

# (Quelques) morts cellulaires...

Antoine PILON

Laboratoire de Biochimie et Biologie Cellulaire

Inserm UMR-S-1193

Faculté de Pharmacie – Université Paris Saclay

# Mort cellulaire

- Qu'est-ce que c'est?
- Quelles en sont les causes?
- Quelles en sont les conséquences?
- Est-ce bénéfique ou néfaste?
- Pourquoi s'y intéresser?
- Un mécanisme unique?



# Plan du cours

## Introduction: Généralités sur les morts cellulaires

### I. Nécrose et nécroptose

- I.1. Caractéristiques morphologiques & activation
- I.2. La nécroptose, un mort cellulaire régulée
- I.3. Détection de la nécrose & de la nécroptose
- I.4. Pathologies et traitements

### II. Apoptose

- II.1. Définition, rôles physiologiques & caractéristiques
- II.2. Mécanismes moléculaires de l'apoptose
  - II.2.1 Caspases
  - II.2.2 Voie extrinsèque
  - II.2.3 Voie intrinsèque
  - II.2.4 Lien entre voies extrinsèque & intrinsèque
- II.3. Détection & analyse de l'apoptose
- II.4. L'apoptose, une mort cellulaire silencieuse?
- II.5. Apoptose, pathologies et traitements

### III. Autophagie

- III.1. Identification, définition & caractéristiques
- III.2. Mécanismes moléculaires
- III.3. Autophagie non-sélective et sélective
- III.4. Détection & analyse de l'autophagie
- III.5. Rôles physiologiques de l'autophagie
  - III.5.1. Autophagie & survie cellulaire
  - III.5.2. Autophagie, infections & immunité
- III.6. Autophagie, pathologies & traitements

# Introduction

- Conséquence inévitable de la vie d'une cellule
- Mort cellulaire: essentielle à la vie d'un organisme
  - Elimination de cellules superflues, endommagées ou dangereuses
  - Homéostasie tissulaire : équilibre entre mort et prolifération cellulaire
- Classification initiale: morphologie

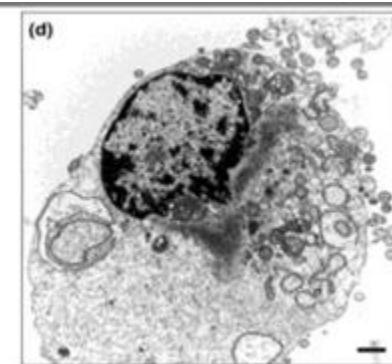
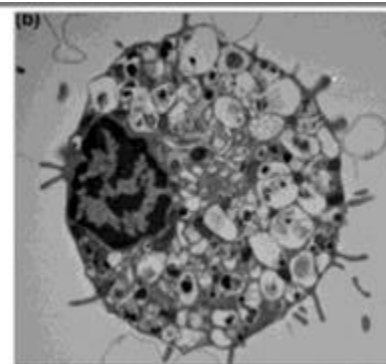
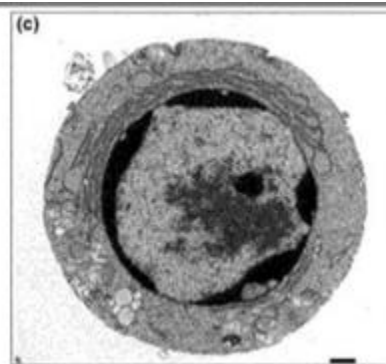
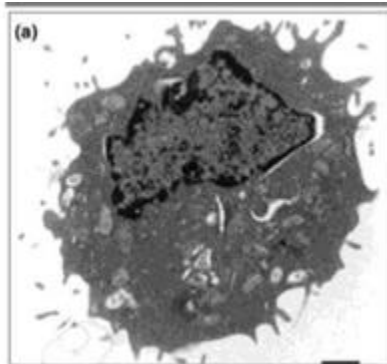
Mort cellulaire

Cellule vivante

Type I:  
Apoptose

Type II:  
Autophagie

Type III:  
Nécrose



1972

J. Kerr, J. Cormack

1974

C. De Duve

# Introduction

## Mort cellulaire accidentelle (*Accidental cell death, ACD*)

### Causes:

Stress aigu, conditions environnementales extrêmes :

- Physique (pression, T°C, déséquilibre osmotique)
- Chimique (pH)
- Mécanique (force de cisaillement/étirement)

