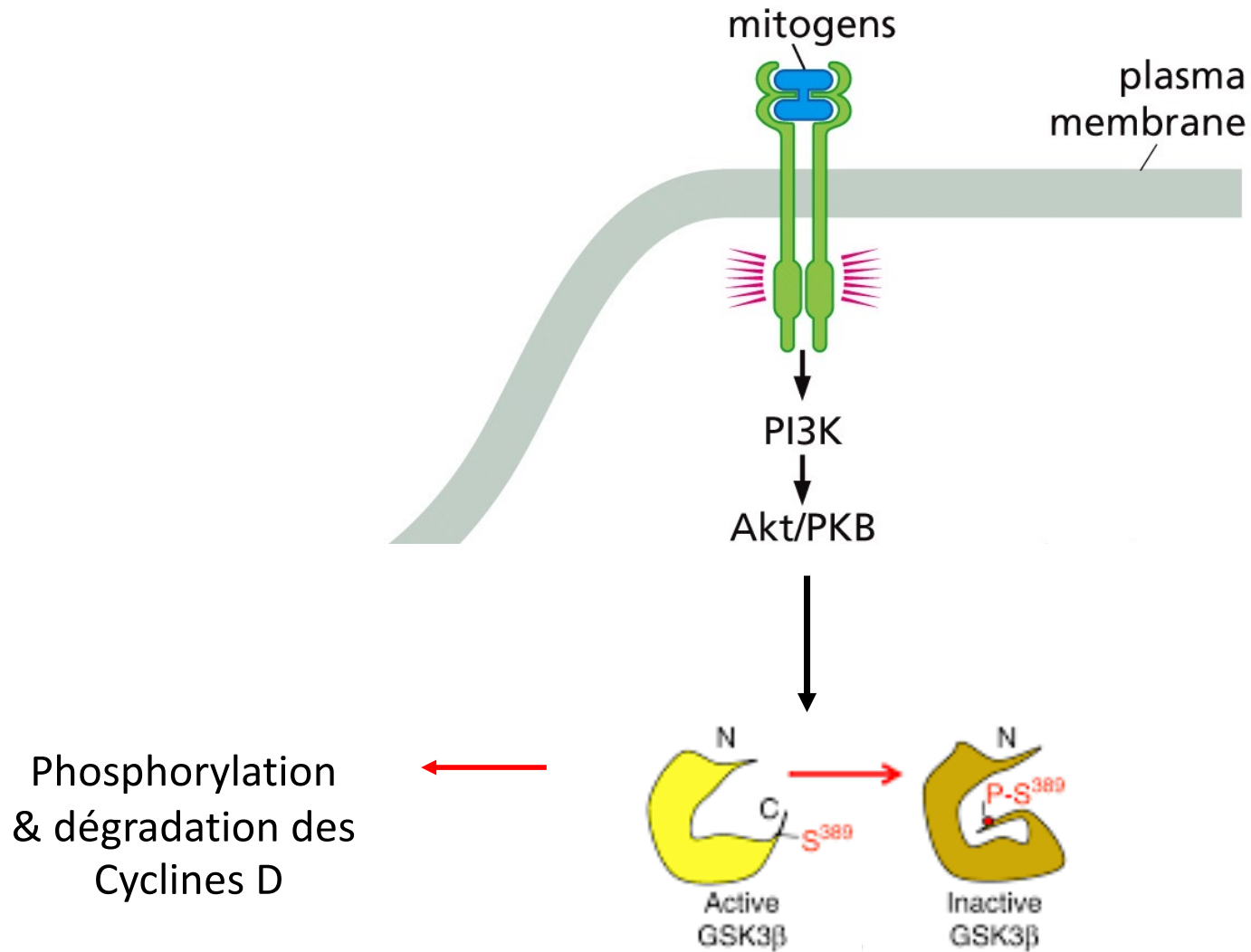
Source of signal	Signaling intermediaries	Type of cyclin
RANK receptor	NF-κB pathway	D1
Prolactin receptor	Jak/STAT	D1
Estrogen receptor	AP-1 TF (?)	D1
Focal adhesion kinase		D1
HER2/Neu receptor	E2F and Sp1 TFs	D1
Wnts–Frizzled receptor	β-catenin and Tcf/Lef TFs	D1
Bcr/Abl		D2
FSH receptor	cyclic AMP	D2
Various mitogens	Myc	D2
Interleukin-4, 7 receptor		D2
Interleukin-5 receptor	STAT3/5	D3
Mitogens	E2A TF	D3

Abbreviations: RANK, receptor activator of NF-κB; FSH, follicle-stimulating hormone.

Le proto-oncogène c-Myc favorise la transition G1/S

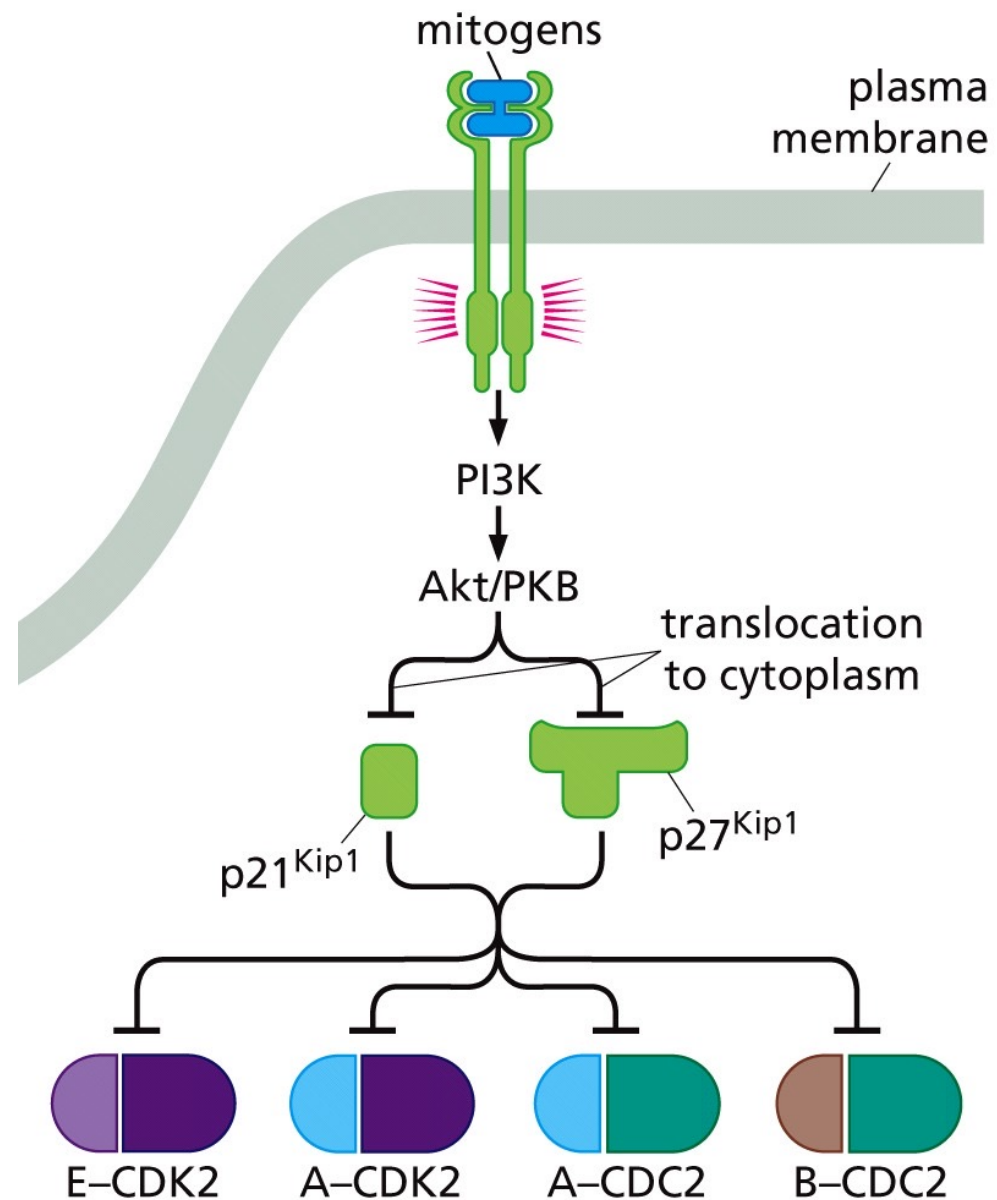


III.C- INACTIVATION DE GSK3 β ET ACCUMULATION DES CYCLINES D



L'inactivation de GSK3 β par AKT favorisera l'accumulation des cyclines D dans le noyau

III.C- INHIBITION DES CDKI



A retenir !

III.C- INHIBITION DES CDKI

❖ Rôle des CdKI : p21/p27

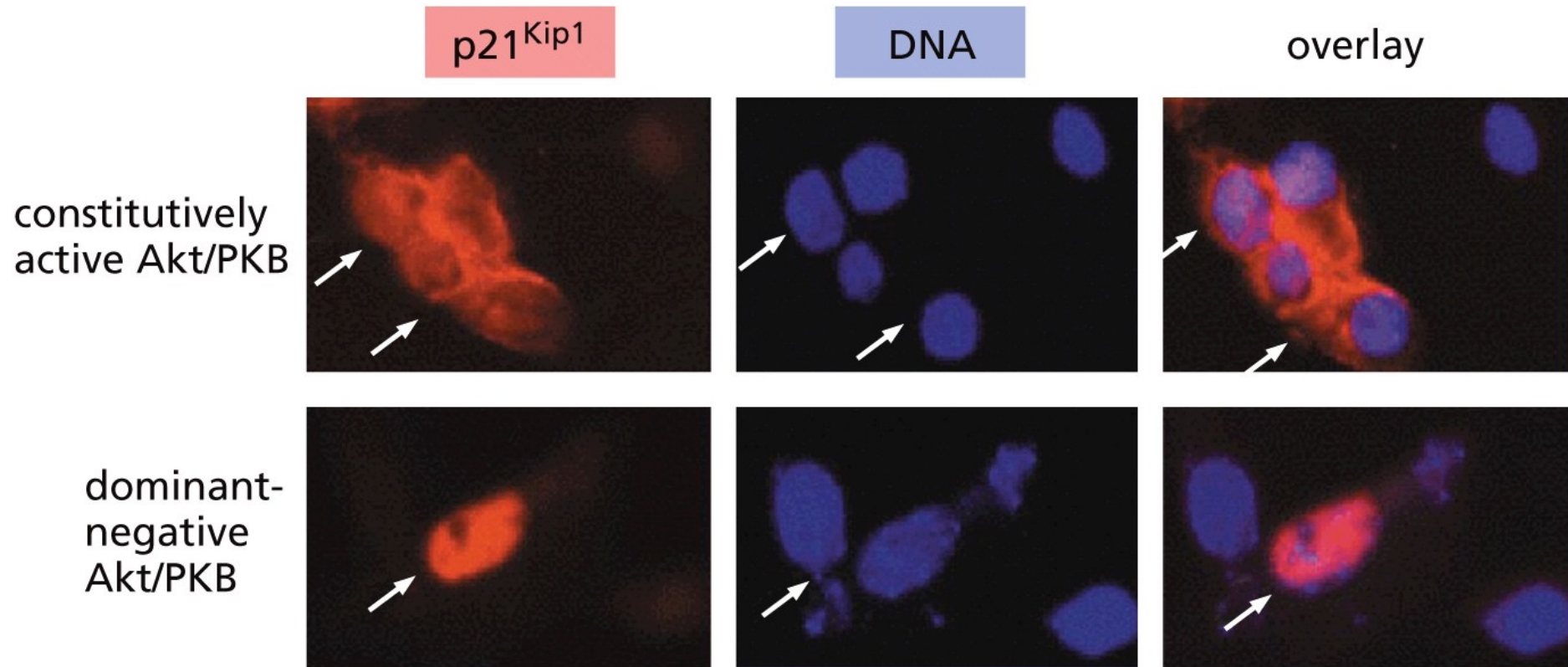
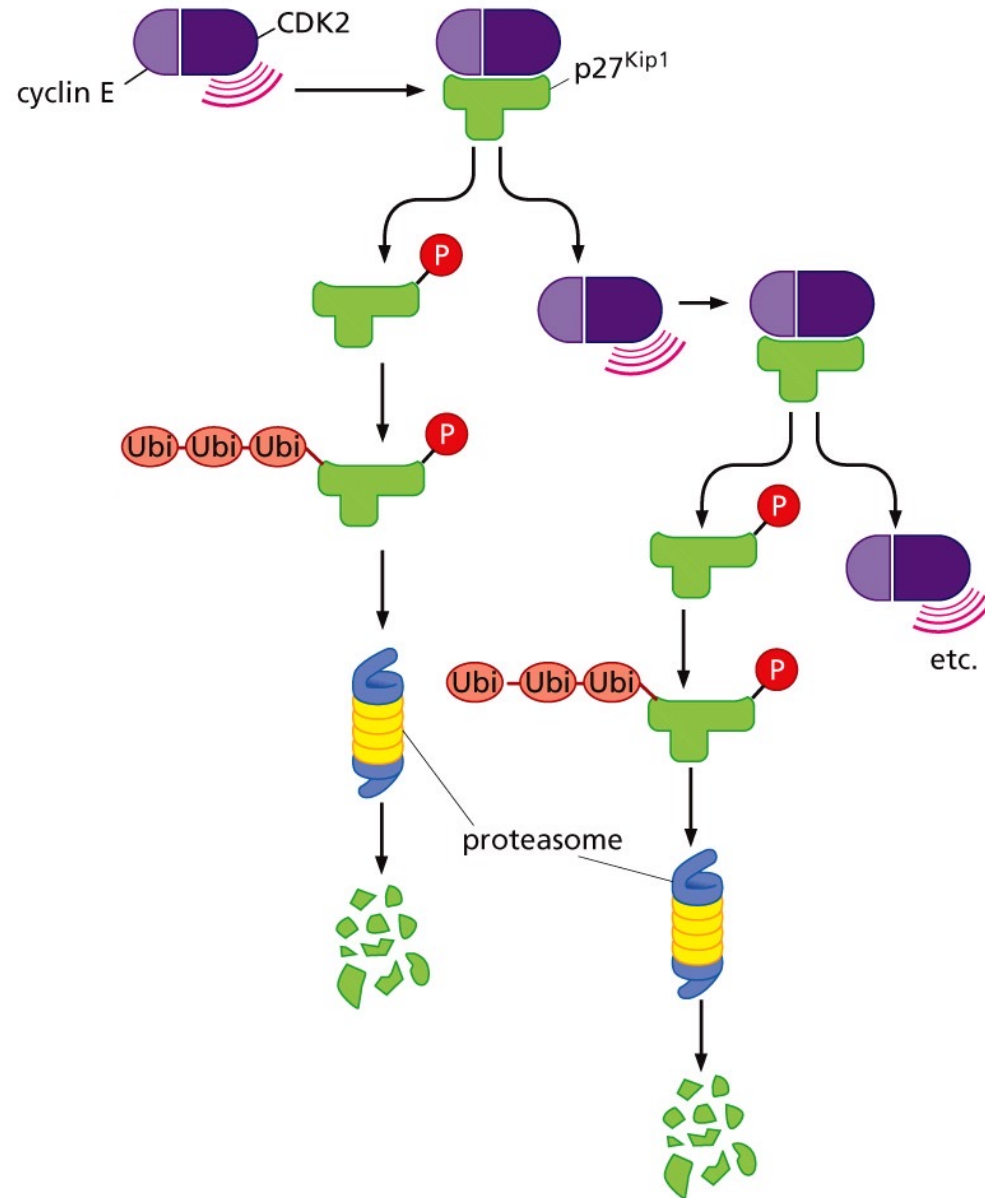


Figure 8.15b The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Régulation par modification de la localisation sub-cellulaire

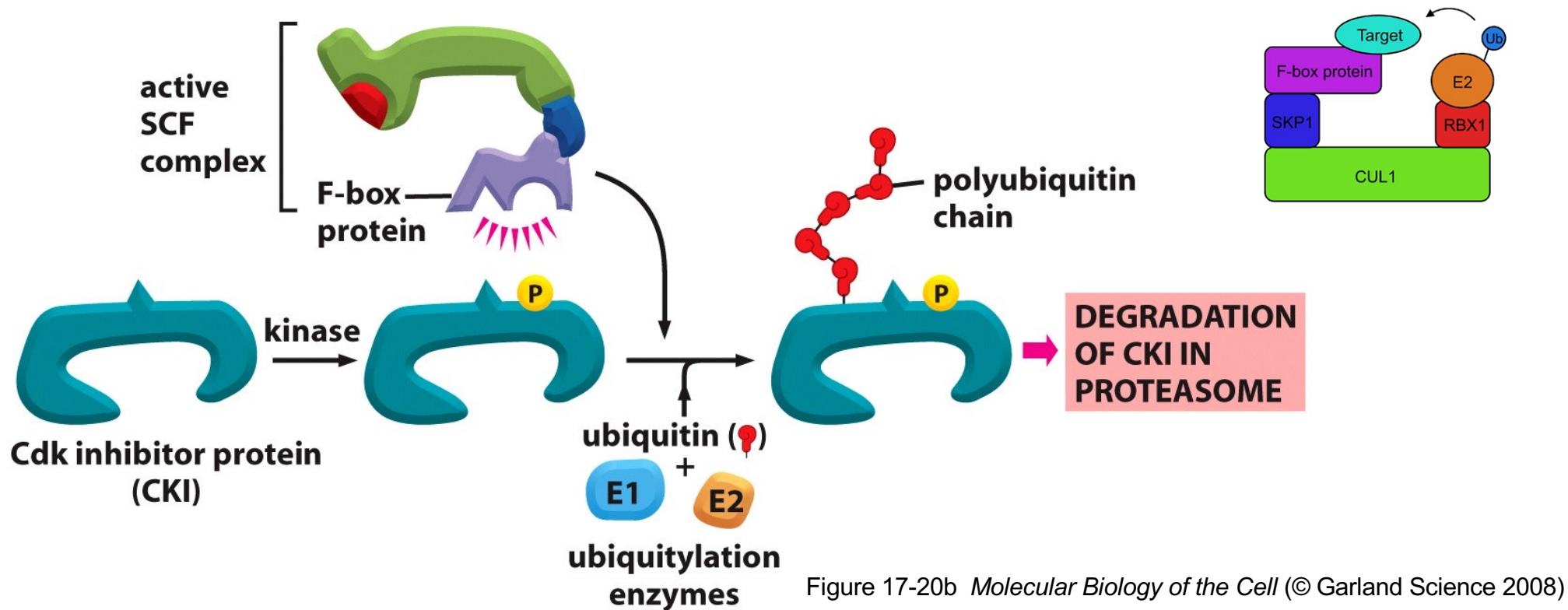
Phosphorylation de p27kip1 par le complexe Cyclin E/CDK2 : un exemple de boucle d'amplification positive



A retenir !

Le complexe SCF (Skp Cullin F-box containing complex) : une ubiquitine ligase (E3)

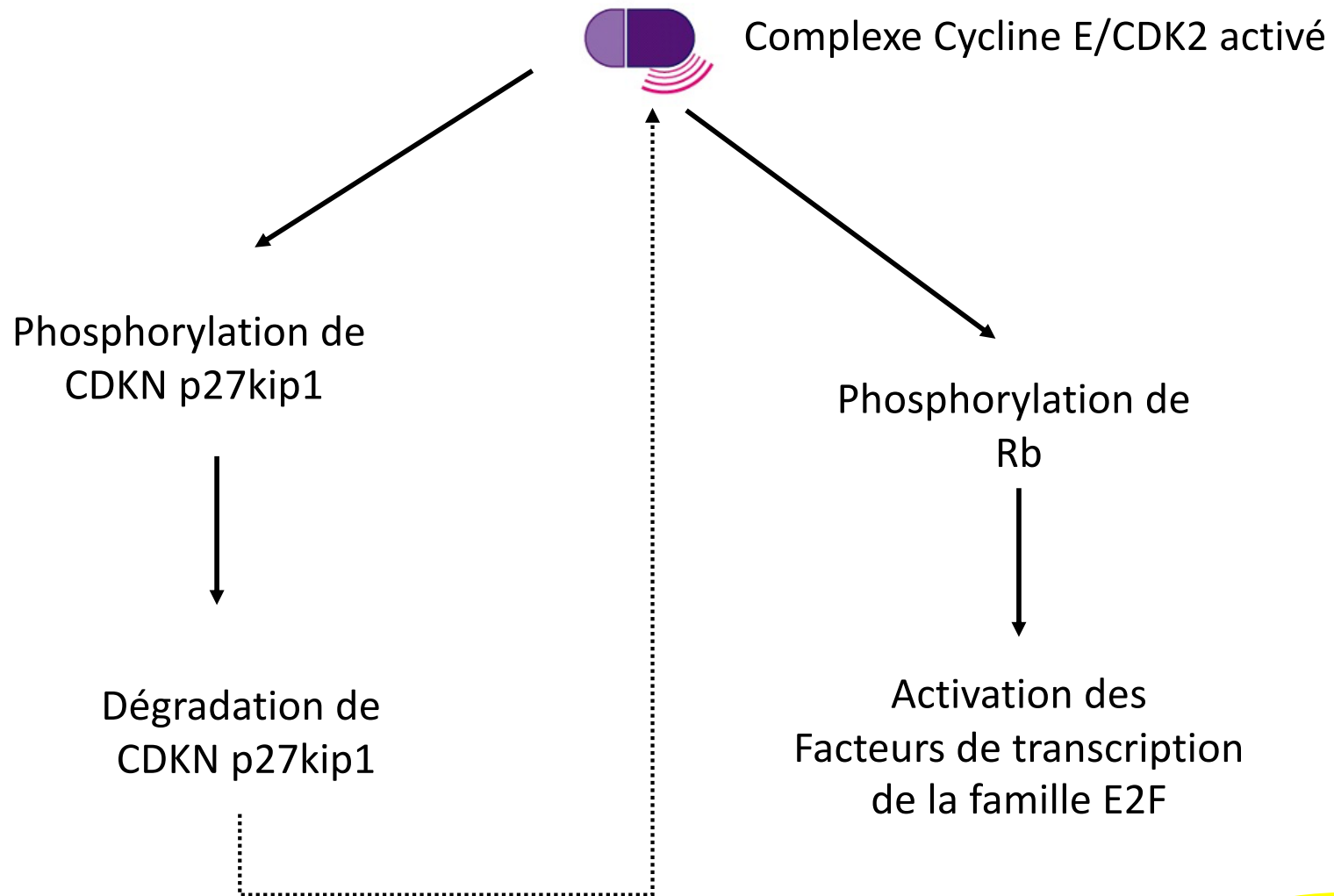
control of proteolysis by SCF



- La voie de l'ubiquitine/protéasome est impliquée dans l'entrée en phase S

Remarques: A/ p27kip1 est phosphorylée par Cycline E/Cdk2 puis dégradée par le SCF (boucle d'amplification positive) mais B/ Cyclines D et E sont dégradées par le SCF (boucle de rétrocontrôle négatif)

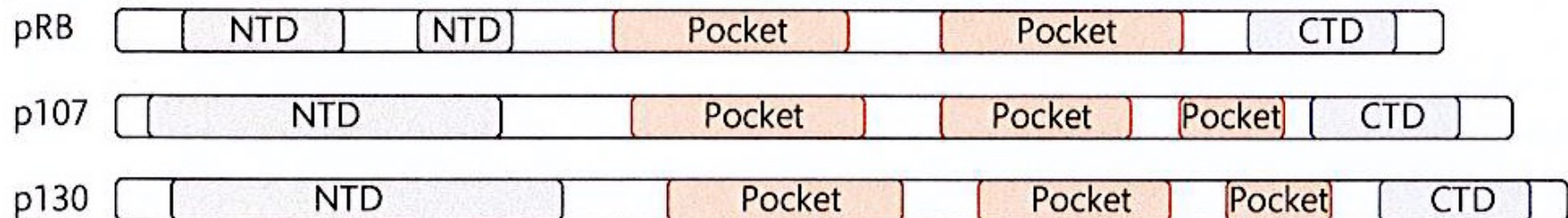
III.C- CIBLES DU COMPLEXE CYCLINE / CDK2



A retenir !