### Processus:

- Phénomène brutal
- Dissociation instantanée membrane plasmique

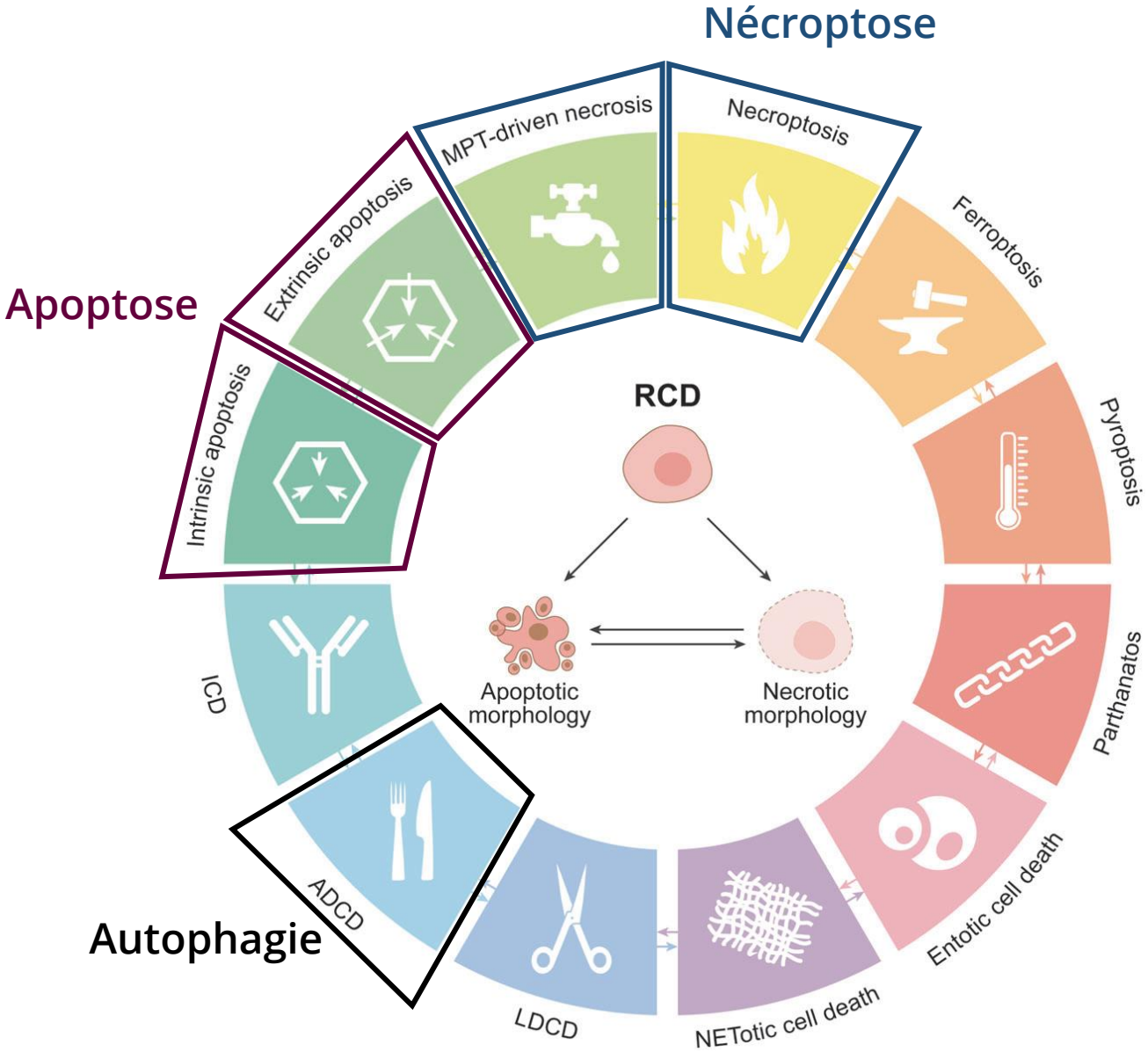
### Effets:

- Libération contenu de la cellule

## Morts cellulaires régulées (*Regulated Cell deaths, RCD*)

- Pas de perturbation environnementale
- Perturbations environnementales/ intracellulaires prolongées
- Contrôlé par expression de gènes
- Opéré par machineries moléculaires
- Modulable (intervention pharmaco. ou génétique)
- Elimination cellules superflues (homéostasie)
- Elimination cellules endommagées/dangereuses