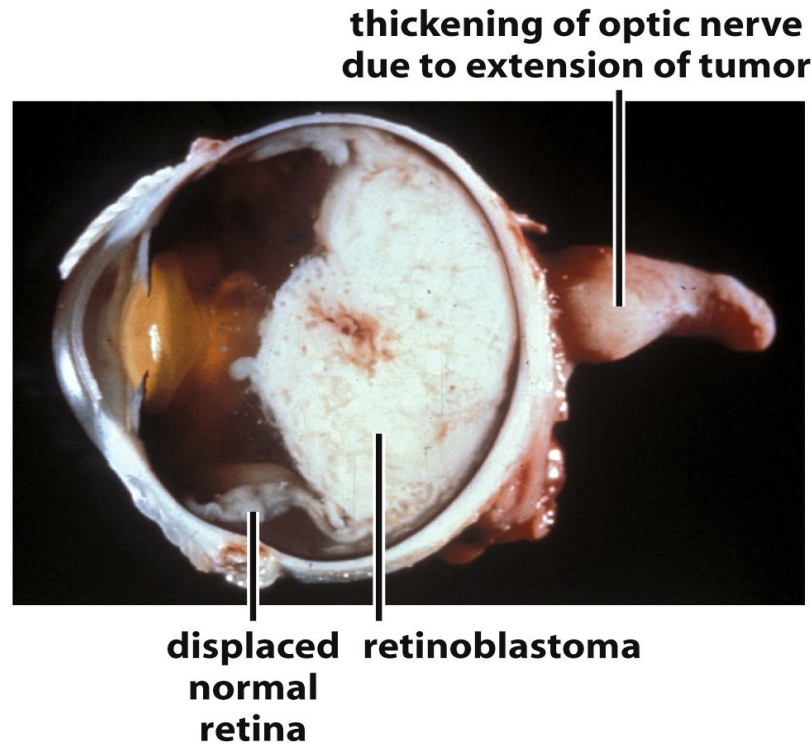
III.C- LE GENE RB

- Un gène impliqué dans le contrôle négatif de la prolifération
- Nécessaire pour éviter une prolifération incontrôlée.
- Découvert initialement comme régulateur de la croissance des neuroblastes de la rétine en développement.
- L'inactivation des deux copies du gène élimine un frein à la prolifération cellulaire.
- Retrouvé depuis actif dans toutes les cellules
- Famille des protéines à poche (pocket proteins) p107, p130



III.C- LE GENE RB

- ❖ **Composant central de cette régulation : protéine Rb (rappel)**

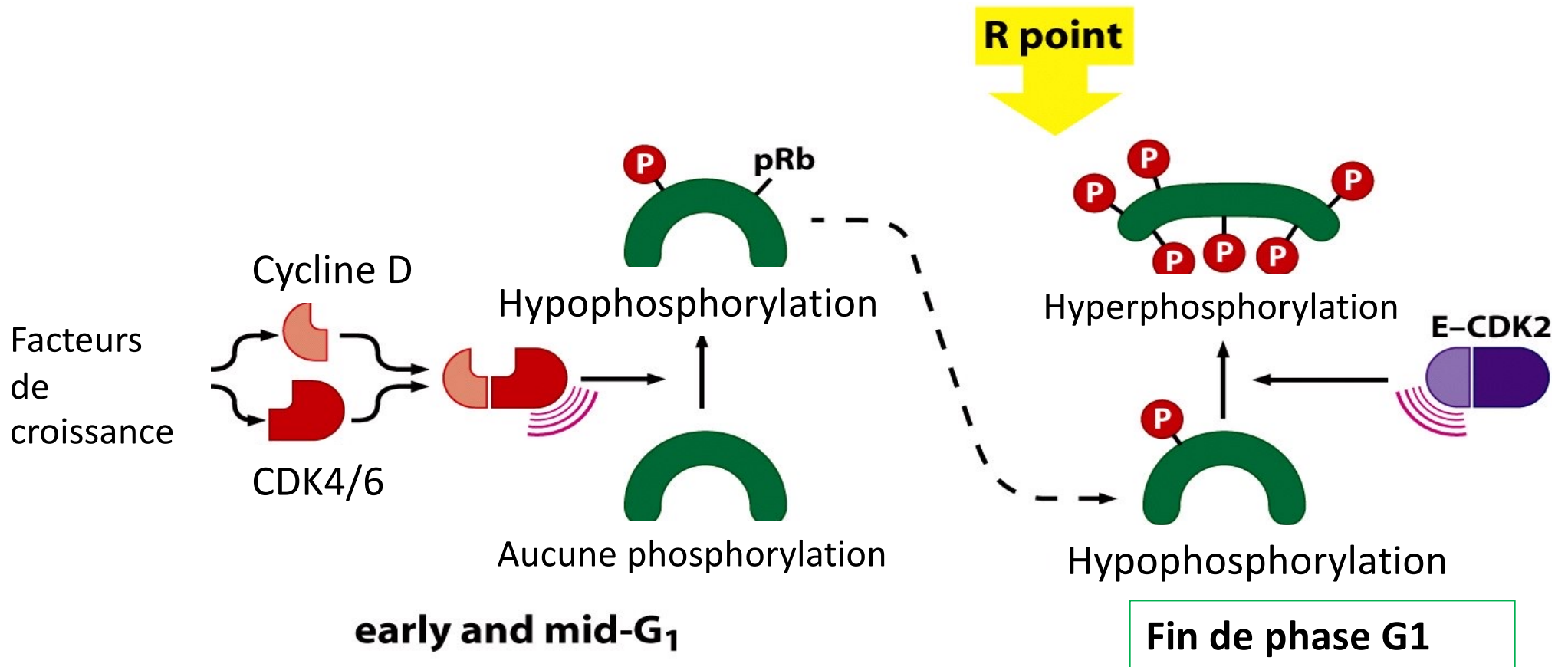


Section de l'œil avec un rétinoblastome

III.C- LE GENE RB

❖ Régulation de la phosphorylation de Rb (rappel)

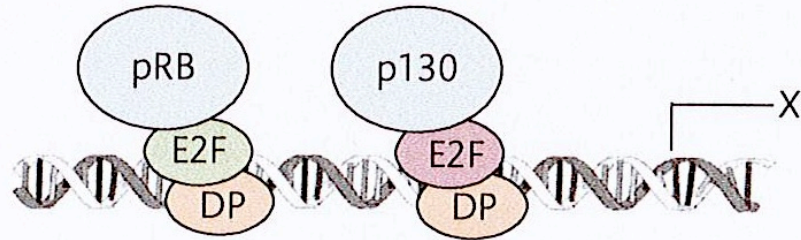
A retenir !



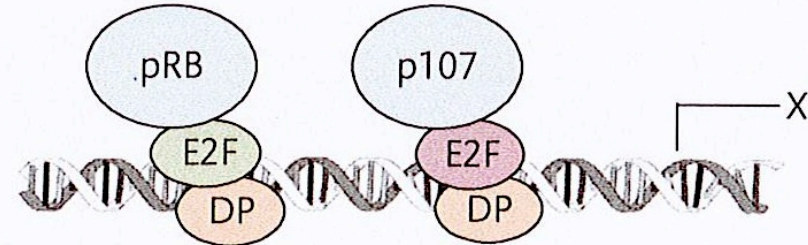
L'hyperphosphorylation de pRB permet l'activation des protéines E2F

A retenir !

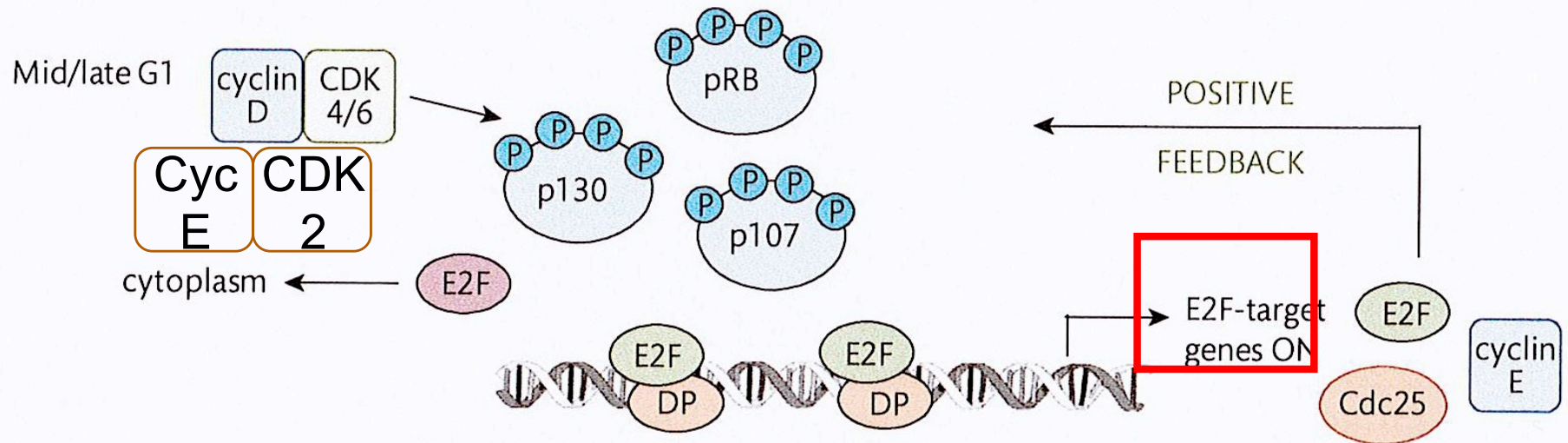
G0 cells



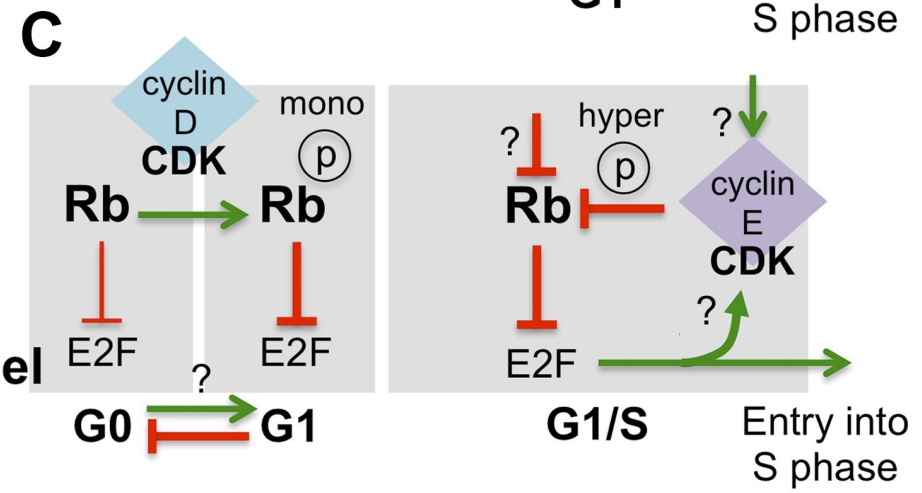
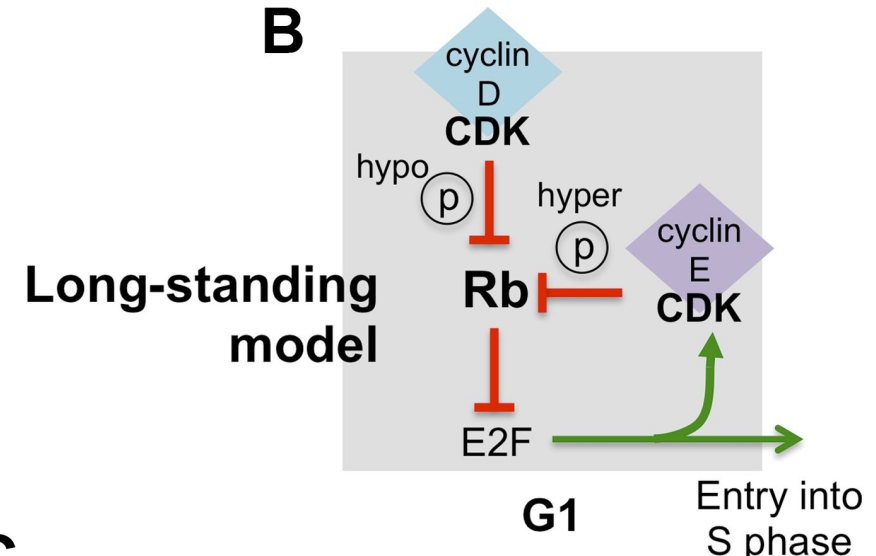
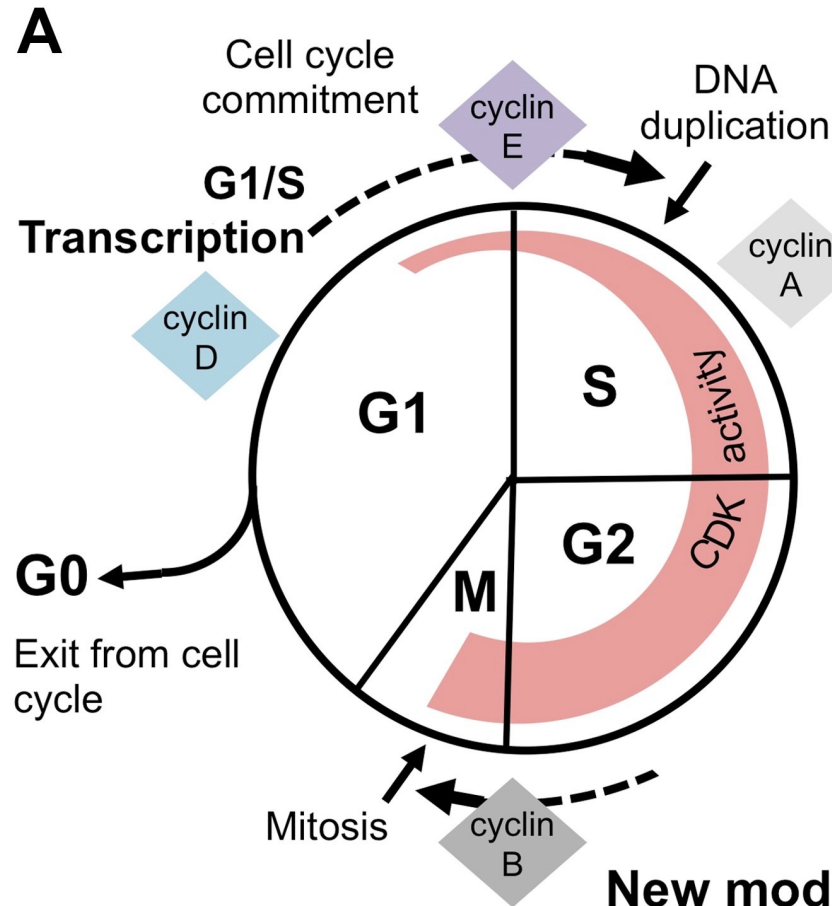
Early G1 cycling cells



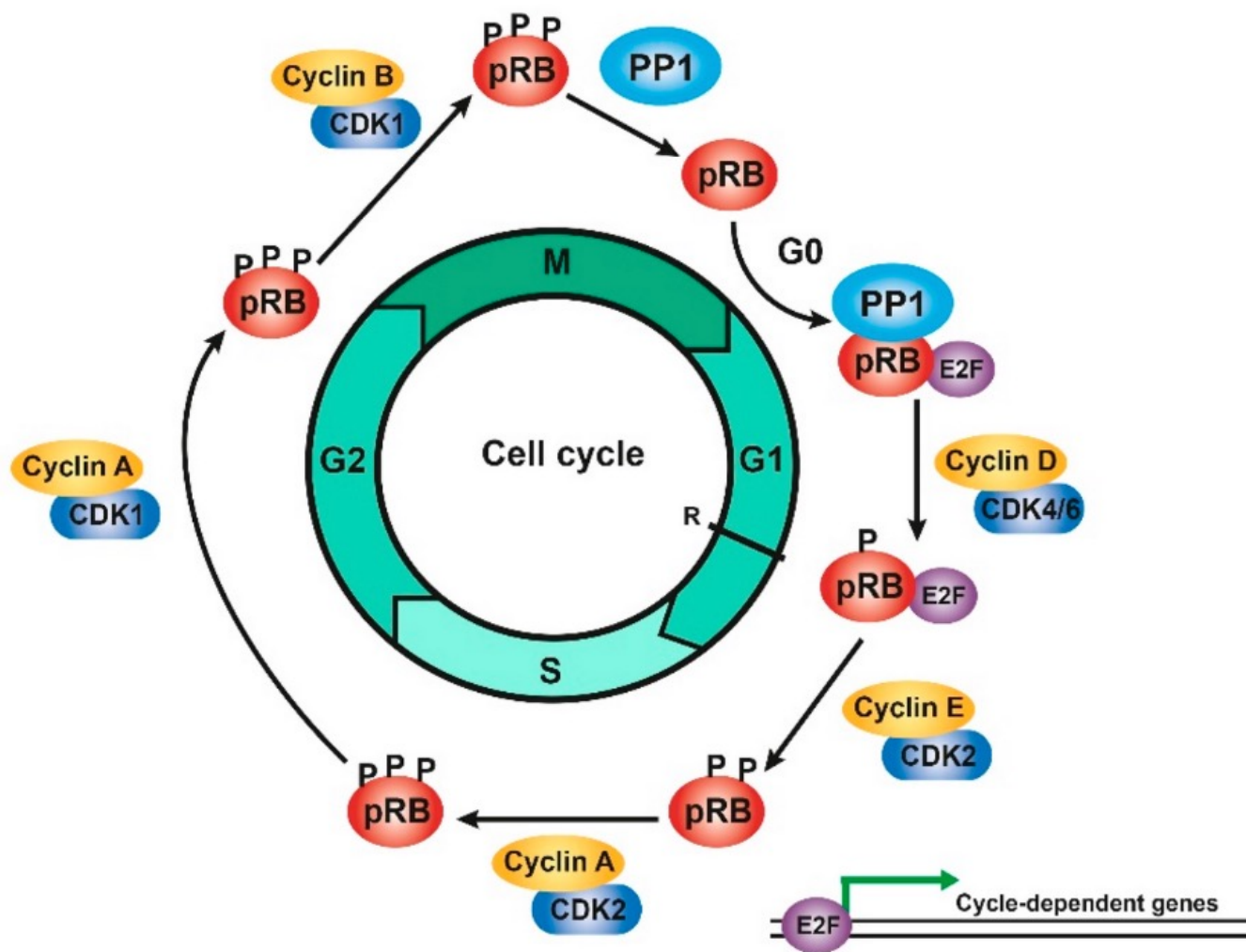
Mid/late G1



III.C- RB & L'ENTRÉE EN PHASE S



III.C- PHOSPHORYLATION DE RB



III.C- LES PROTÉINES E2F

❖ Modèle pour E2F

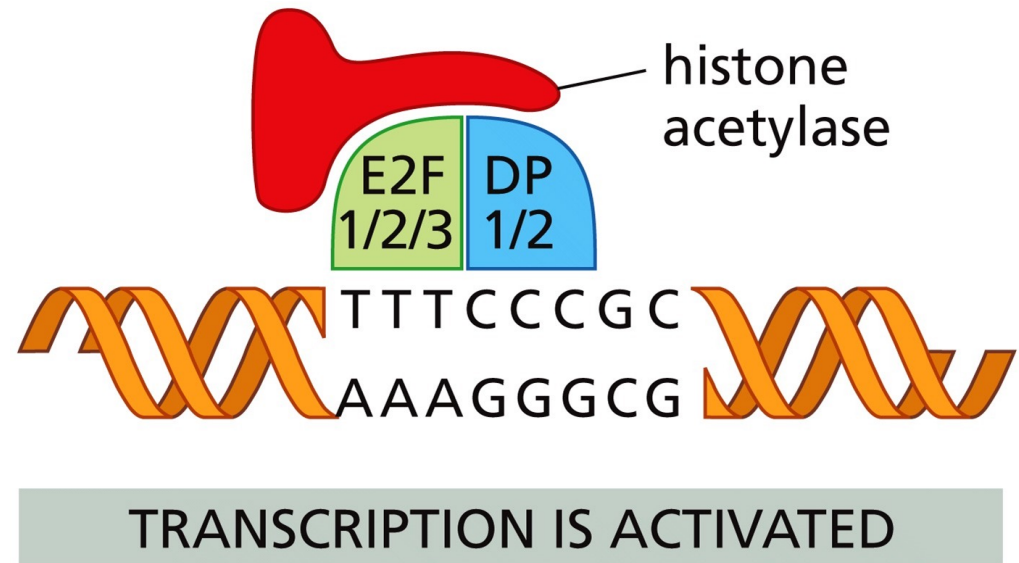
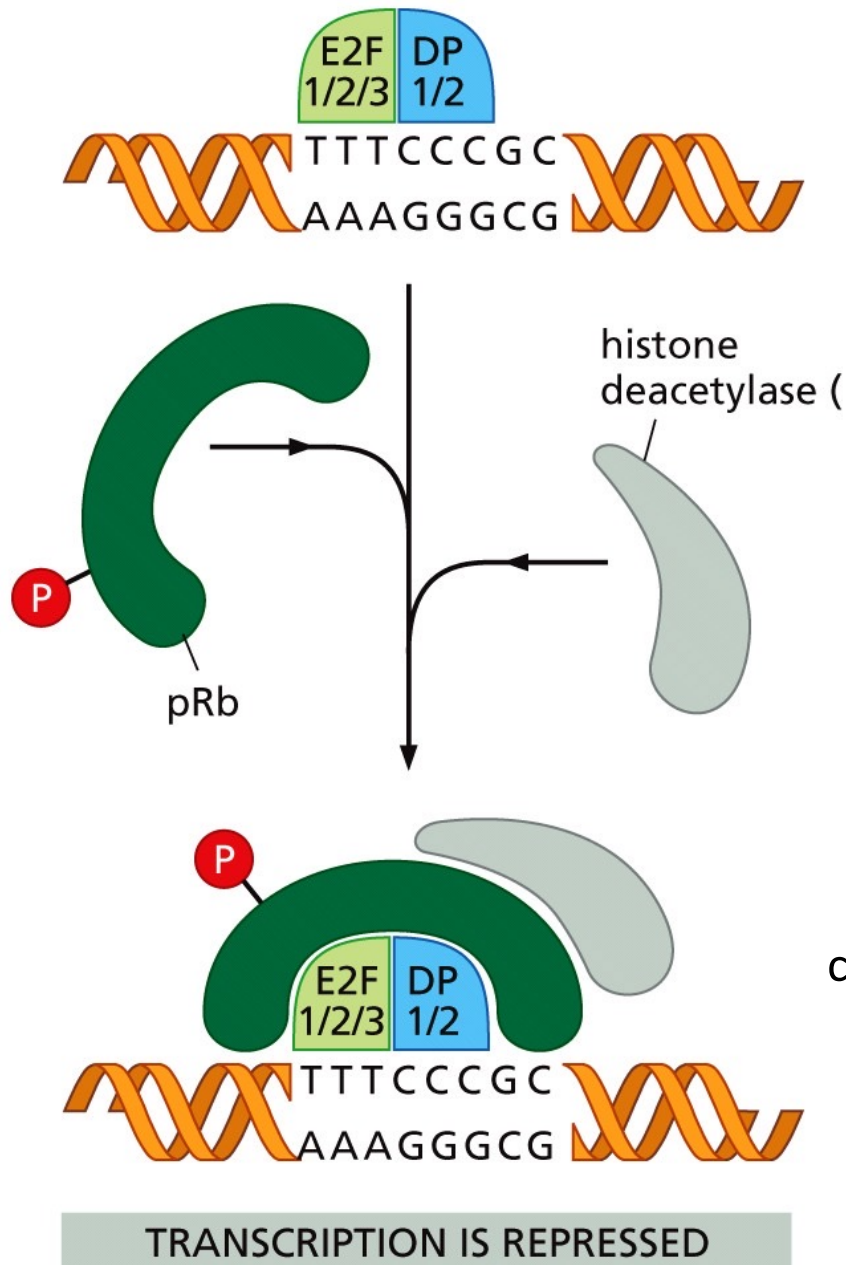


Figure 8.24b The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Remarque: Les facteurs de transcription E2F qui contrôlent l'entrée en phase S seront inactivés pendant la phase S par phosphorylation par le complexe Cycline A/CDK2

A retenir !

III.C- LES PROTÉINES E2F

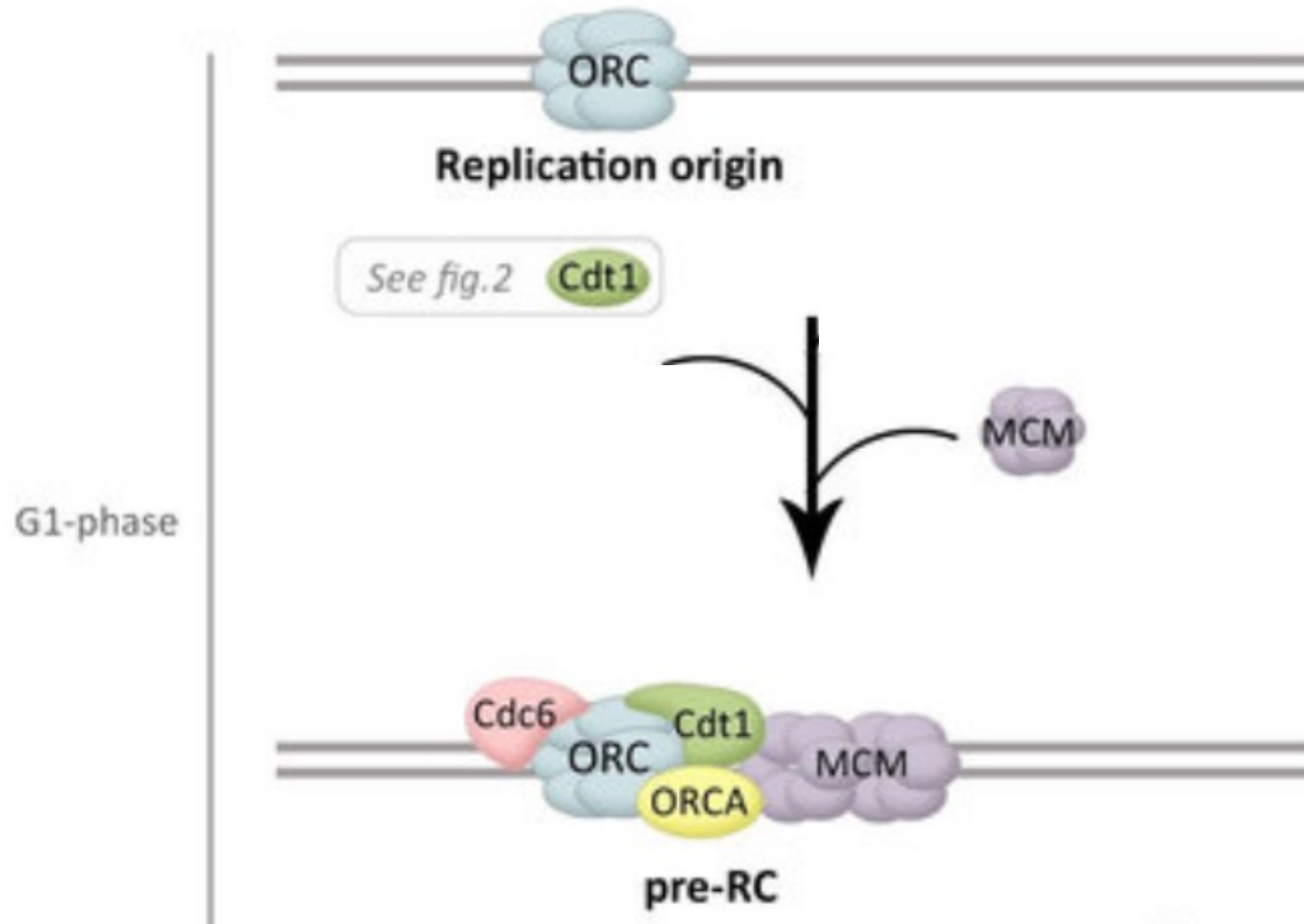
E2Fs induisent:

Cibles	Rôle
E2F	Amplification du signal
Orc1; cdc6; mcm6	Initiation réplication
DHFR; TK; pol-a	Synthèse d'ADN
Cyclines E, A; cdc2; c-myc	Progression dans le cycle cellulaire

A retenir !

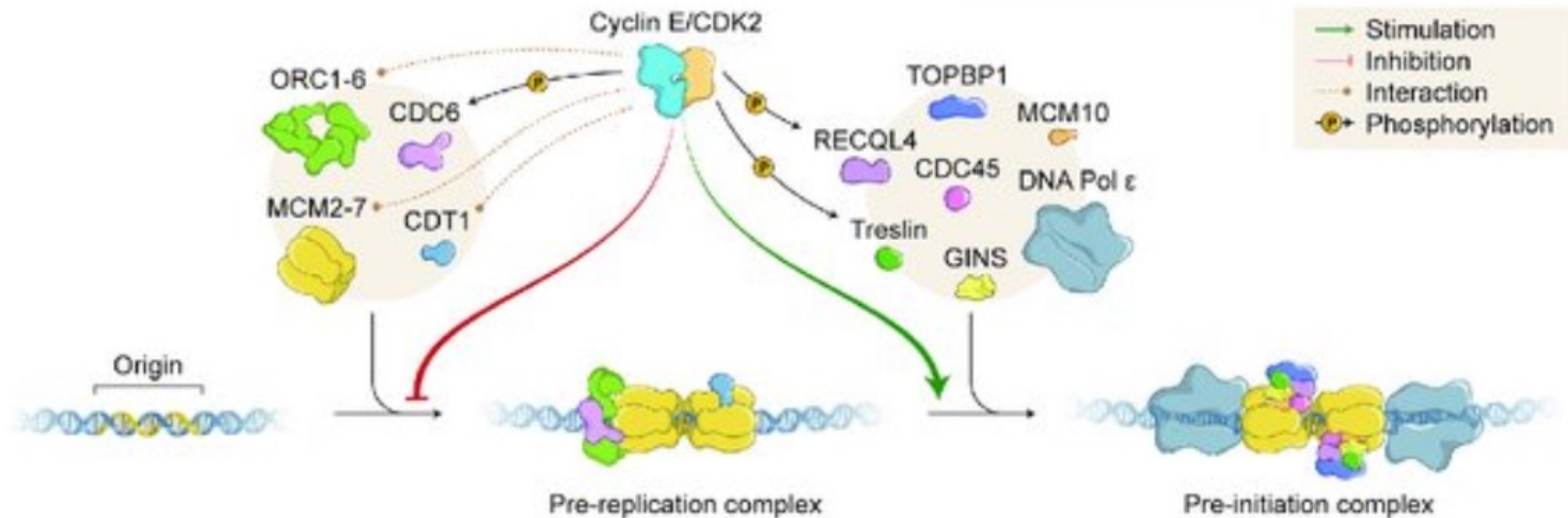
III.C- LA FORMATION DU COMPLEXE DE PRÉ-RÉPLICATION

L'accumulation de CDT1 en phase G1 favorise la formation des complexes de pré-réplication de l'ADN



III.C- LA FORMATION DU COMPLEXE DE PRÉ-INITIATION

Le complexe Cyclin E/CDK2 favorise la formation de complexe de Pré-Initiation



III.C- LA TRANSITION G1/S

❖ Résumé

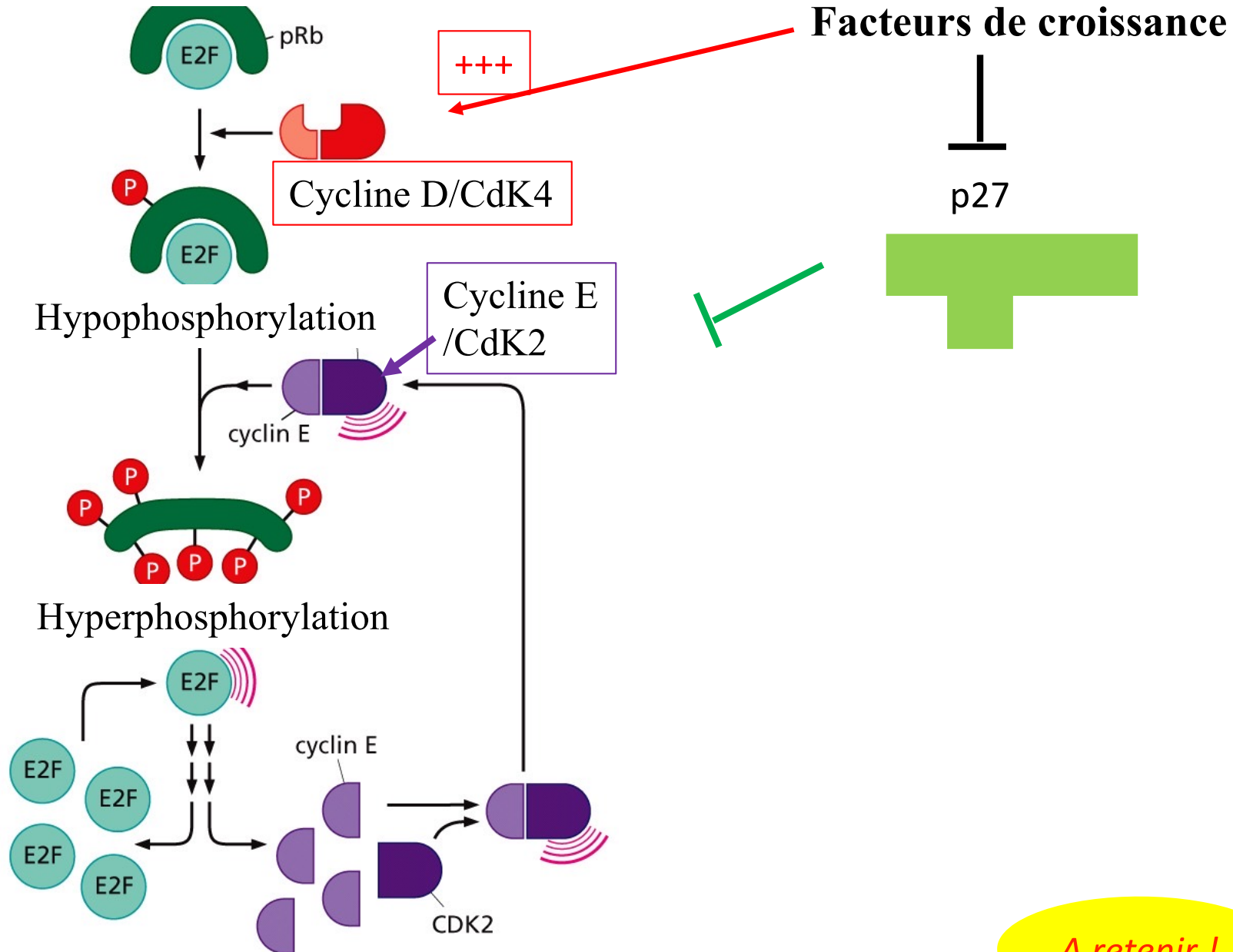
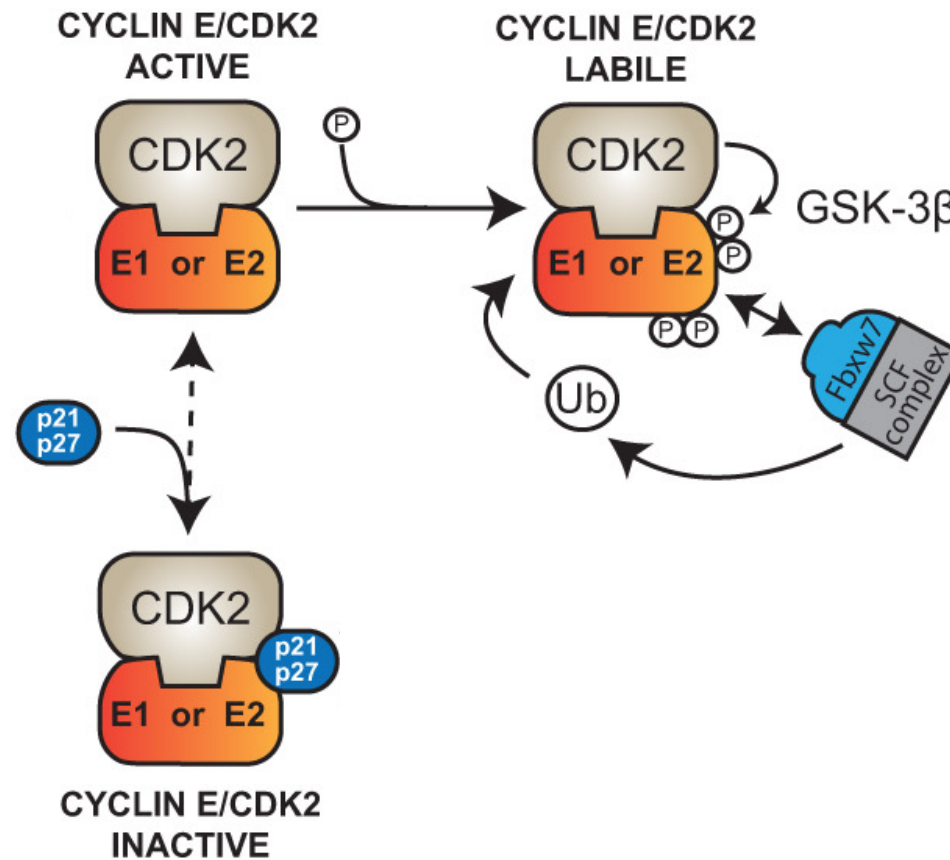


Figure 8.25a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

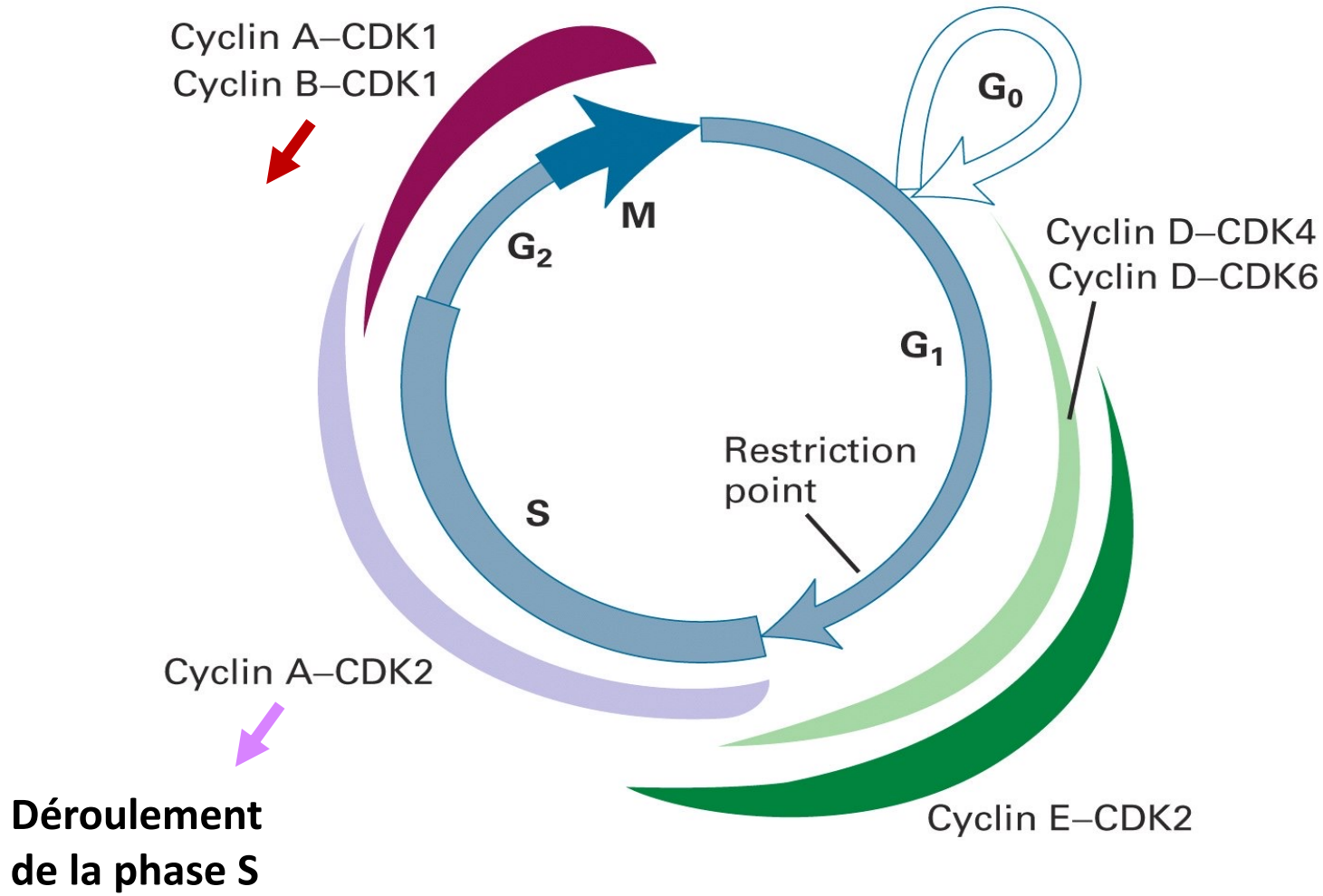
A retenir !

Phosphorylation des Cyclines E par les complexes Cyclines E/CDK2 : un exemple de boucle de rétrocontrôle négatif

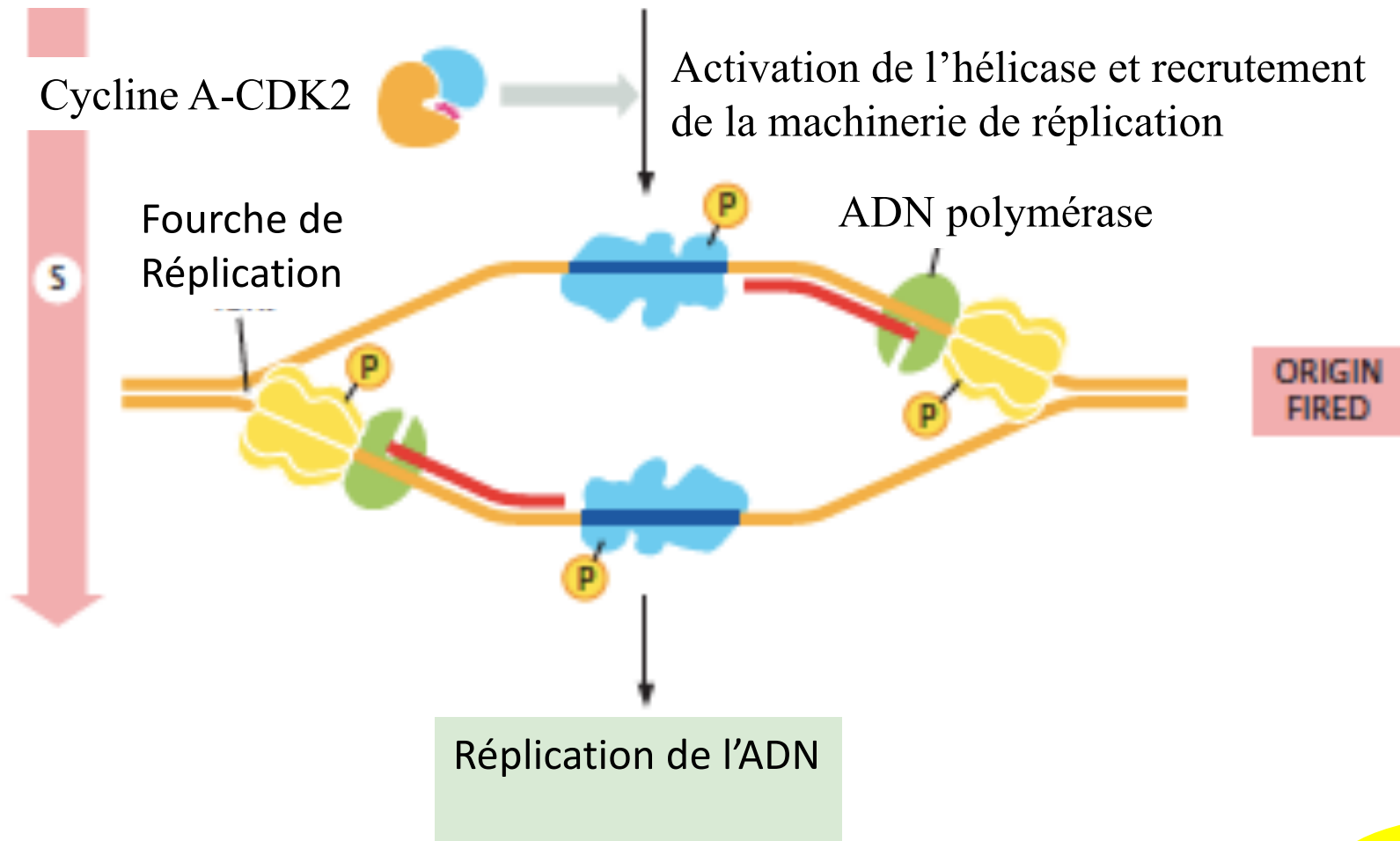


III.D- PHASE S

A retenir !



III.D- PHASE S

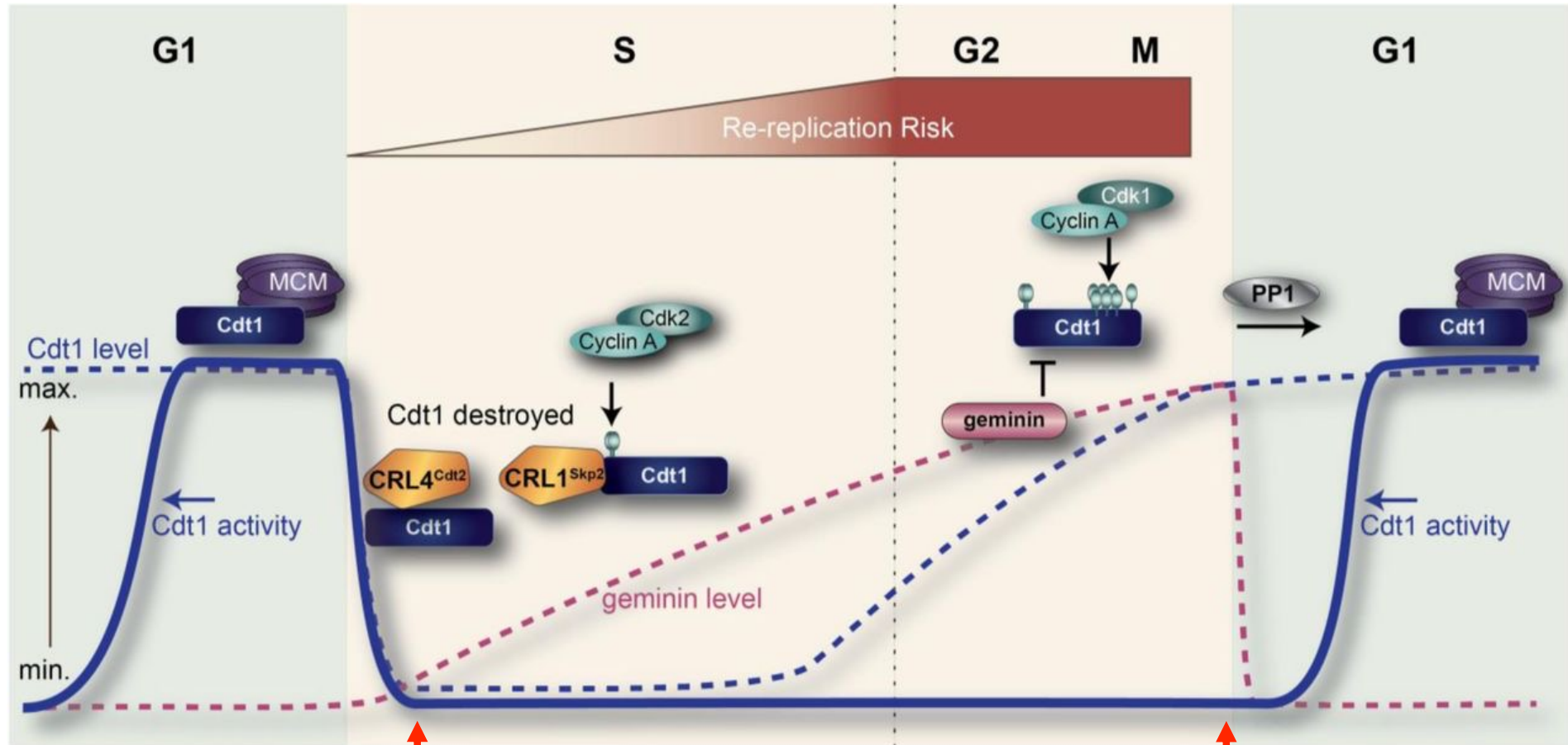


A retenir !

Remarque: Le complexe Cycline A/CDK2 inactive par phosphorylation les facteurs de transcription E2F qui contrôlent l'entrée en phase S!

III.D- PHASE S ET RÉGULATION DE CDT1

Régulation de Cdt1 et risque de re-réplication de l'ADN



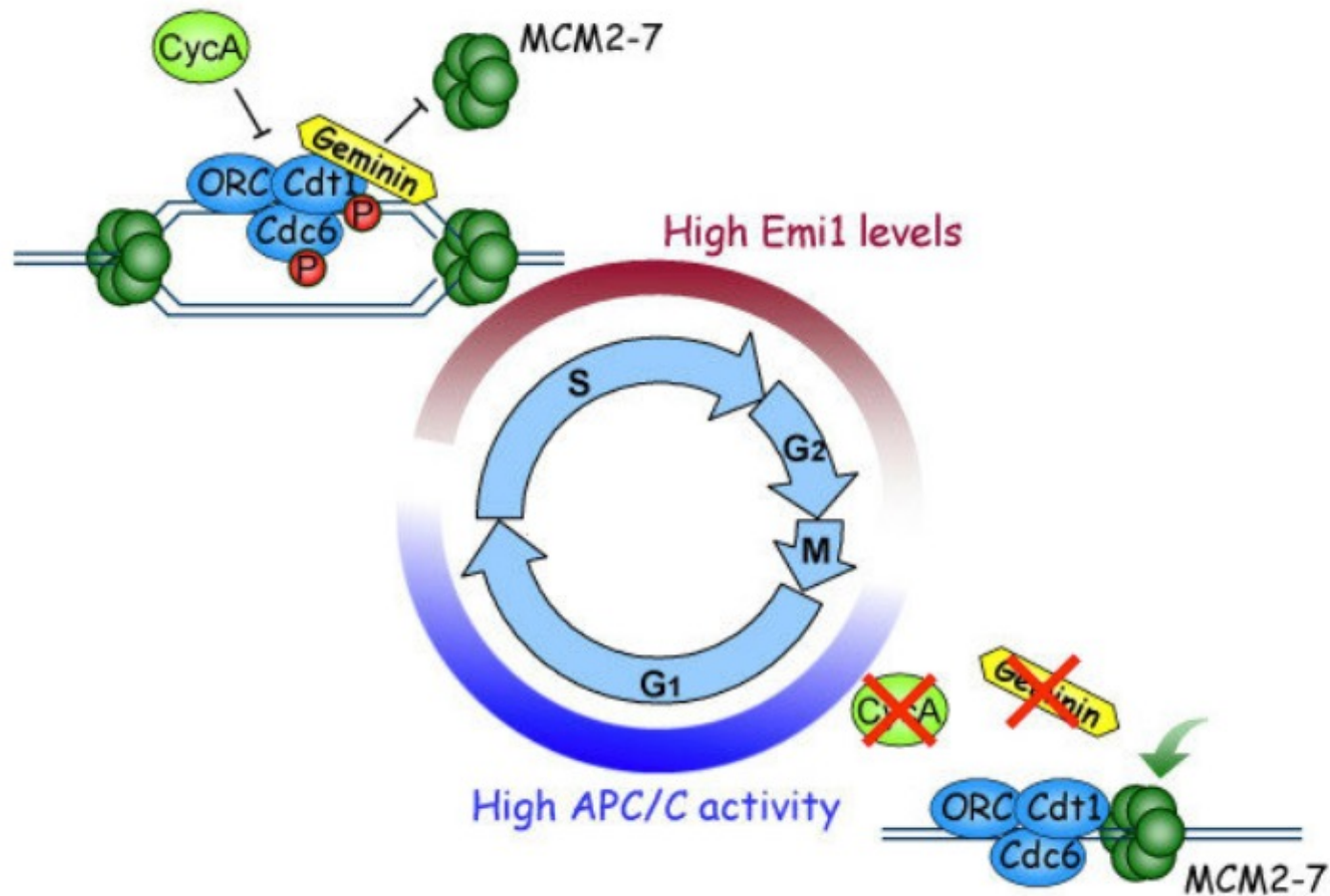
Dégradation de Cdt1 dépend de l'activité du complexe SCF

Dégradation de Geminin dépend de l'activité du complexe APC/C

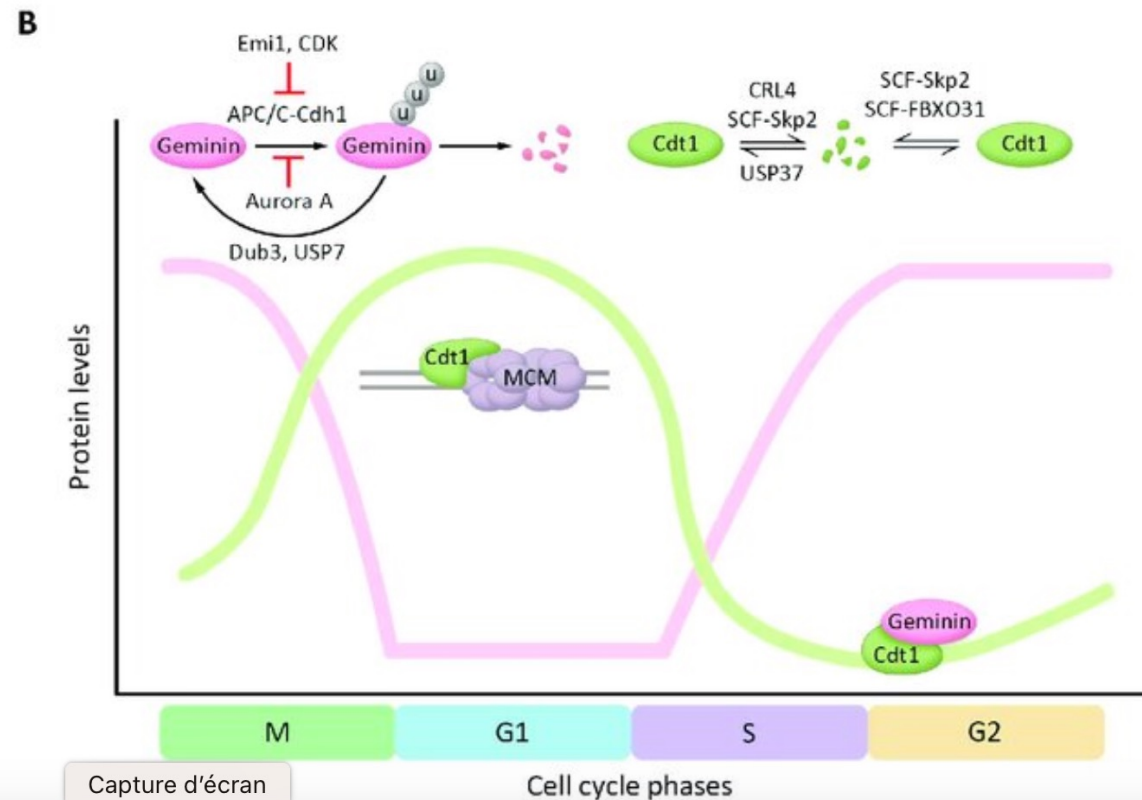
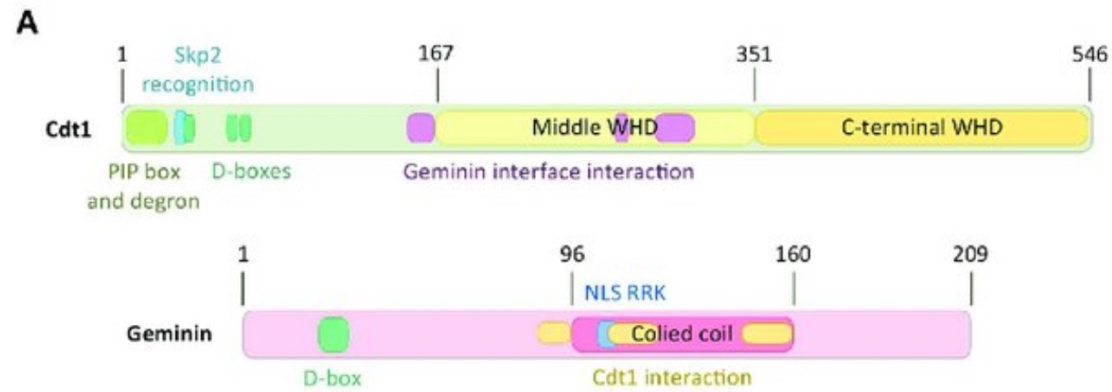
L'activité de Cdt1 est nécessaire en G1 pour la formation des complexes de pré-réplication de l'ADN mais son activité doit être finement régulée pour que l'ADN ne soit pas répliqué plus d'une fois au cours des phases S et G2.

III.D- PHASE S ET RÉGULATION DE CDT1

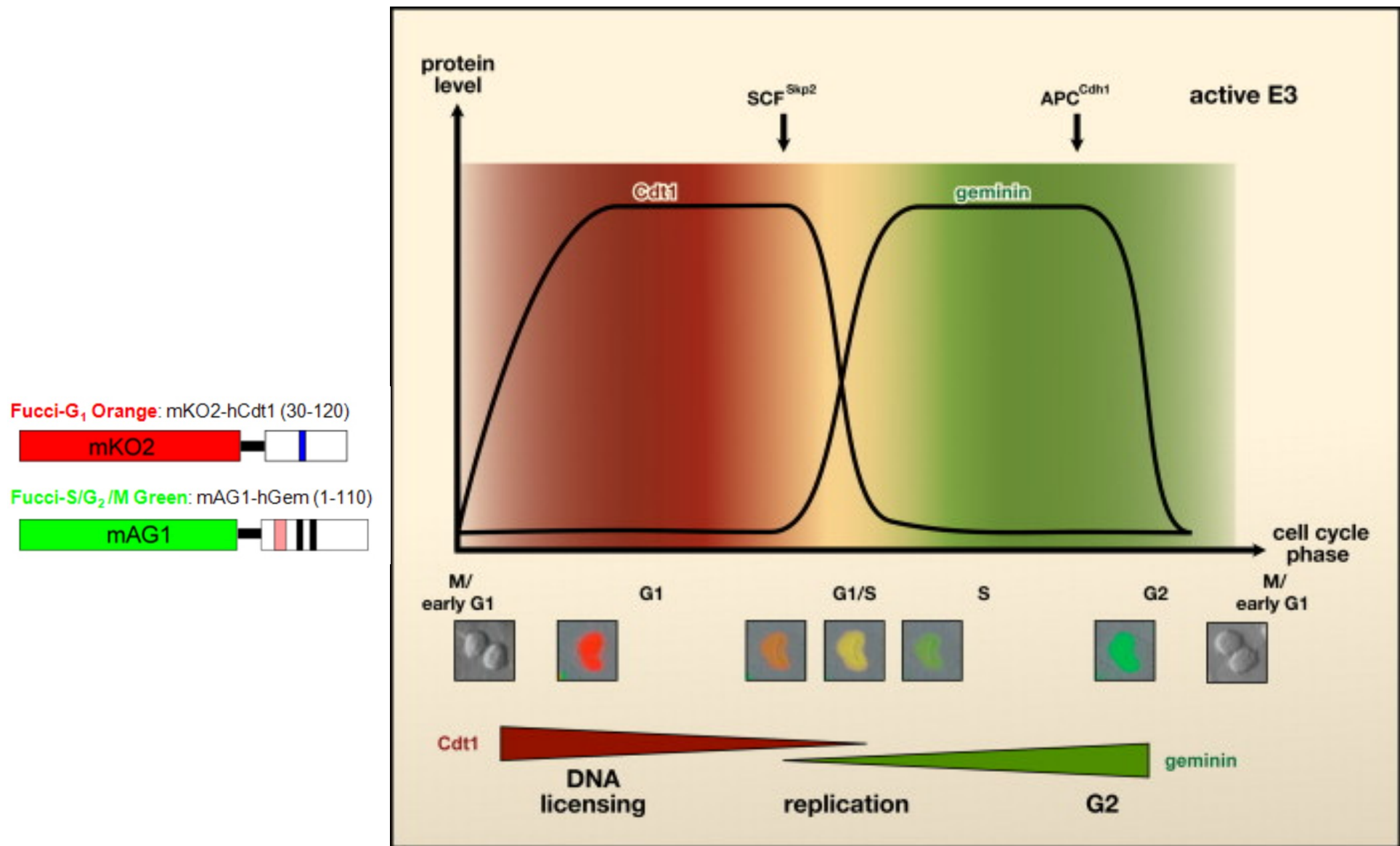
APC/C, Cycline A, Geminin et réplication de l'ADN



III.D- DÉGRADATION DE CDT1 & GEMININ

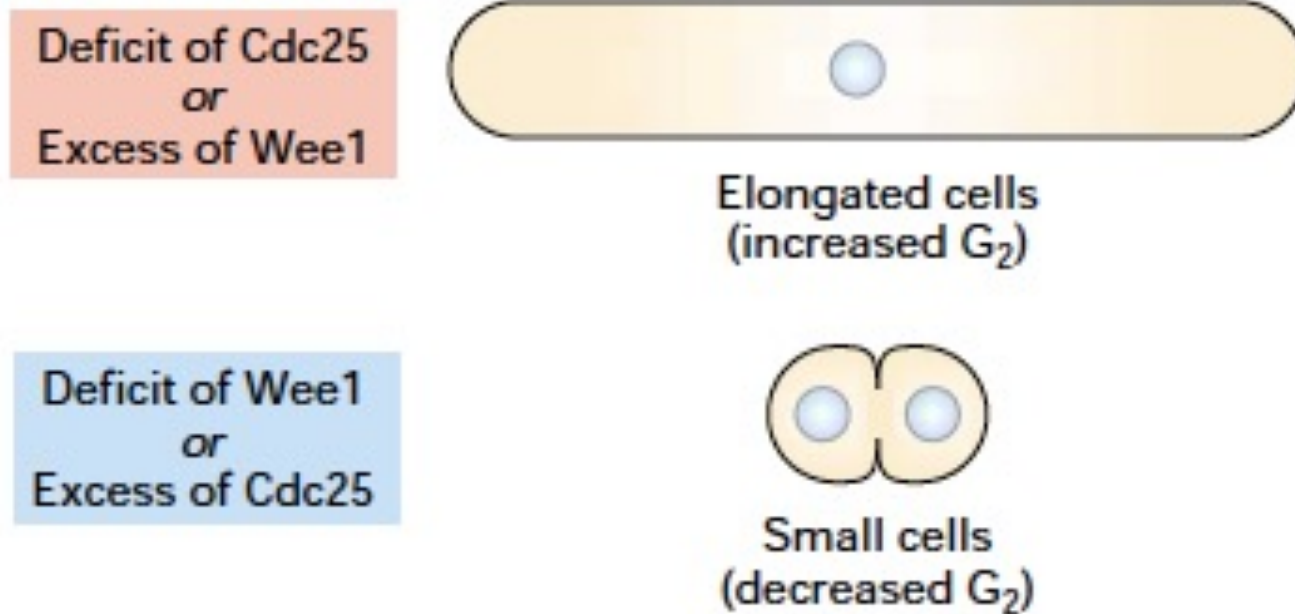


FUCCI (Fluorescent Ubiquitination-base Cell Cycle Indicator)

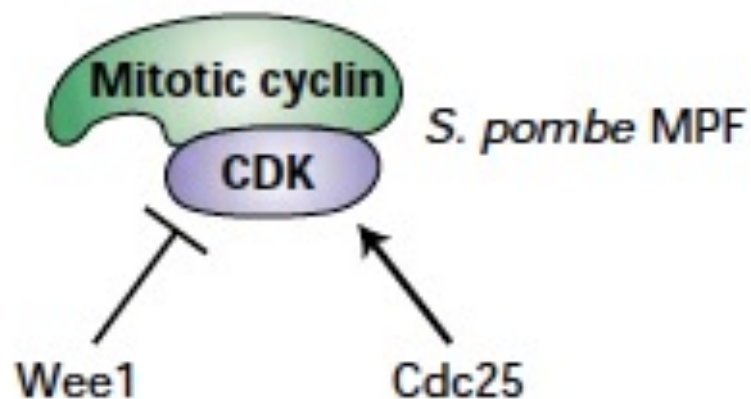


III.E- LE COMPLEXE CYCLINE B/ CDK1 ET LA TRANSITION G2/M

Etude chez *S.pombe*



Lodish,, Mol.Cell. Biol, 5thed



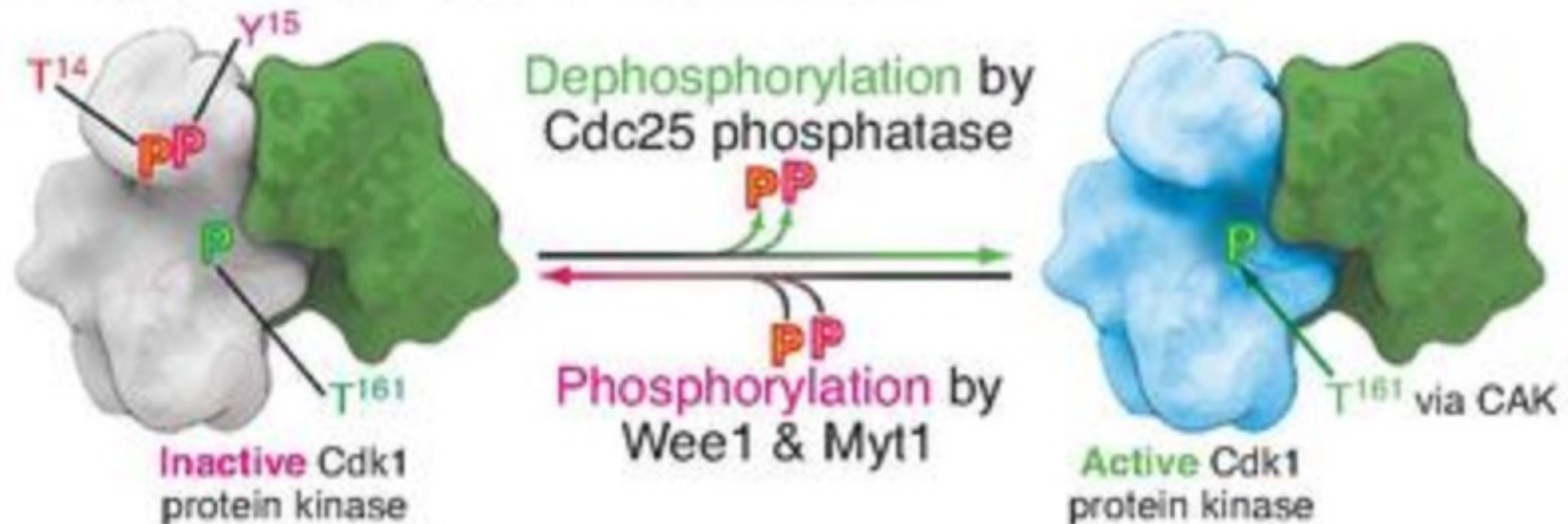
III.E- LE COMPLEXE CYCLINE B/ CDK1 ET LA TRANSITION G2/M

❖ Régulation du complexe

- Cycline B : synthèse en S et dégradation à la fin de la mitose
- Régulation par phosphorylation-déphosphorylation de CdK

A retenir !

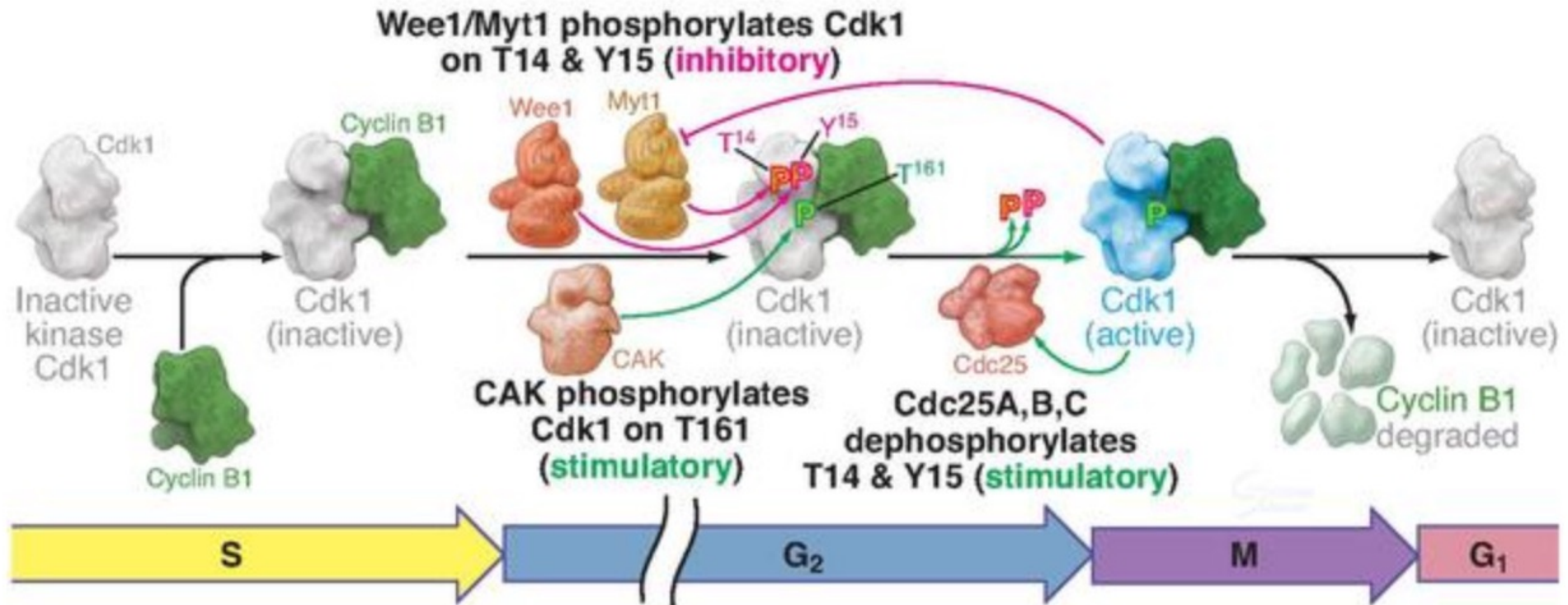
A. G₂: Cdk1 poised for activation



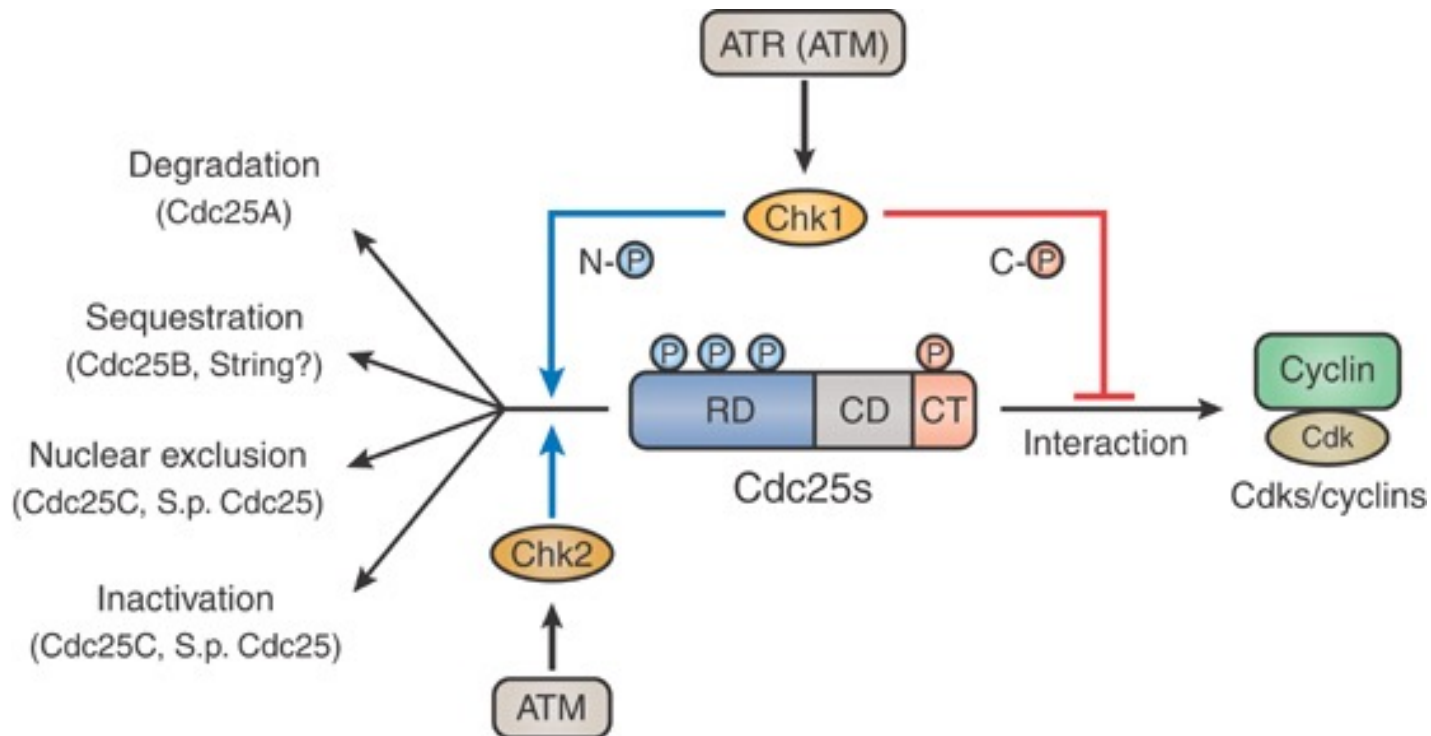
III.E- LE COMPLEXE CYCLINE B/ CDK1 ET LA TRANSITION G2/M

❖ Régulation du complexe

- Cycline B : synthèse en S et dégradation à la fin de la mitose
- Régulation par phosphorylation-déphosphorylation de CdK



La persistance de molécules d'ADN simple brins ou la présence de dommages de l'ADN en phase G2 du cycle conduit à l'inhibition des phosphatases Cdc25 et empêche l'activation des complexes Cyclines M/CDK1



III.E- LE COMPLEXE CYCLINE B/ CDK1 ET LA TRANSITION G2/M

❖ Cibles du complexe Cycline B-Cdk1

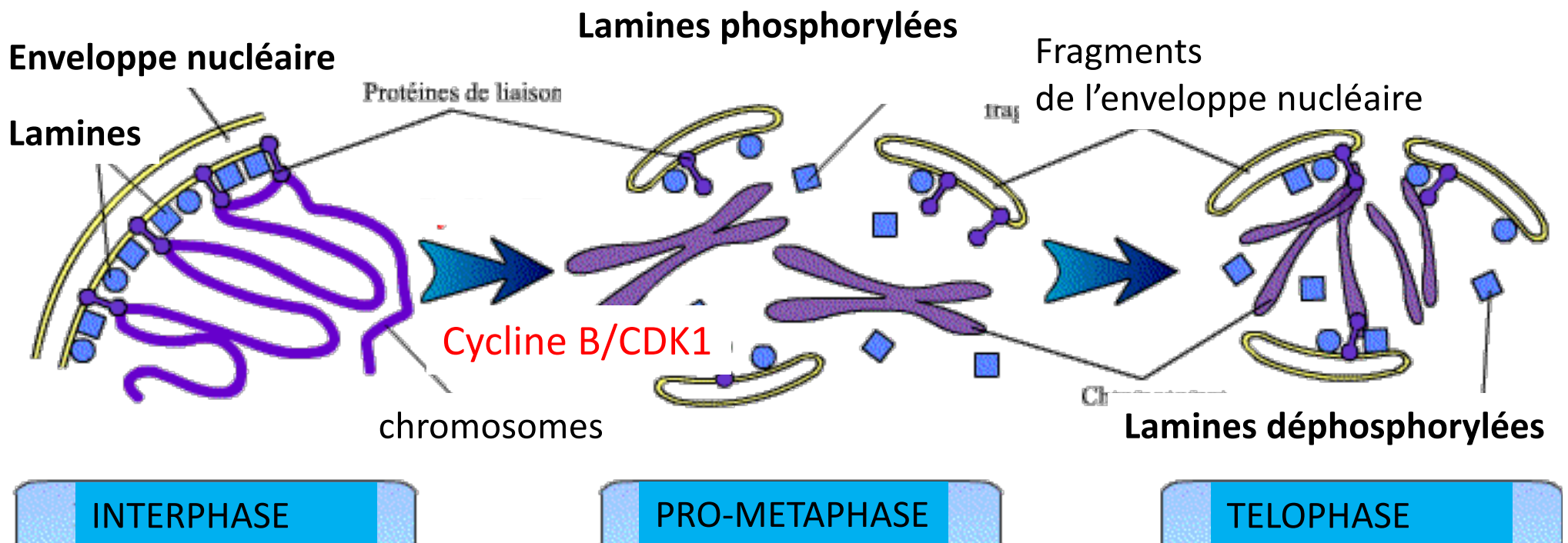
A retenir !

- Séparation des centrosomes
- Condensation de l'ADN: phosphorylation des condensines et des histones
- Rupture de l'enveloppe nucléaire : phosphorylation des protéines des pores nucléaires et des lamines nucléaires
- Changement de la dynamique des microtubules : phosphorylation de protéines associées aux microtubules
- Phosphorylation du complexe APC/C (Anaphase Promoting Complex) : complexe ubiquitine –ligase.
APC/C actif permet la progression de la mitose (dégradation de la sécurine, des cyclines A et B , dégradation de Geminin)

III.E- PHOSPHORYLATION DES LAMINES ET RUPTURE DE L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE

- Rupture de l'enveloppe nucléaire : phosphorylation des protéines des pores nucléaires et des lamines nucléaires

A retenir !

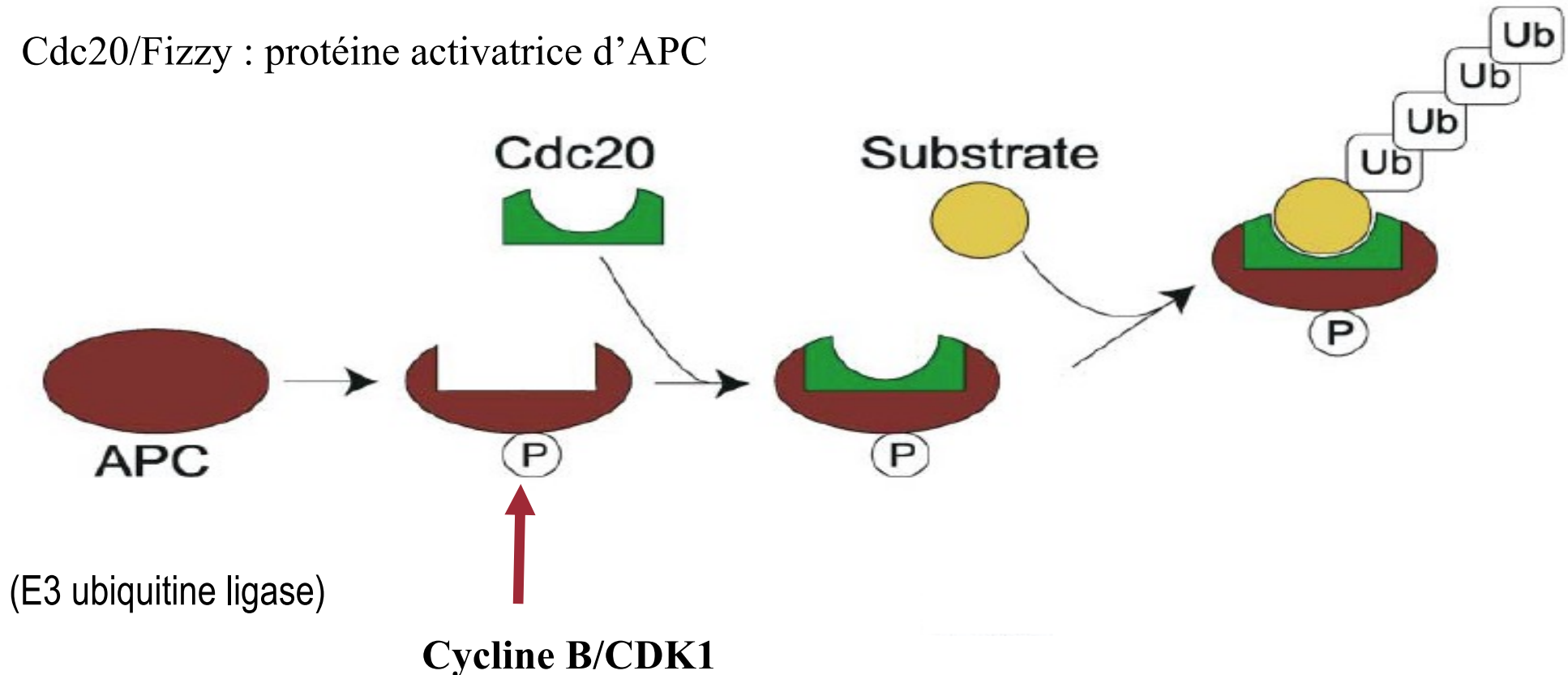


IIIA-PHOSPHORYLATION ET ACTIVATION DU COMPLEXE APC/C

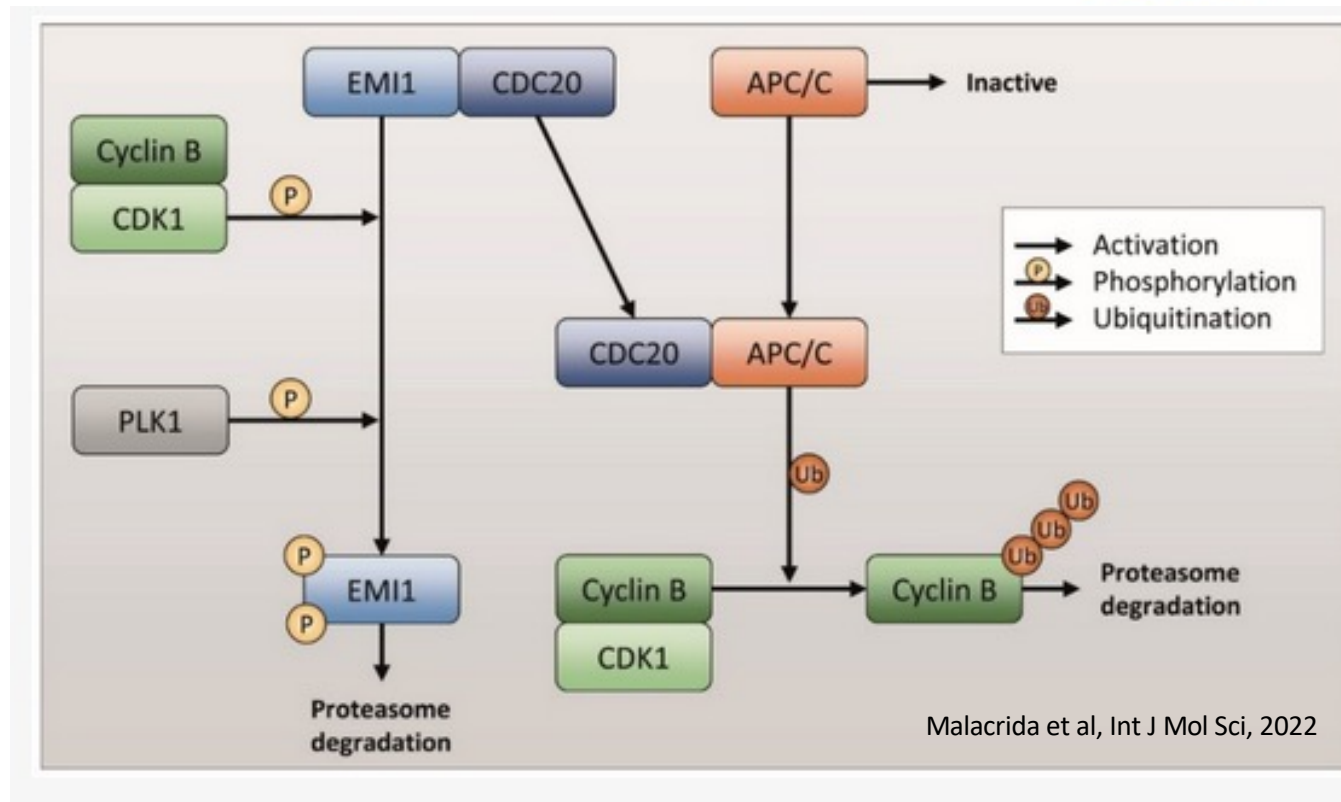
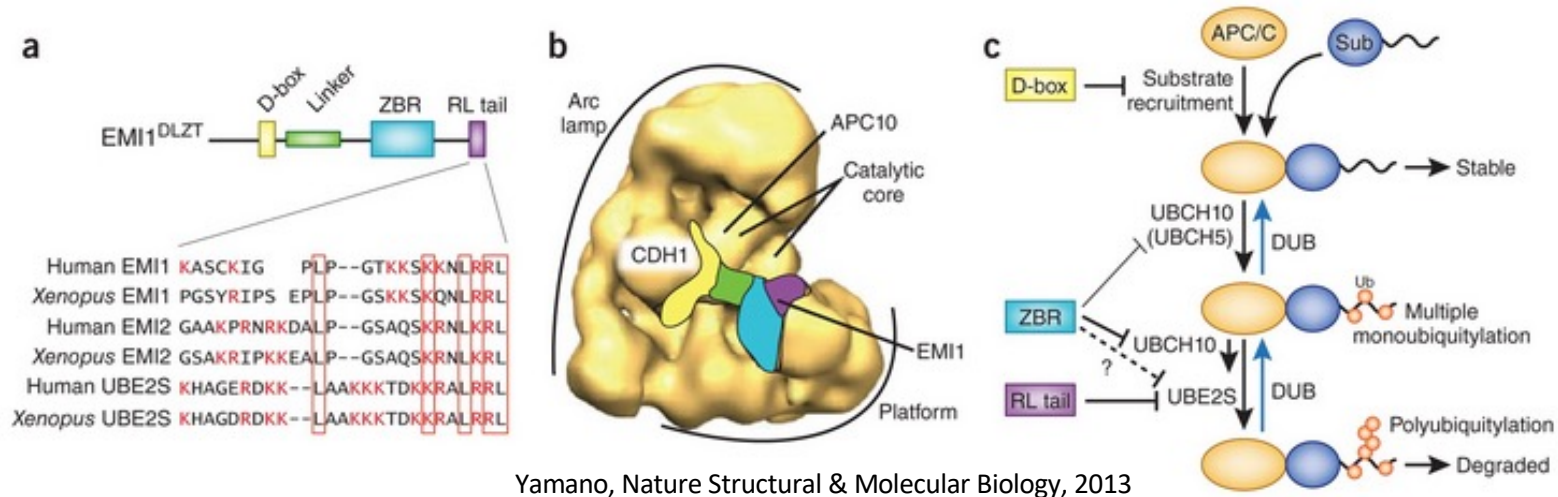
A retenir !

Activation du complexe APC

Cdc20/Fizzy : protéine activatrice d'APC



III.E- PHOSPHORYLATION D'EMI1 ET ACTIVATION DU COMPLEXE APC/C



III.E- ACTIVATION DU COMPLEXE APC/C ET TRANSITION G2/M

L'activation du complexe APC/C permet le déclenchement de l'anaphase et la sortie de Mitose

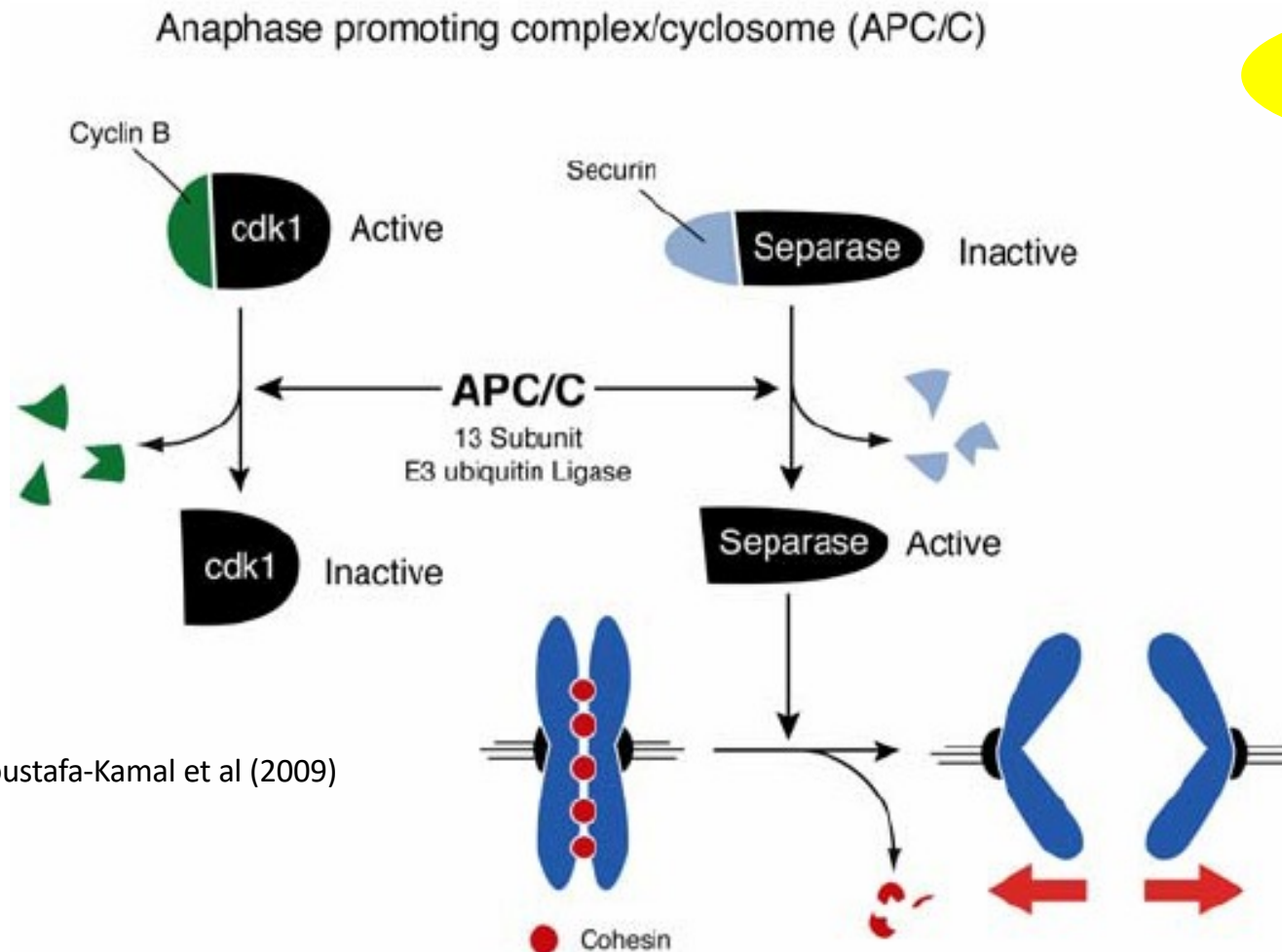


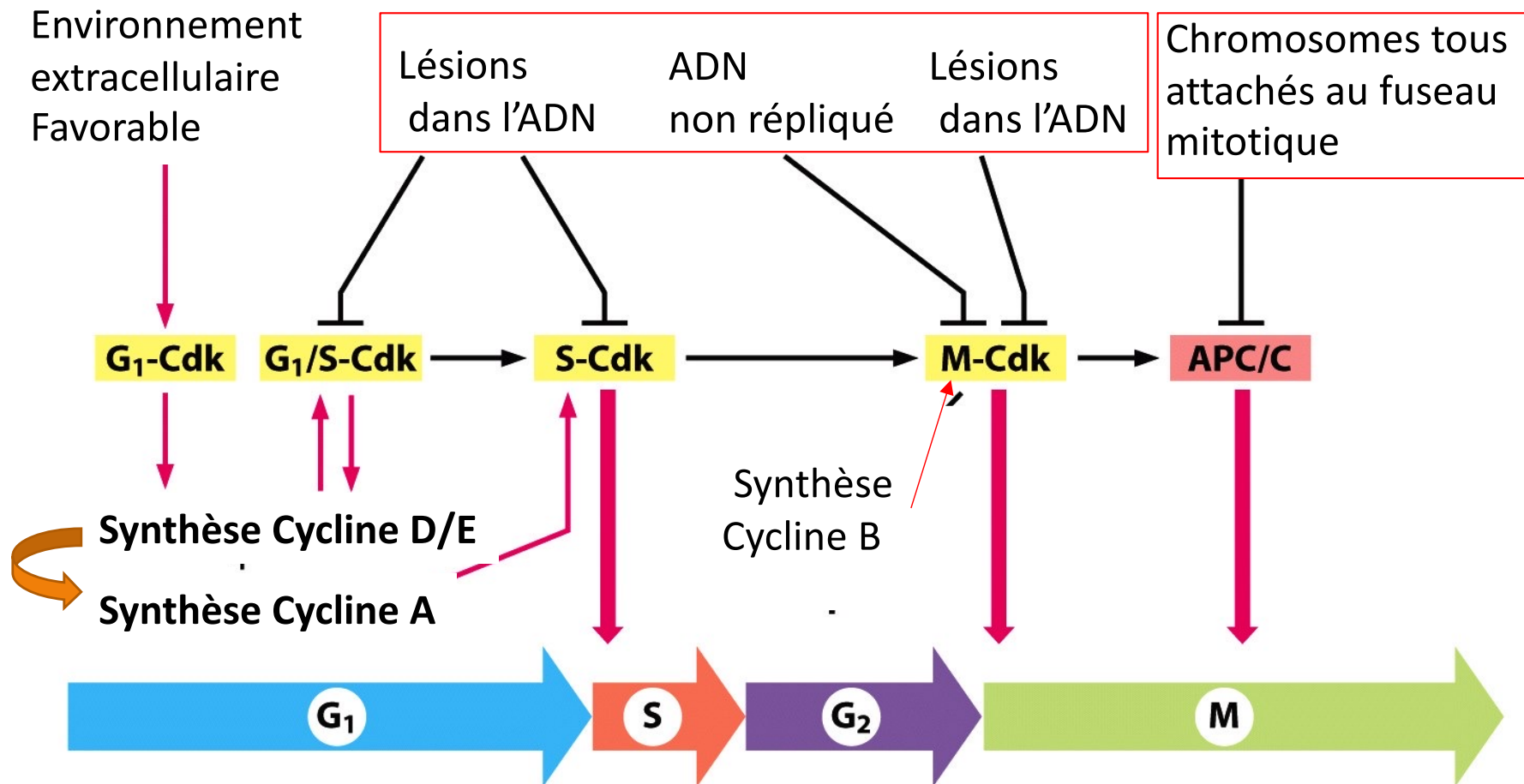
Illustration de Moustafa-Kamal et al (2009)

Remarque: L'inactivation du complexe Cyclin B/Cdk1 suite à la dégradation de la Cyclin B par le complexe APC/C va entraîner la sortie de la Mitose en permettant par exemple la déphosphorylation des lamines et la reformation de l'enveloppe nucléaire

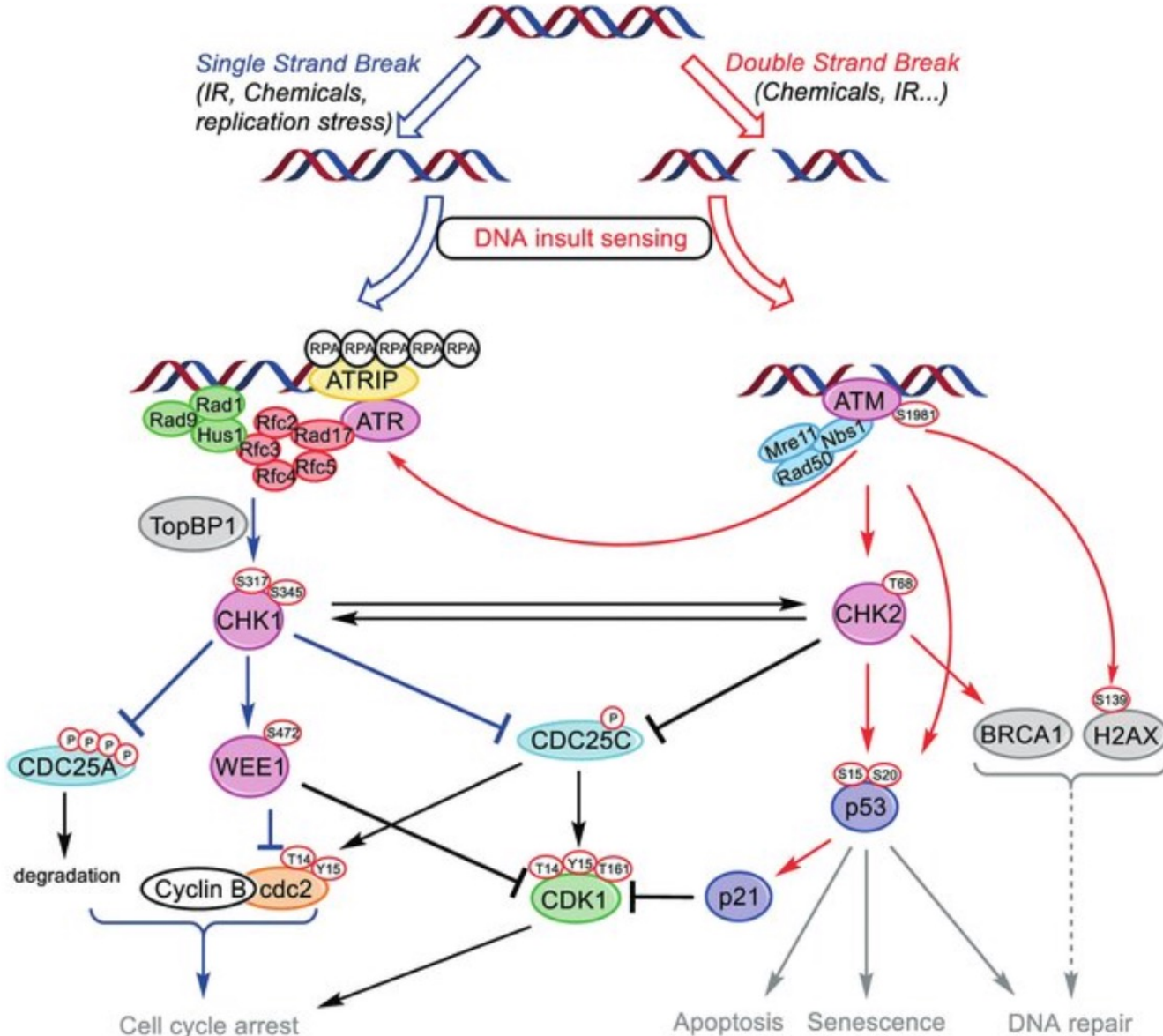
IV- MÉCANISMES DE SURVEILLANCE DU CYCLE CELLULAIRE

IV-MECANISMES DE SURVEILLANCE

A retenir !



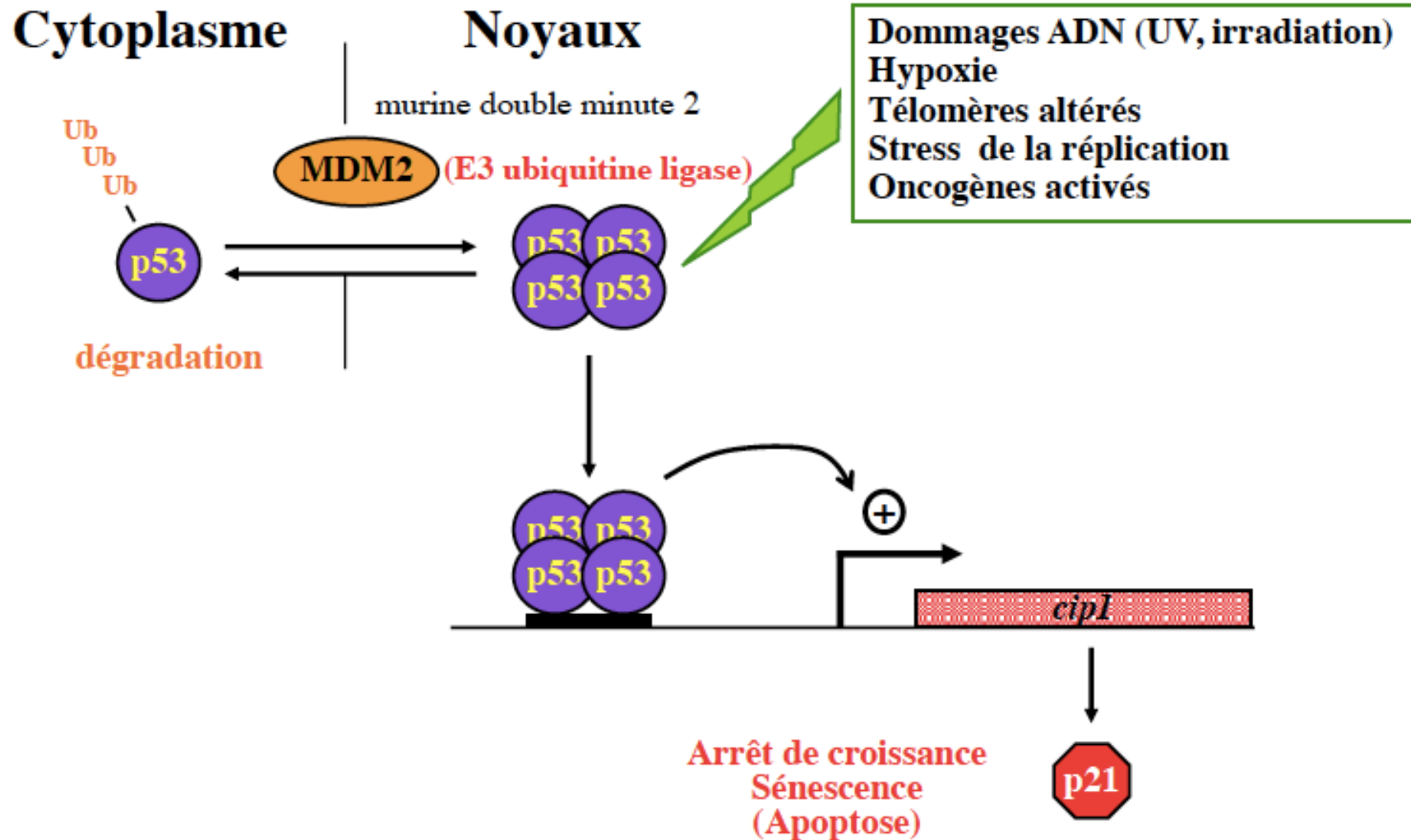
IV-A VOIES DES DOMMAGES DE L'ADN



IVA-DOMMAGES DE L'ADN ET ACTIVATION DE P53

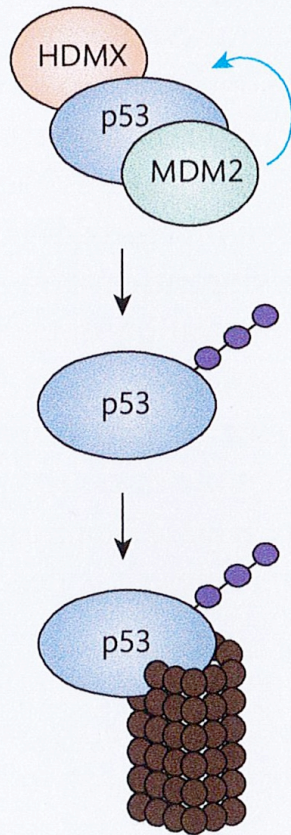
- ❖ Mécanismes intervenant lors de lésions de l'ADN :
stabilisation de la protéine p53 et induction de p21

A retenir !

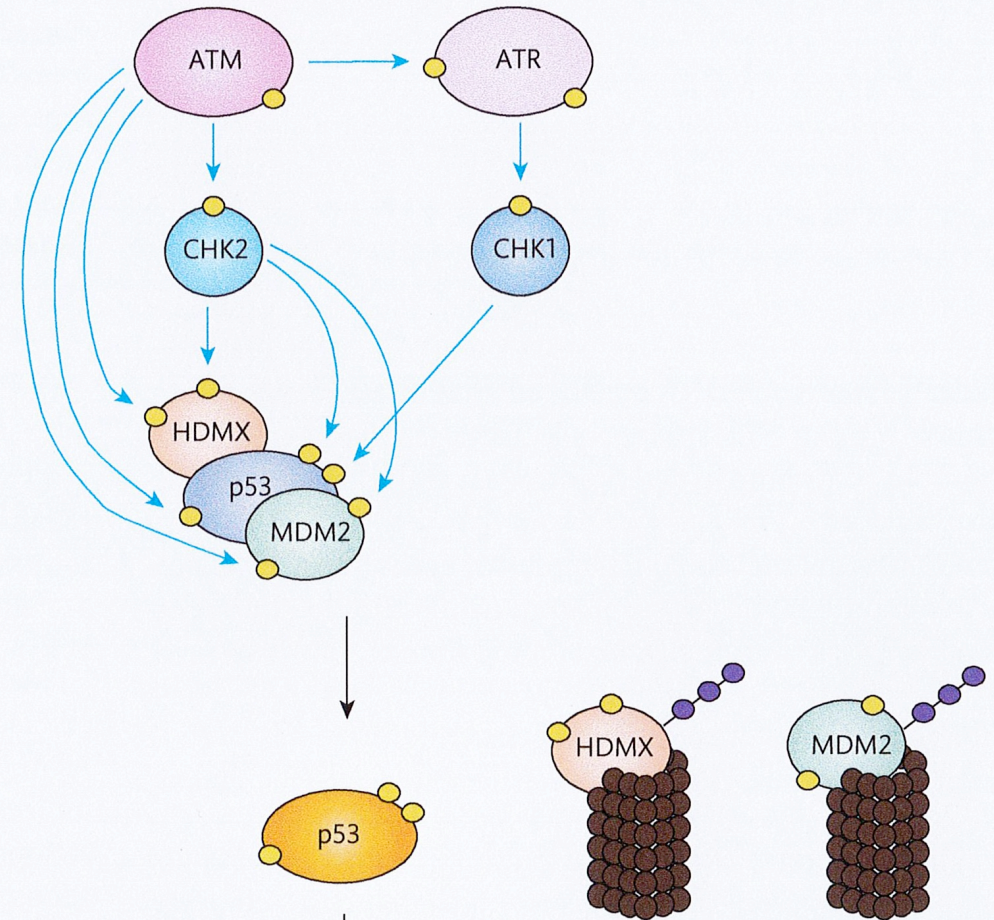


IVA-DOMMAGES DE L'ADN ET ACTIVATION DE P53

Unstressed condition

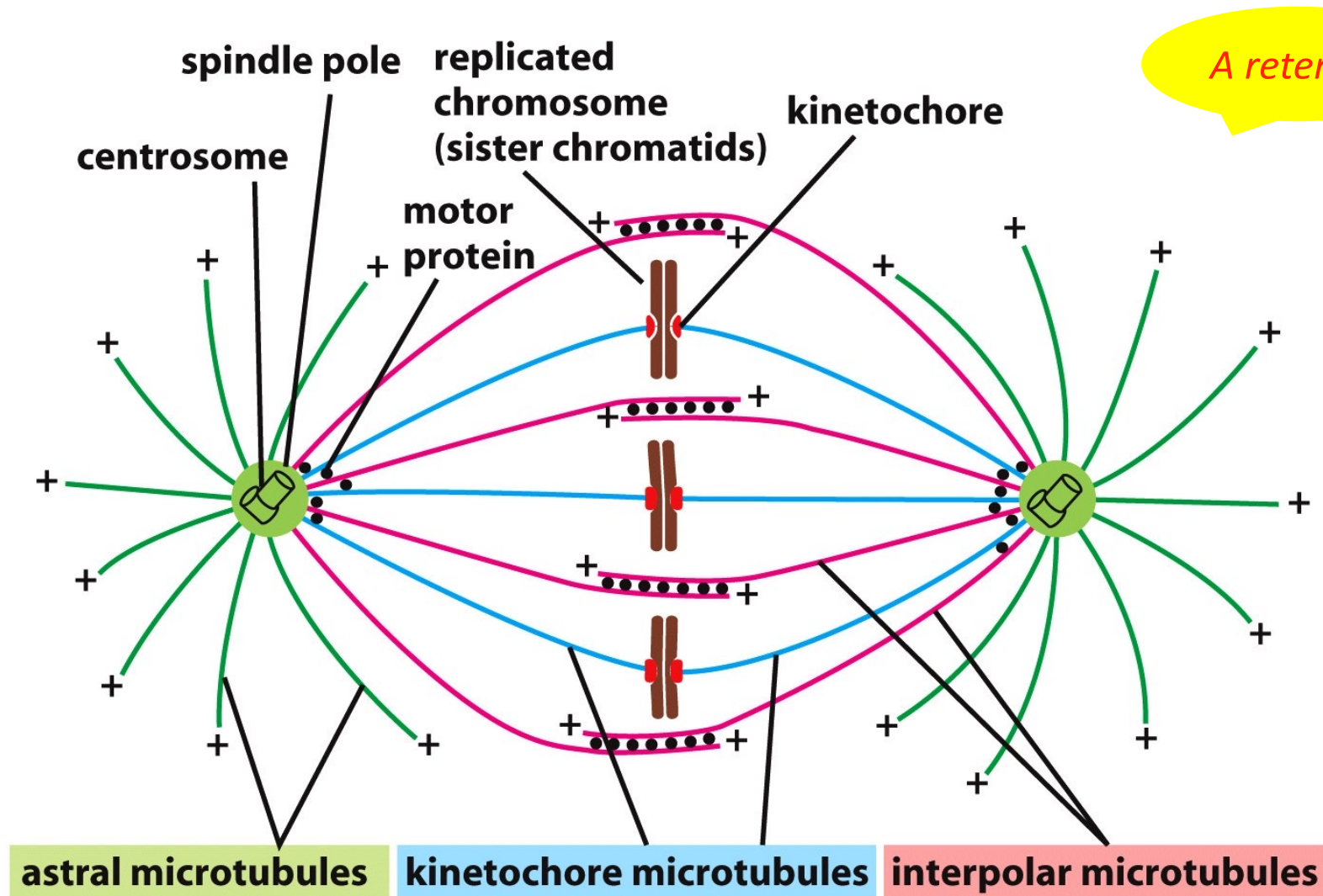


DNA damage condition



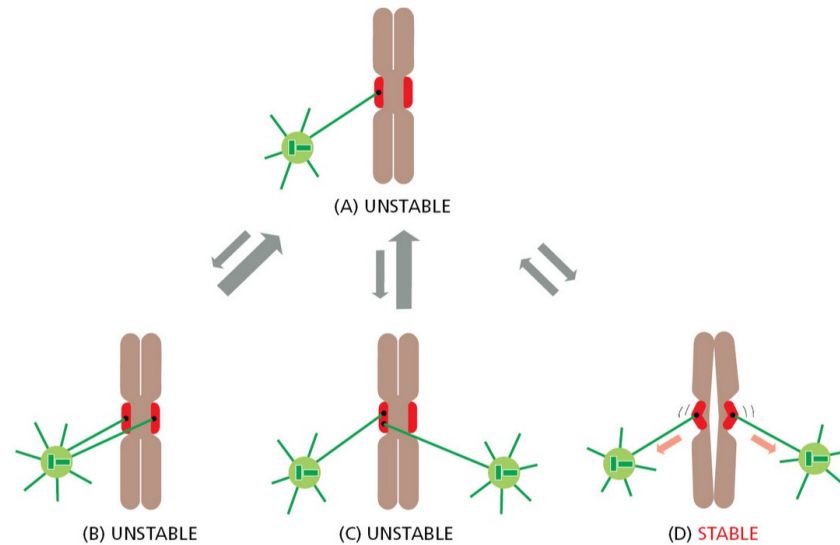
IV.B - POINT DE CONTRÔLE DU FUSEAU MITOTIQUE SAC (Spindle Assembly Checkpoint)

La transition métaphase / anaphase requiert l'attachement correct de toutes les chromatides sœurs au fuseau mitotique

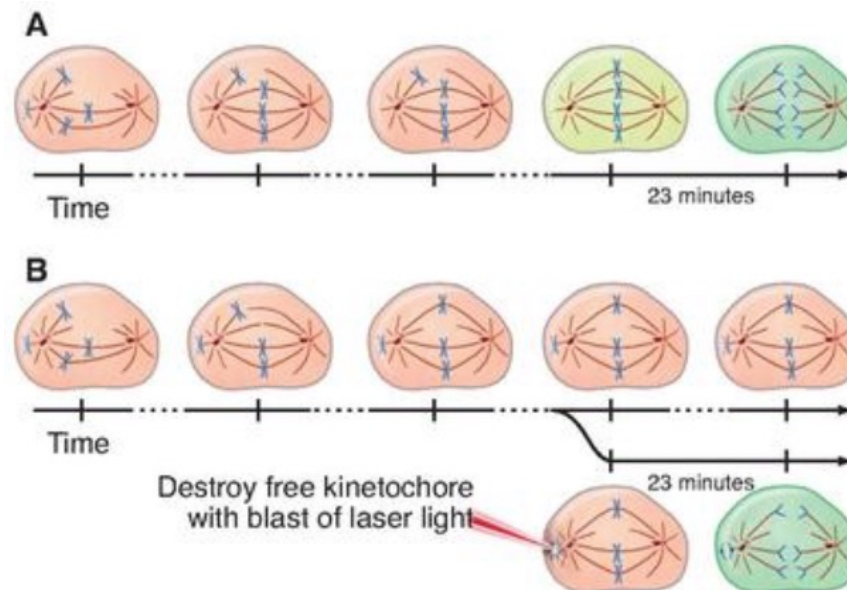


IV.B - POINT DE CONTRÔLE DU FUSEAU MITOTIQUE

1/ Rôle de la tension

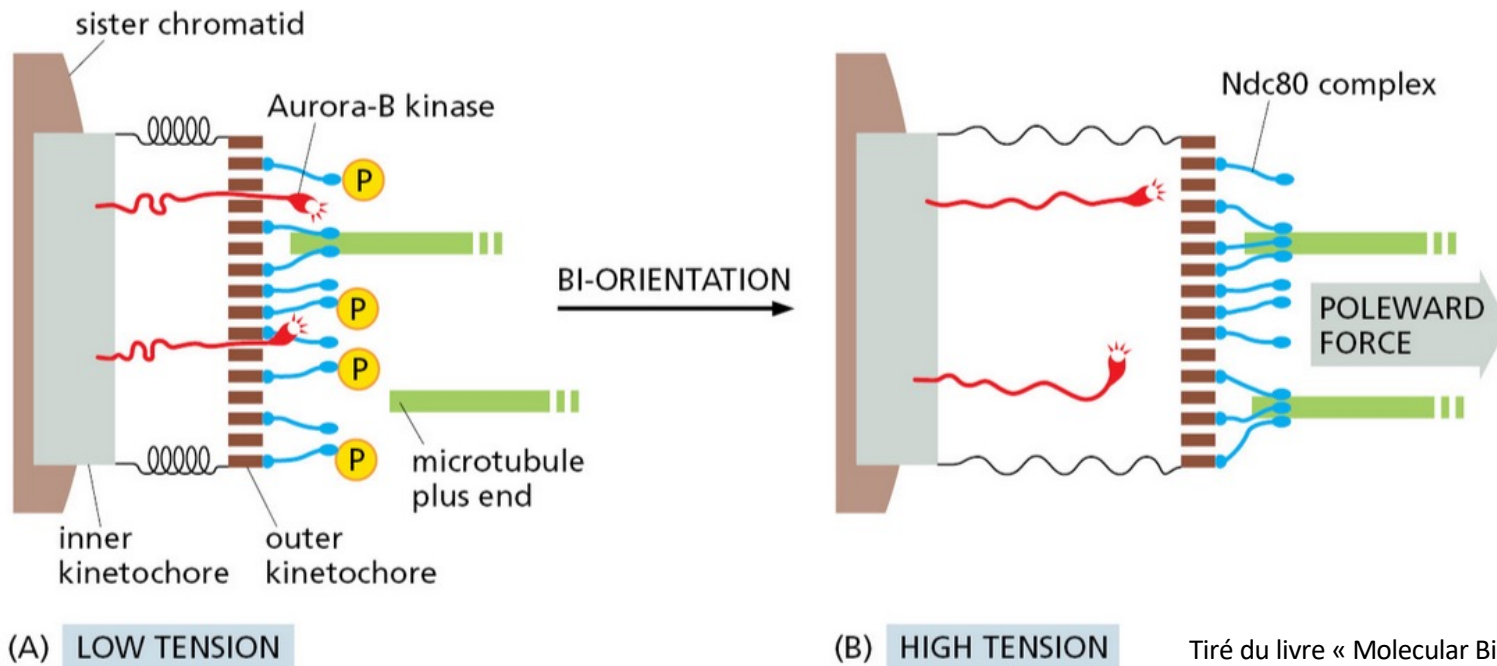
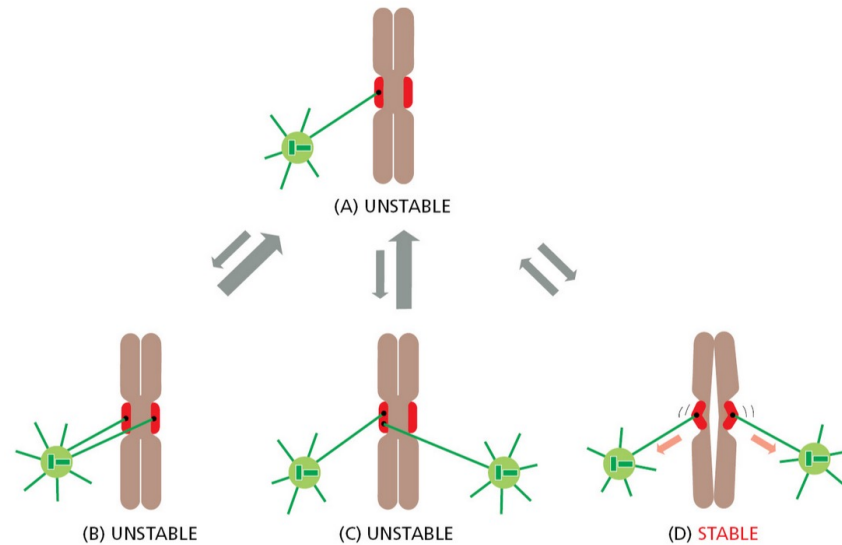


2/ Rôle d'un signal inhibiteur produit par les kinétochores libres



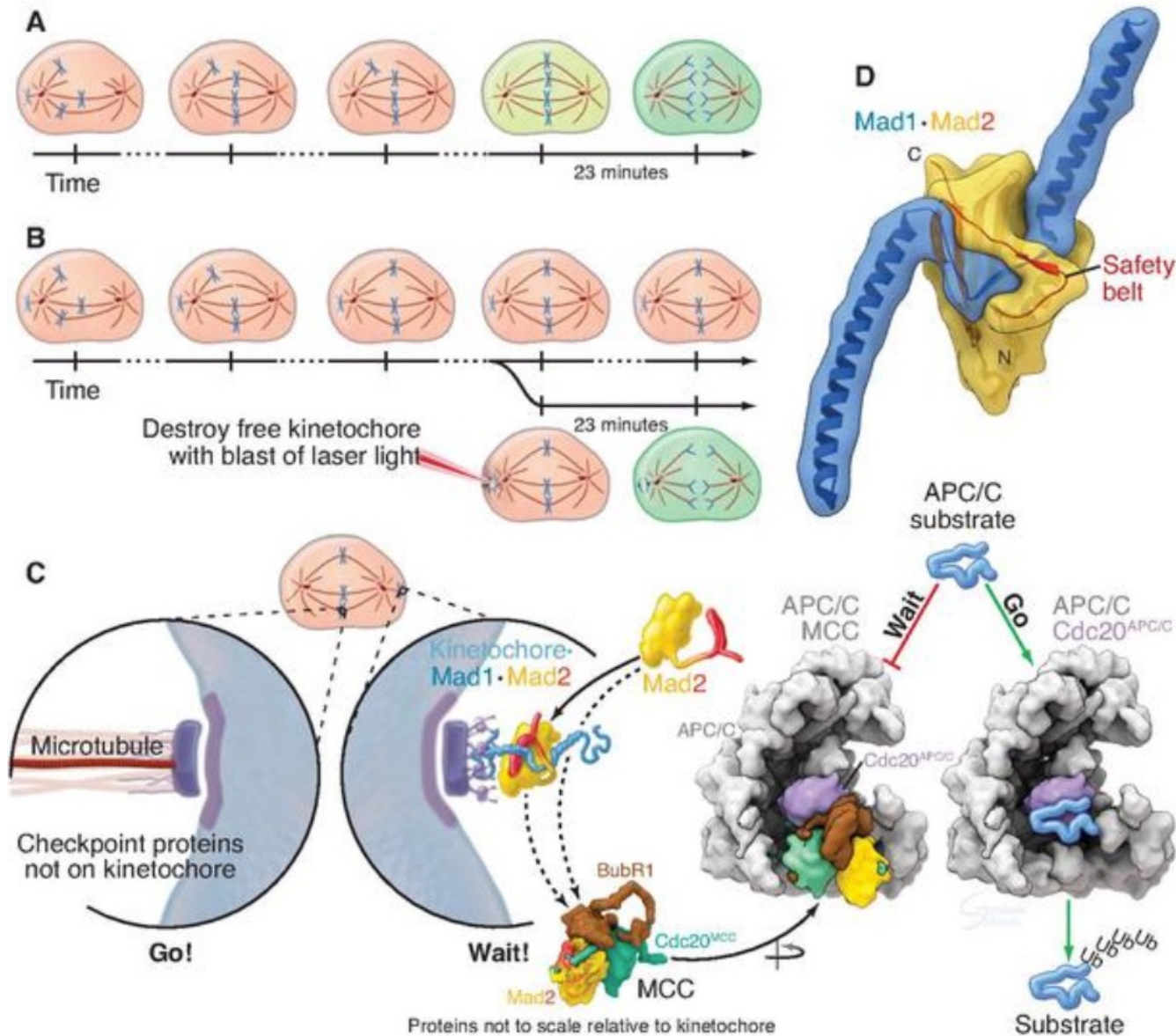
IV.B - POINT DE CONTRÔLE DU FUSEAU MITOTIQUE

1/ Rôle de la tension



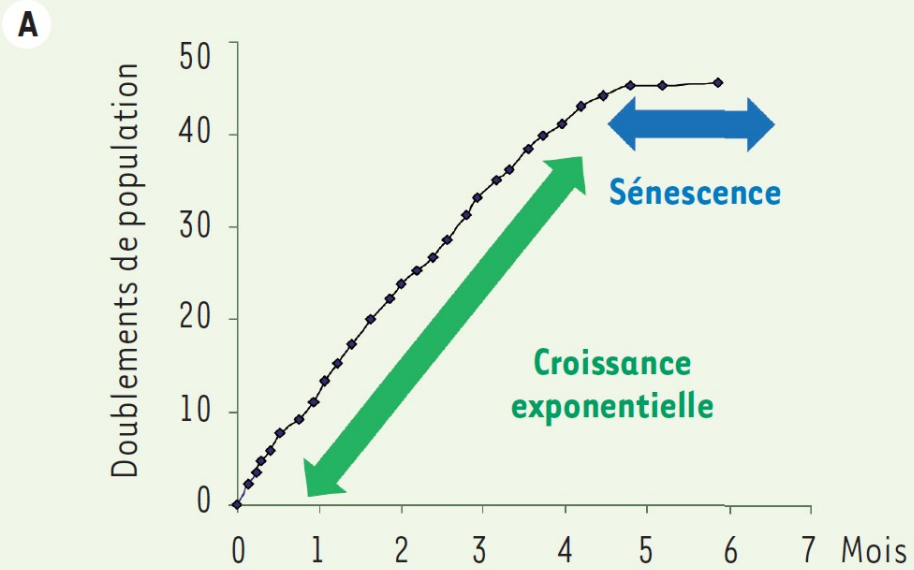
IV.B - POINT DE CONTRÔLE DU FUSEAU MITOTIQUE

2/ Rôle du complexe MCC (Mitotic Checkpoint Complex)

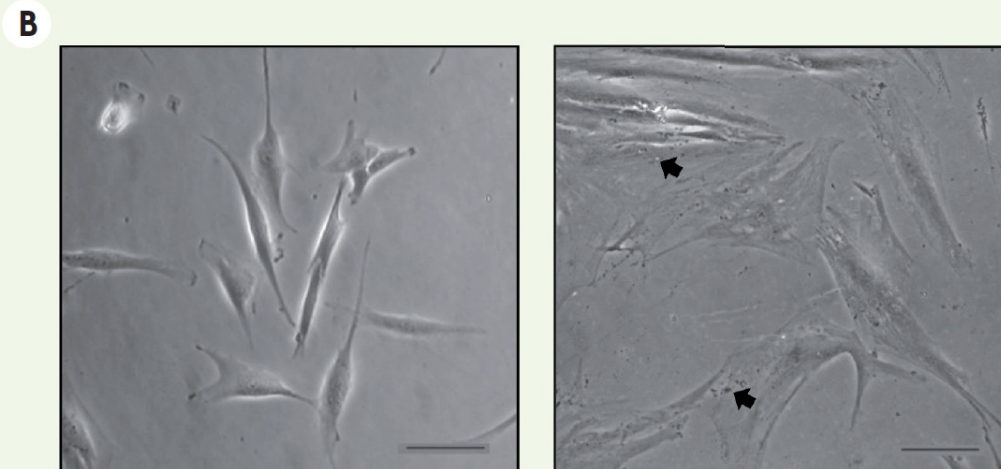


V-LA SÉNESCENCE CELLULAIRE

V- LA SENESCENCE



Fibroblastes
de derme humain
en culture



Fibroblastes en phase
de croissance

Fibroblastes en
sénescence

Téломères et découverte d'une horloge moléculaire

Début du siècle 20e : On pensait que les cellules normales avaient un potentiel illimité à se diviser.

Trouver le milieu de culture approprié de cellules !

1960 : Cellules ont un mécanisme de comptage de divisions qu'on appelle la limite de Hayflick. Une horloge moléculaire ?

1990 : Calvin Harley et Carol Greider proposent que les télomères fonctionnent comme un horloge moléculaire

A– Principaux mécanismes inducteurs de la sénescence

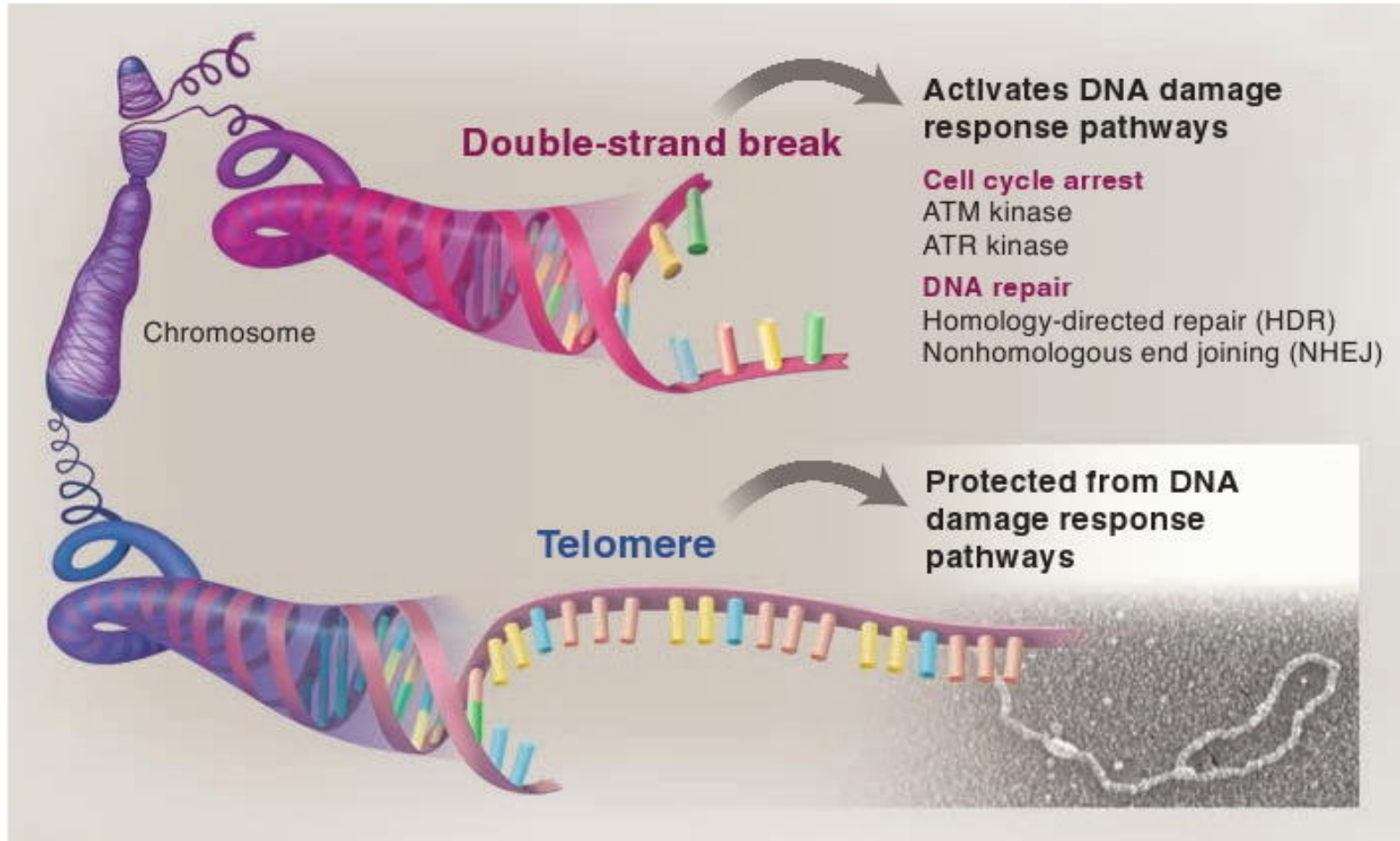
1– Raccourcissement des télomères

- les structures terminales des chromosomes,
- chez l'Homme : TTAGGG, répétées en tandem
- longueur moyenne: Homme 5-20kpb



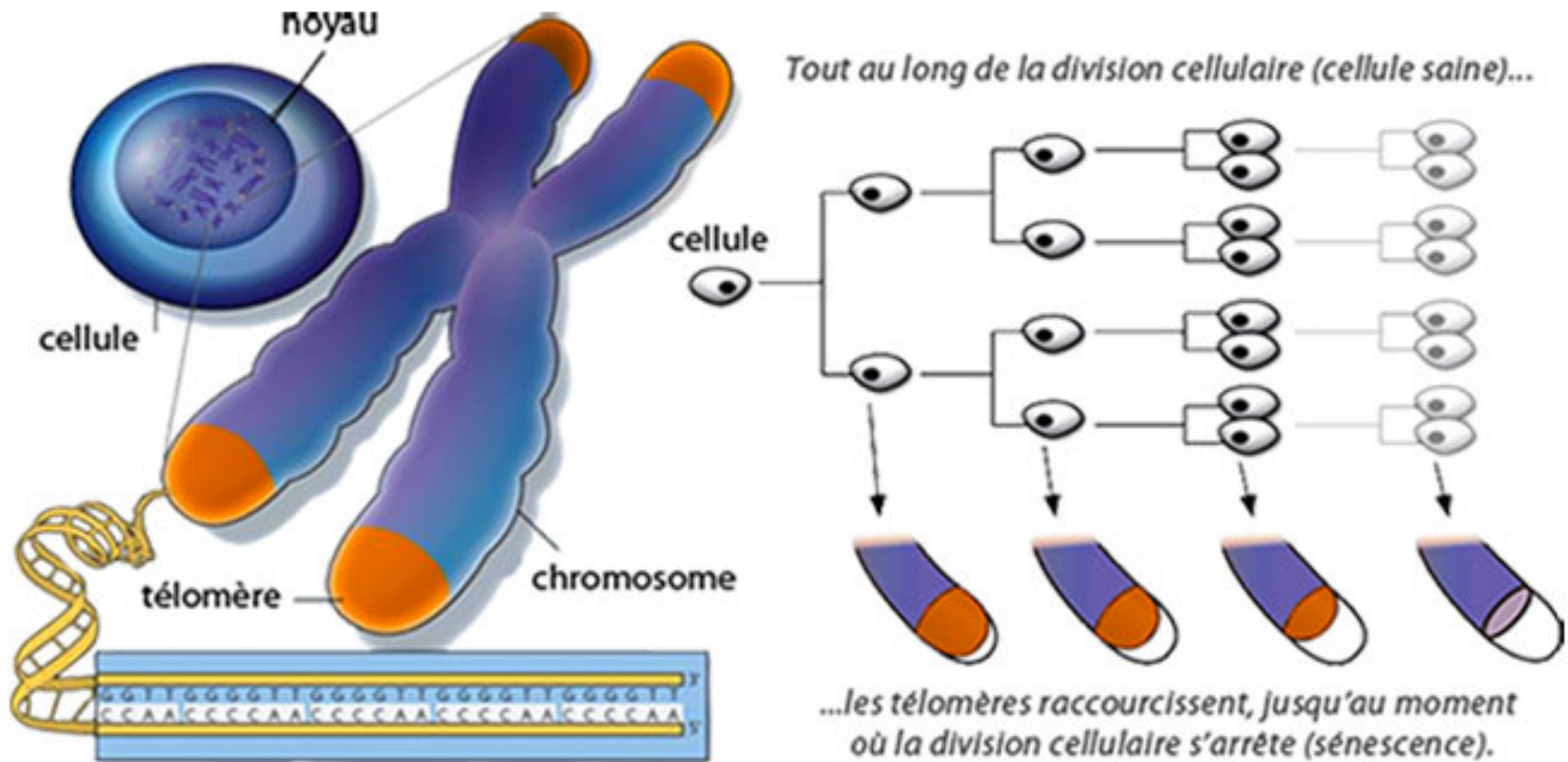
Les télomères protègent les extrémités des chromosomes

Les chromosomes linéaires se terminent par des structures appelées télomères
Les télomères sont des structures qui permettent de distinguer l'extrémité des chromosomes des cassures double-brins de l'ADN.

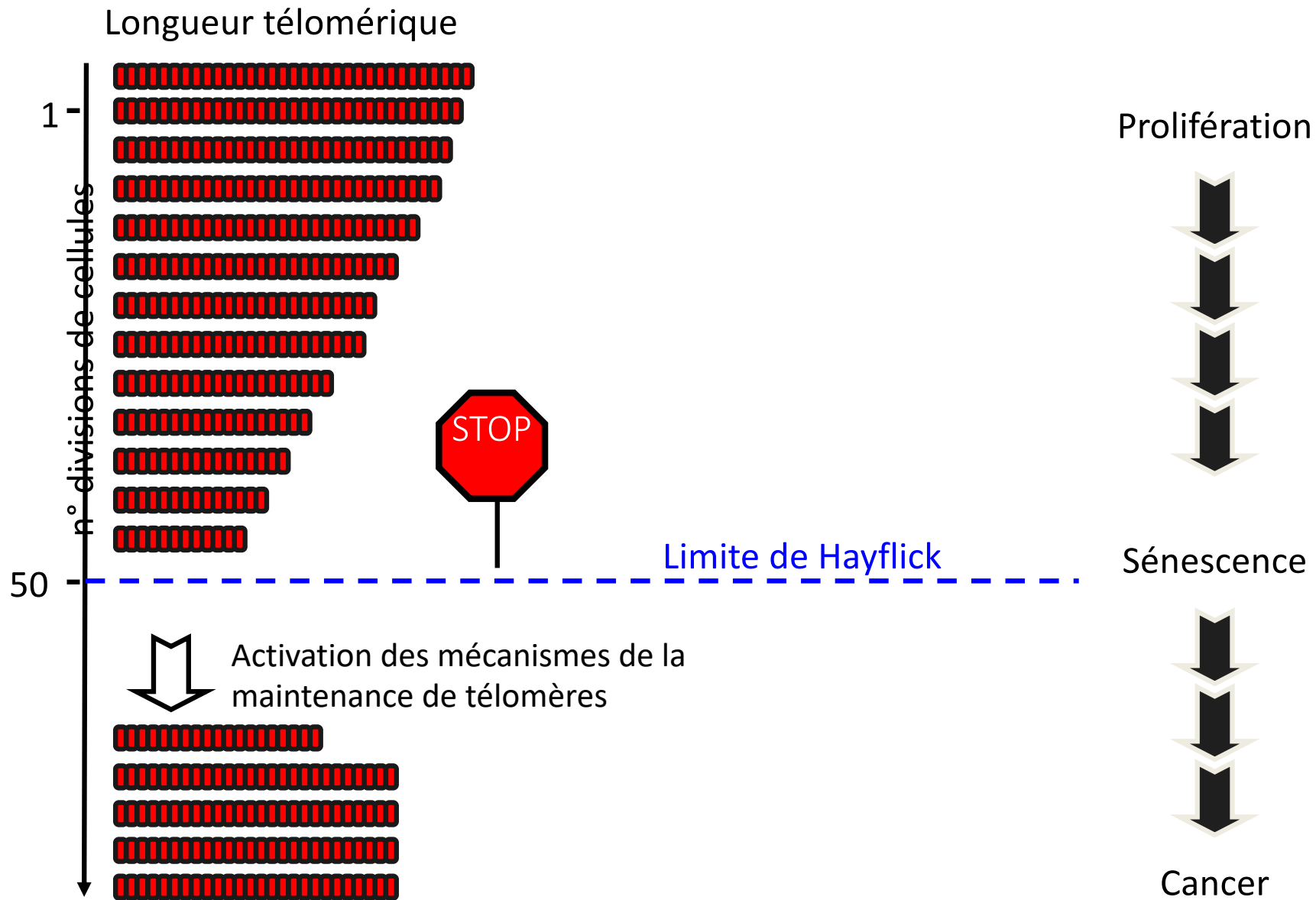


Fonction des télomères: Protéger l'extrémité des chromosomes des mécanismes de dégradation et réparation de l'ADN.

Raccourcissement des télomères au cours de divisions cellulaires

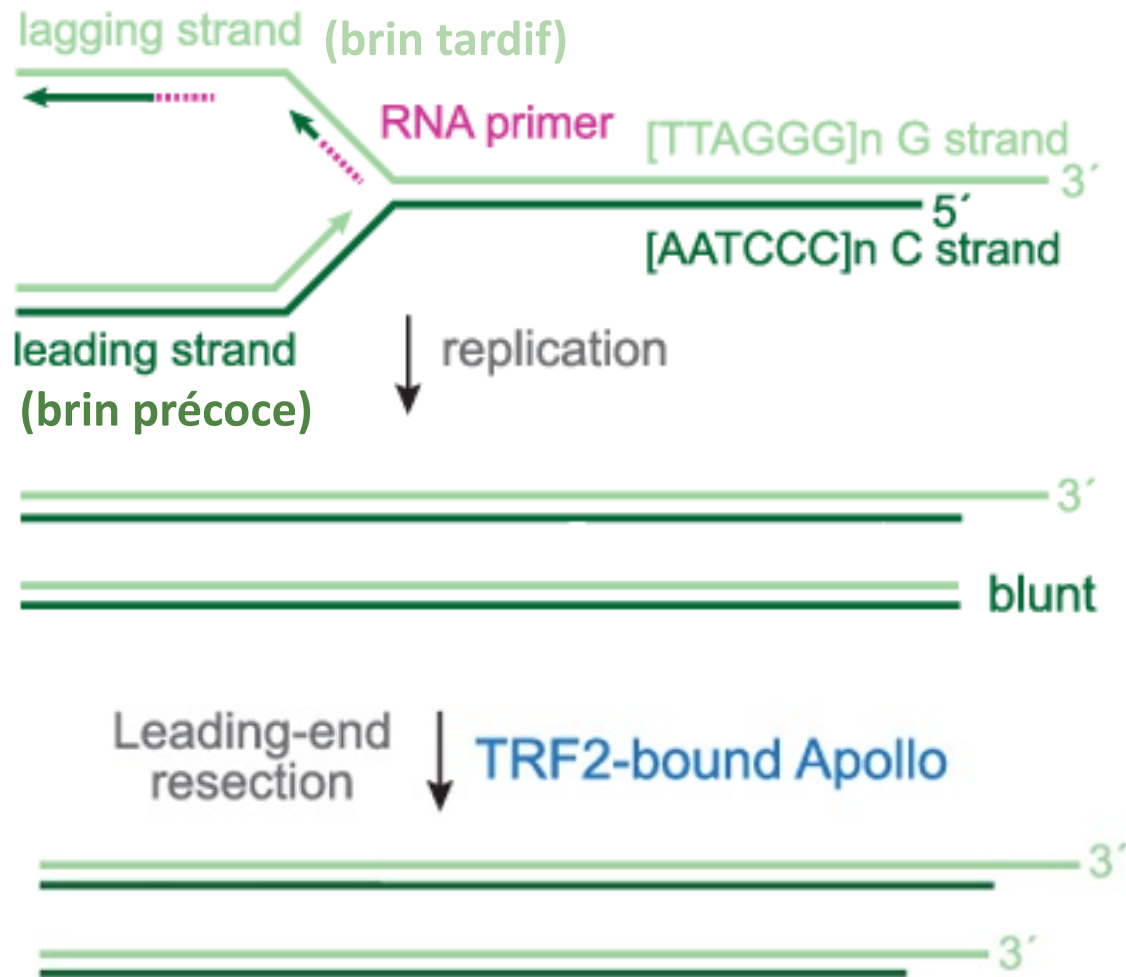


Téломères : horloge moléculaire



Réplication des télomères

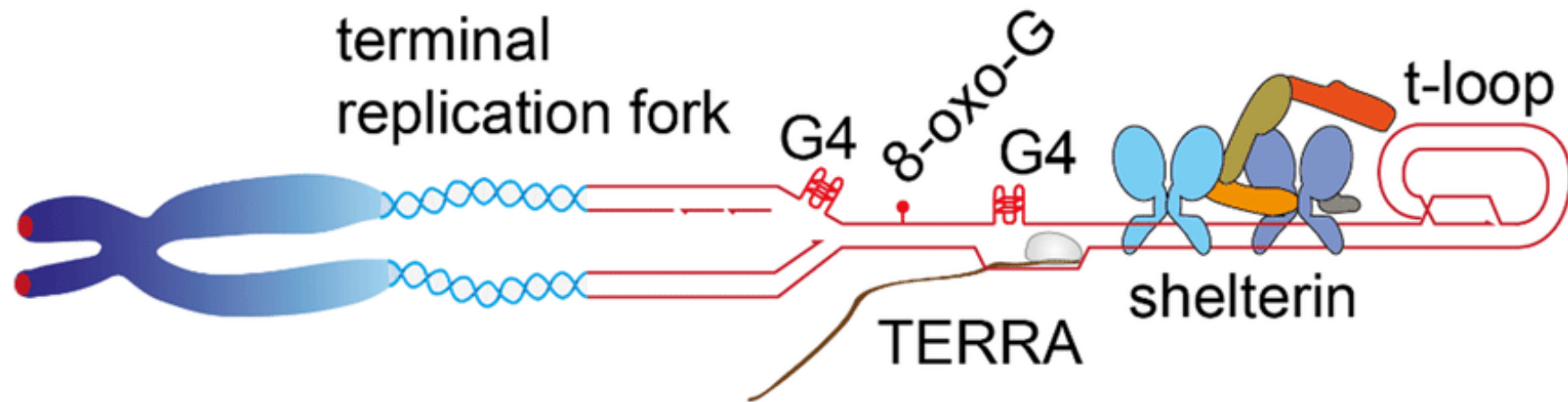
Telomere end-replication problem



La synthèse du brin discontinu est incomplète.

Téломères raccourcissent d'environ 25-50 pb par cycle cellulaire.

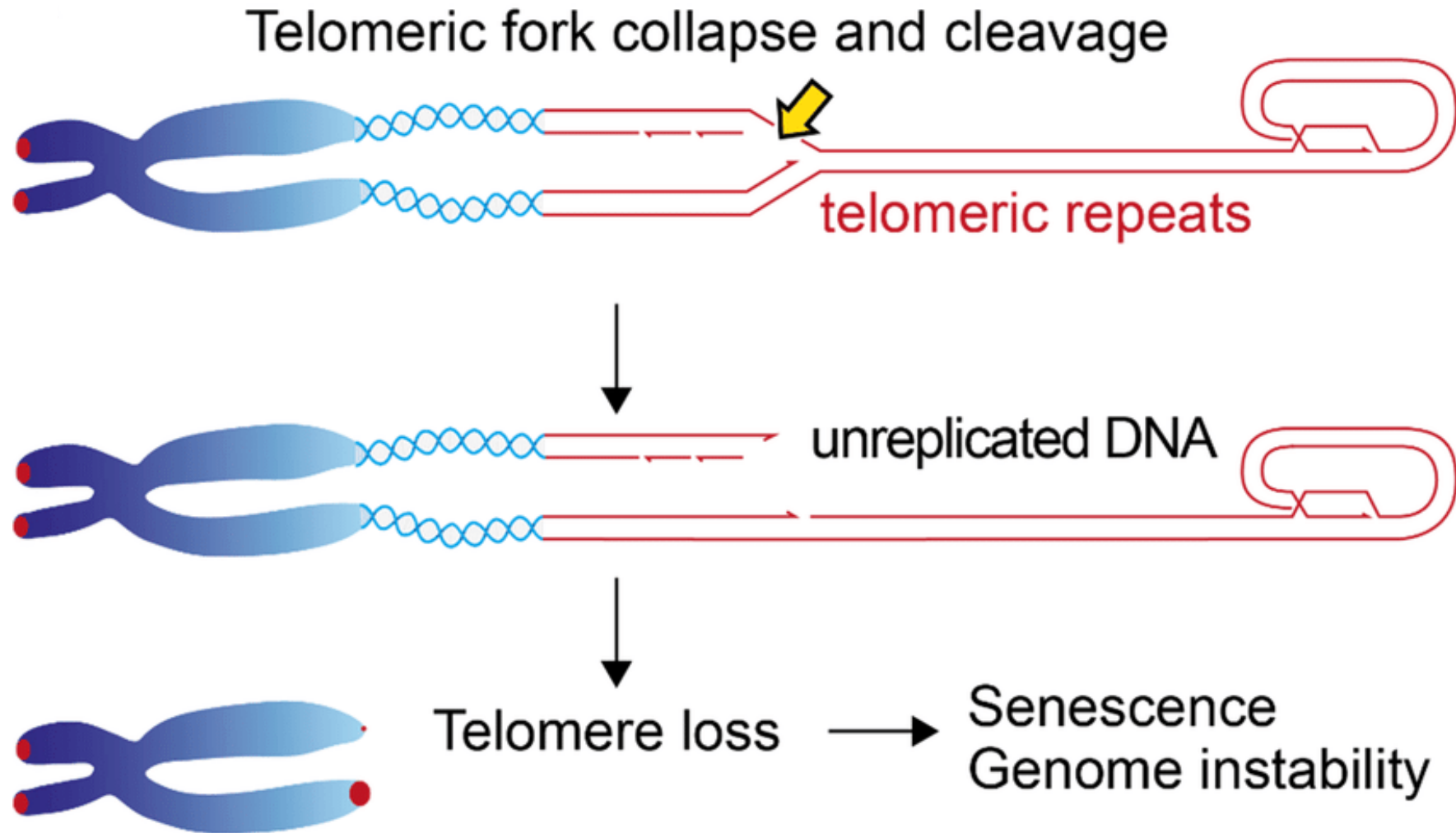
La réplication des télomères est difficile



Telomères sont des séquences répétitives et G-riche
Présence des structures secondaires: G-quadruplex, t-loop
Présence du shéltérin
Présence de TERRA

→ Collapse de la fourche

Collapse de la fourche et le raccourcissement télomérique brusque



Maintenance des télomères

Maintenance des télomères

Télomères sont maintenues dans les cellules :

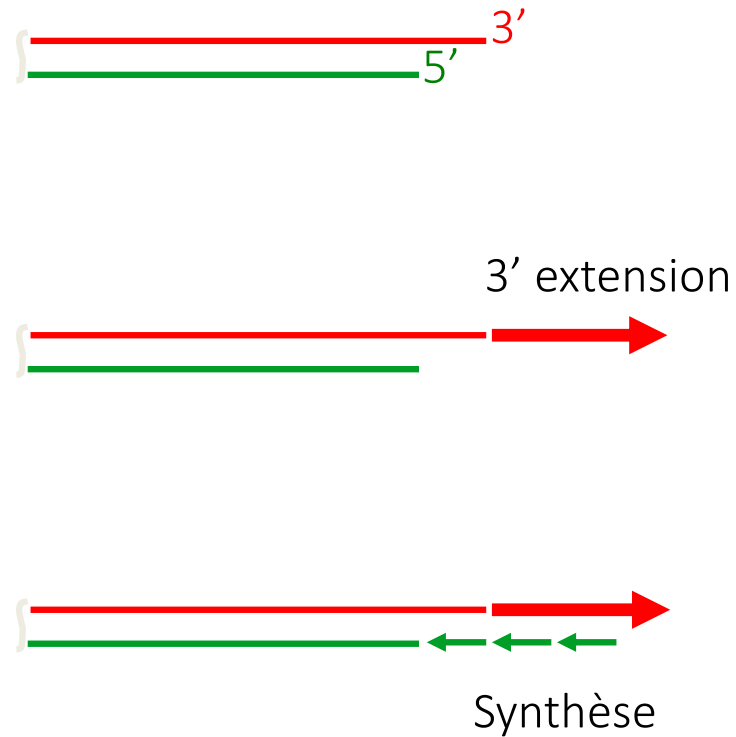
- embryonnaires
- souches
- des organes qui se renouvèlent
(peau, tract digestive, sang)
- cancéreuses

Maintenance de télomères est assurée par :

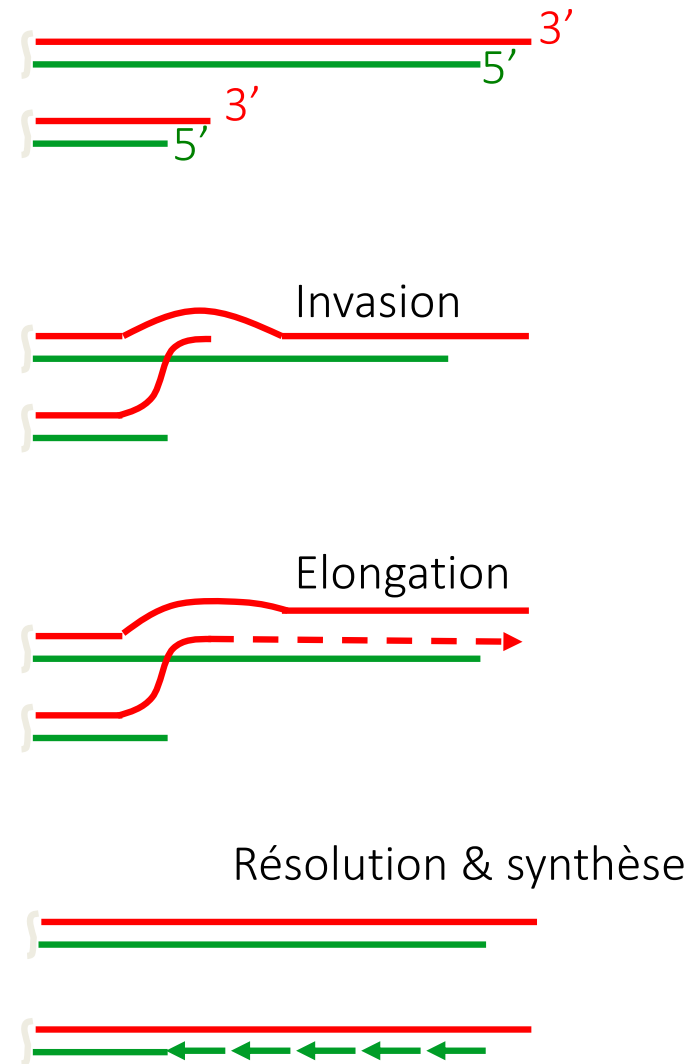
- Haute efficacité de la réplication
- Elongation des télomères (courts?)
 1. mécanisme principale : la télomérase
 2. mécanisme alternatif : recombinaison
 3. sans mécanisme

Mécanismes d'élongation de télomères

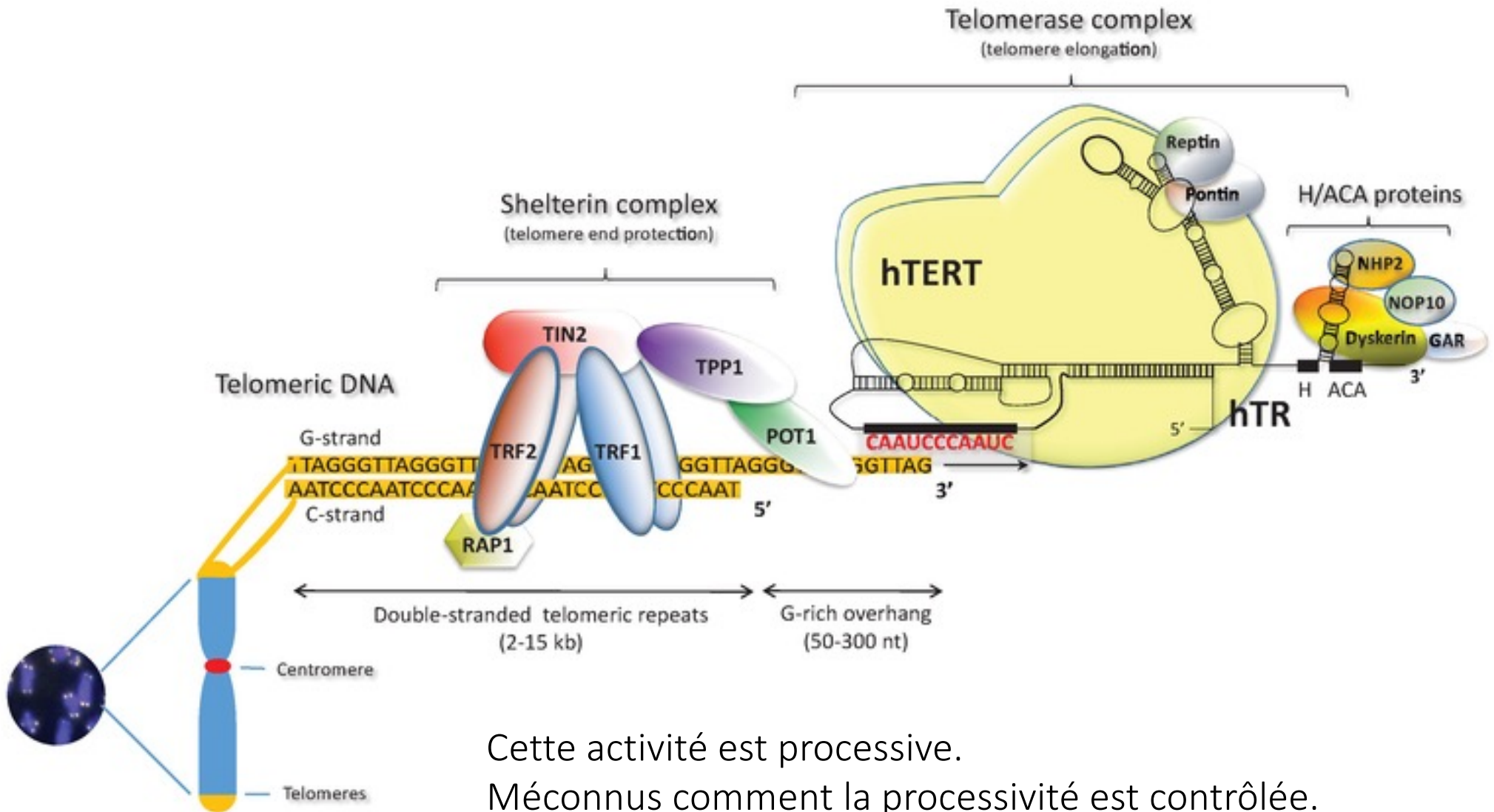
A. Télomérase



B. Recombinaison (ALT)



Téломérase est une reverse transcriptase qui allonge les télomères par 6 nt à la fois



Cette activité est processive.
Méconnus comment la processivité est contrôlée.

II– Principales caractéristiques des cellules sénescentes

2A – Arrêt irréversible du cycle cellulaire

Par accumulation des inhibiteurs de cycline **p21WAF1/Cip1** (CDKN1A) et **p16INK4A** (CDKN2A), qui entraînent une activation permanente de pRB et l'inhibition de E2F.

2B – Sécrétion associée à la senescence (SASP)

Cytokines pro-inflammatoires, facteurs modulant la croissance,
Diffusion paracrine qui stimule la sénescence des cellules voisines et la destruction des cellules sénescentes.

2C – Dommages aux macromolécules : à l'ADN, mais aussi aux protéines et aux lipides, avec formation d'agrégats.

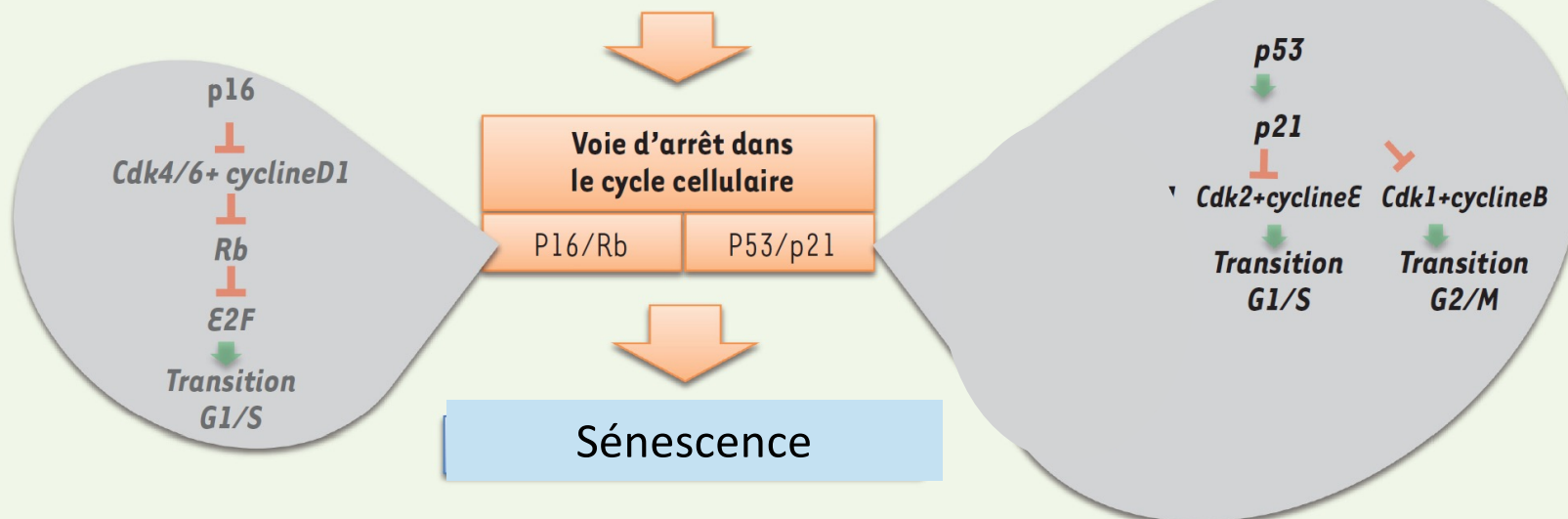
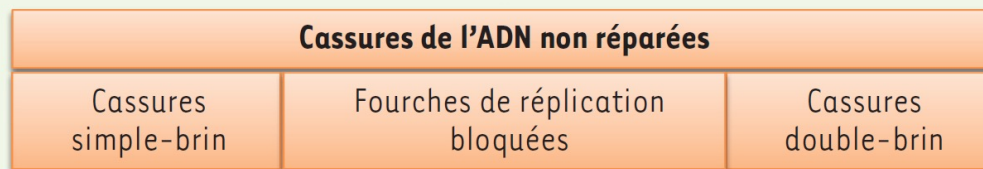
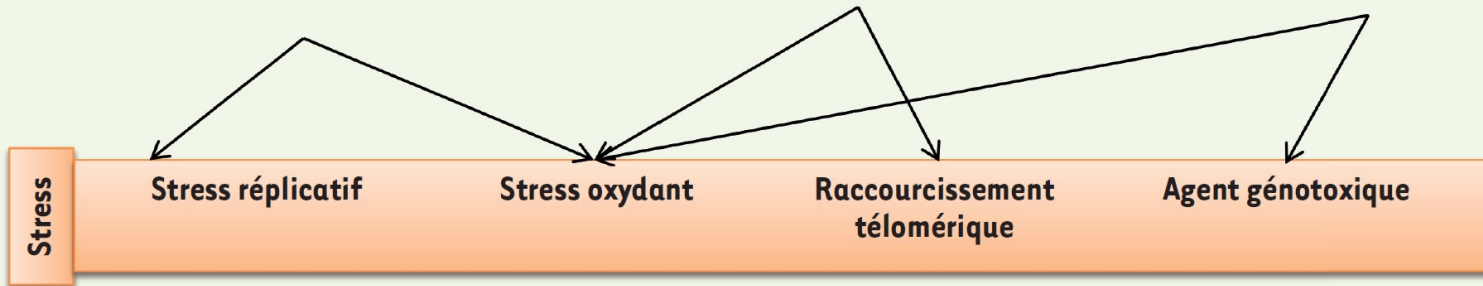
2D – Augmentation du nombre et de la masse des lysosomes et activité beta-galactosidase (SA- β -gal activity).

V-SENESCENCE

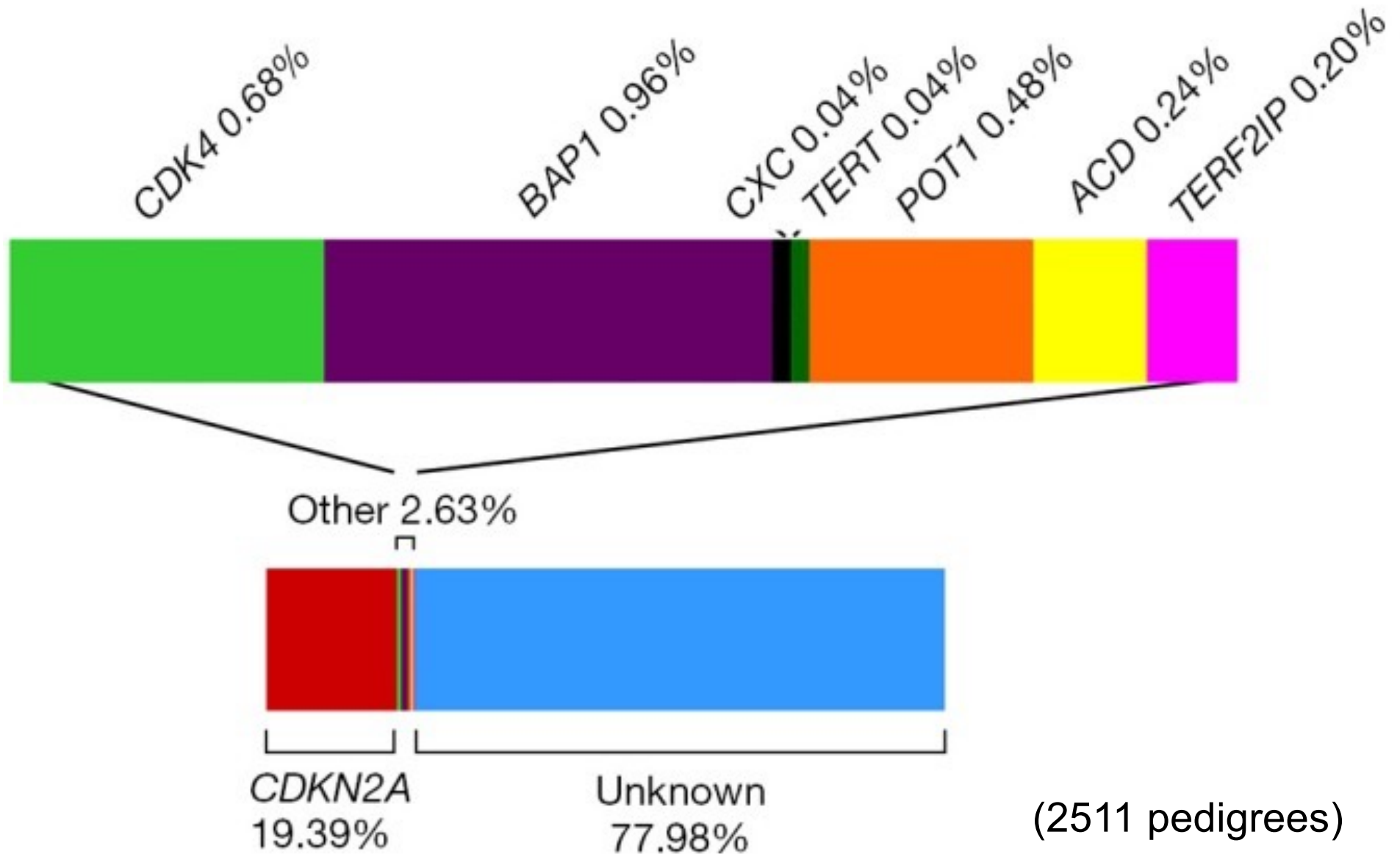
Activation oncogénique (ex : BRAF^{V600E})
Inhibition suppresseur de tumeur (ex : PTEN)

Vieillesse

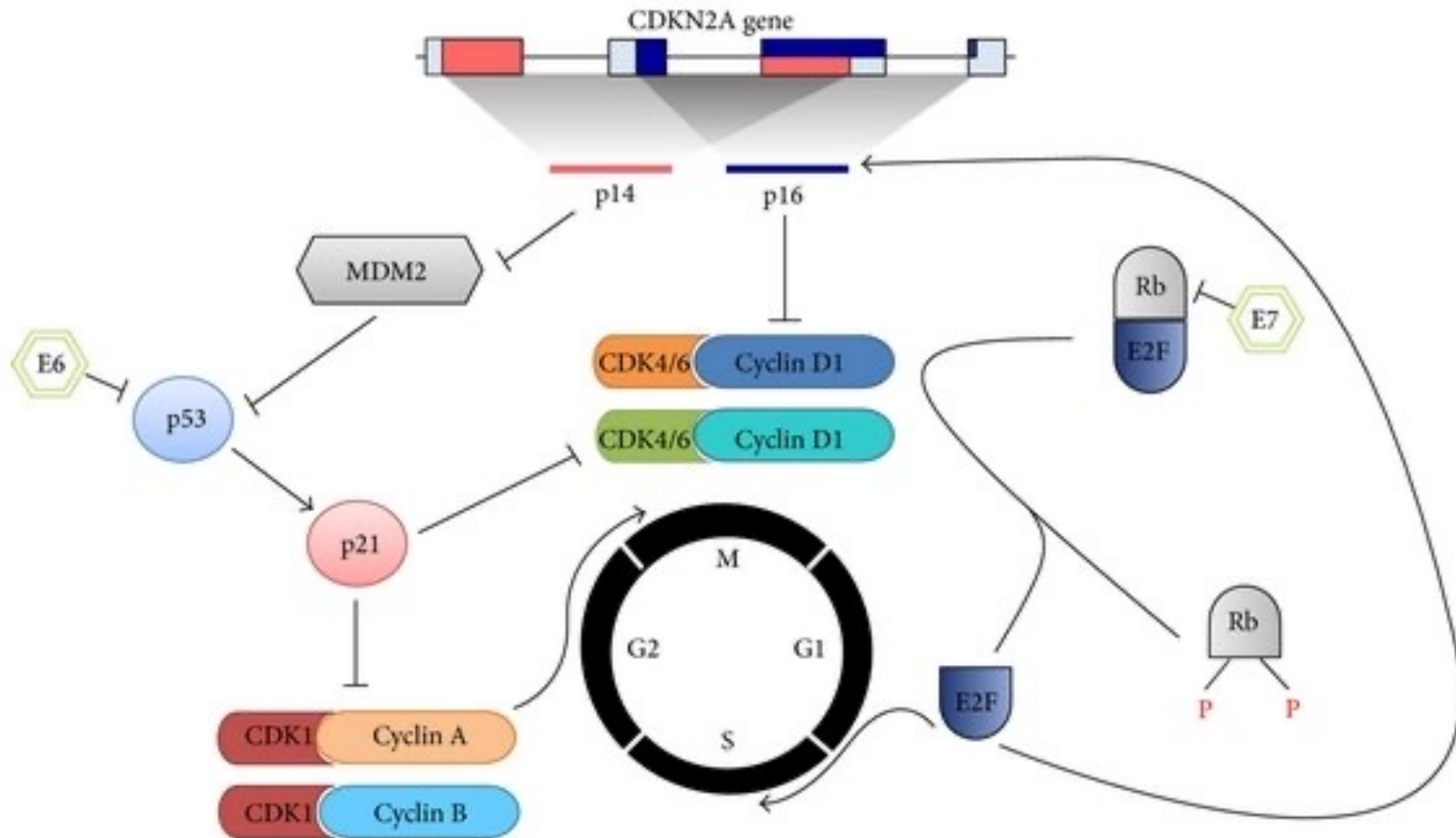
Thérapie anti-cancéreuse
(chimiothérapie, radiothérapie)



Mélanome Familial: Gènes associés

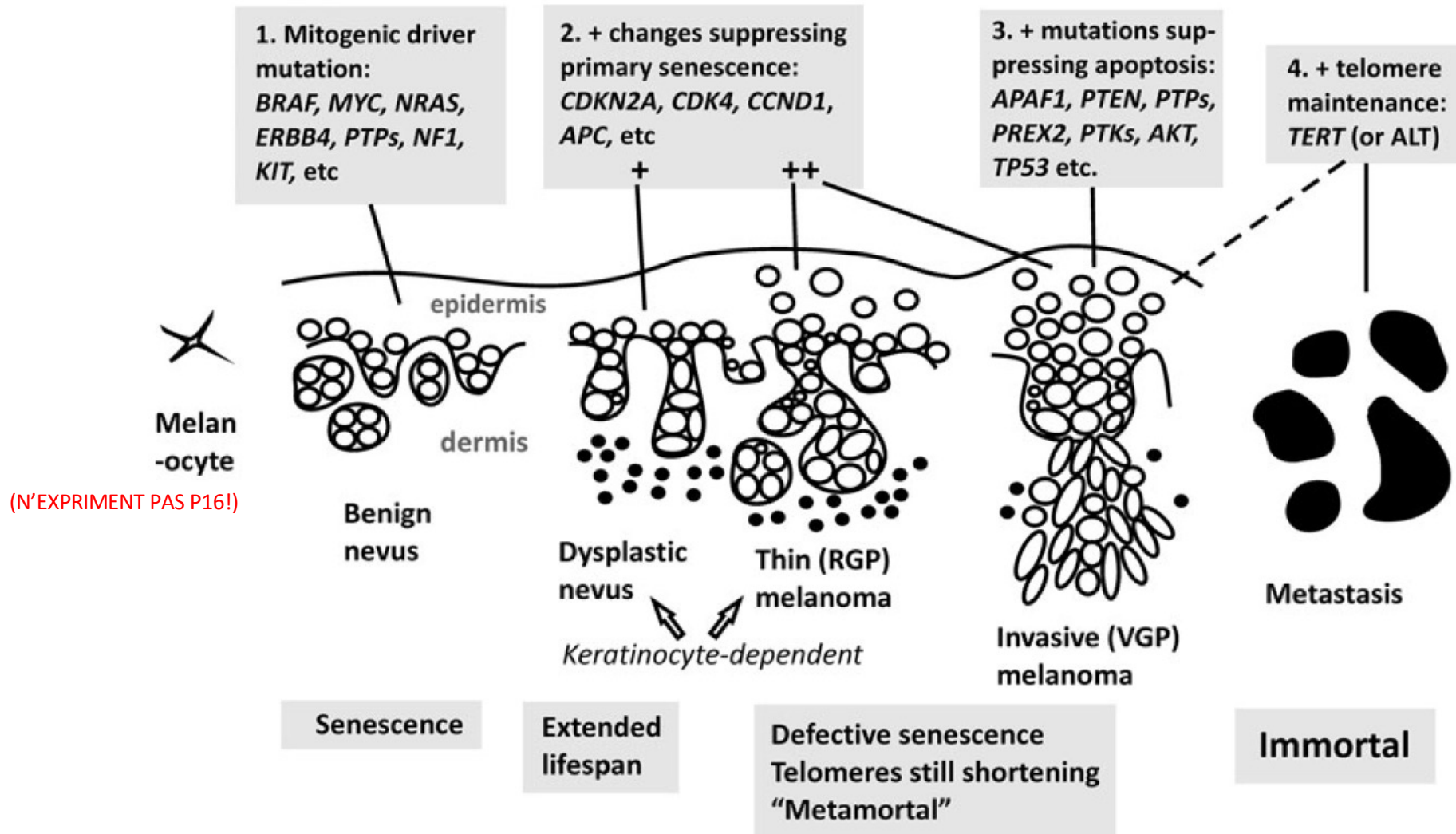


RÔLE CLÉ DU GÈNE CDKN2A



L'activité CDKN2A est requise pour induire la sénescence dans un contexte de stress oncogénique!

Cell senescence and genetics of melanoma progression



Lectures recommandées !