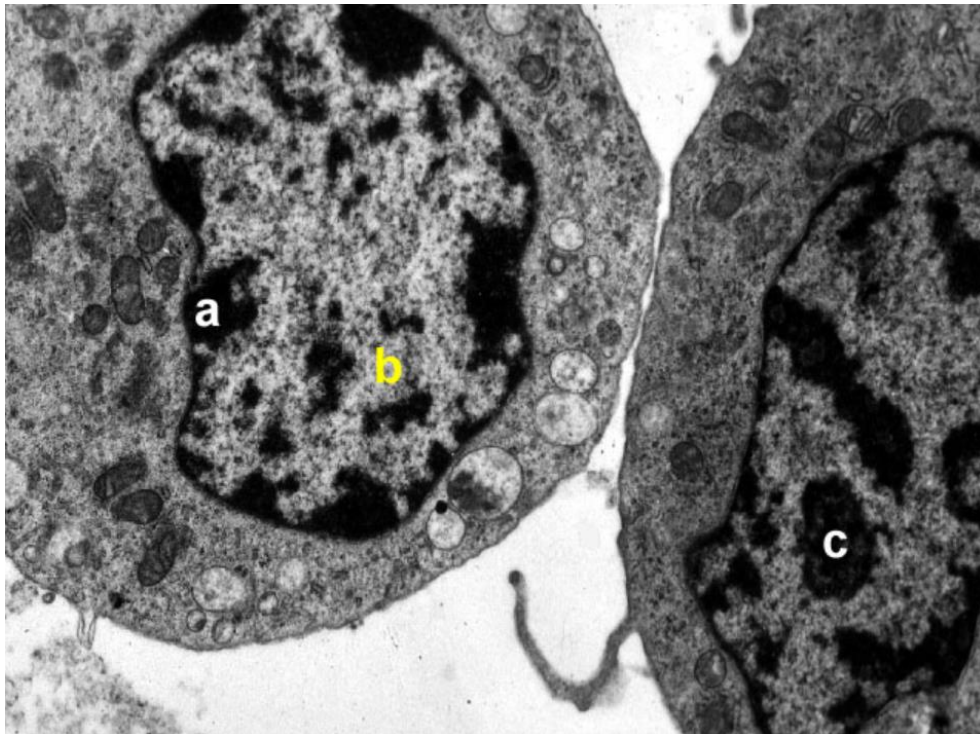
# Introduction



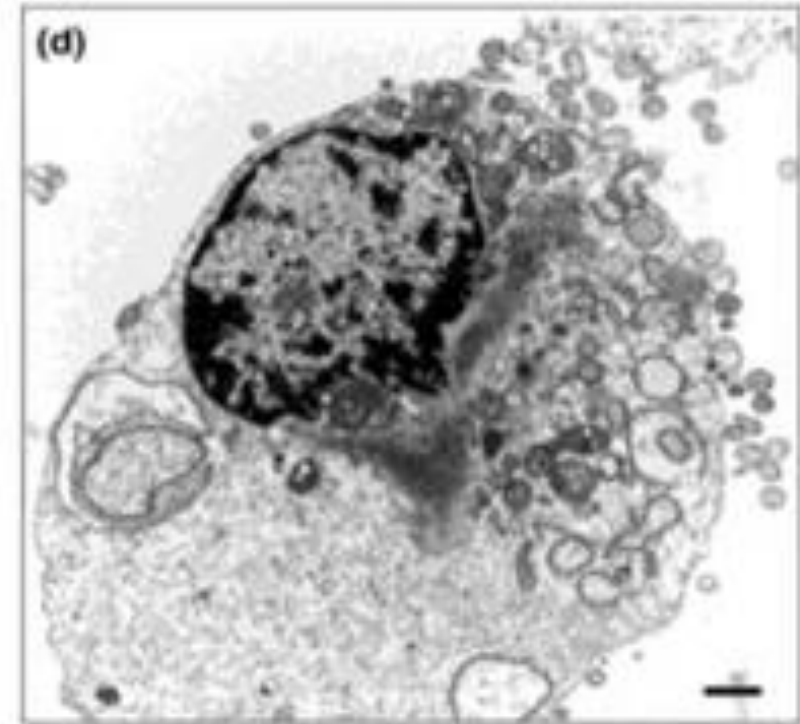
# I. Nécrose & Nécroptose

## I.1. Caractéristiques morphologiques

Cellules vivantes



Type III: Nécrose



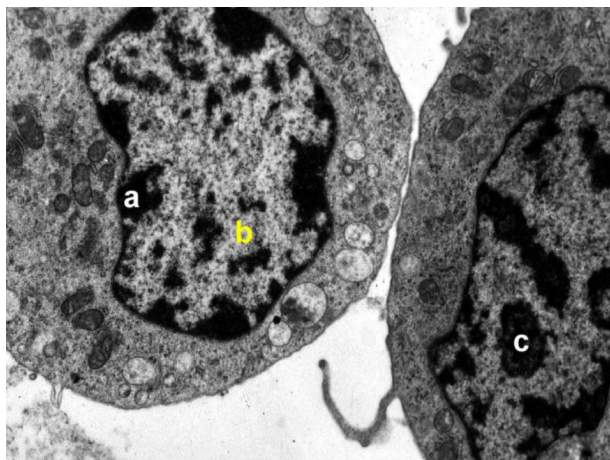


# I. Nécrose & Nécroptose

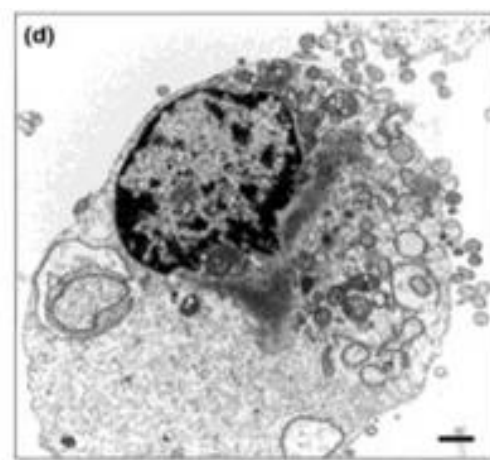
## I.1. Caractéristiques morphologiques

- Gonflement des cellules, des organites (mitochondries et noyau)
- Rupture/perméabilisation de la membrane plasmique (MP)
- Libération contenu cellule dans milieu extracellulaire (DAMPs → inflammation)
- Pas de bourgeonnement, pas de corps apoptotiques
- Fragmentation ADN aléatoire

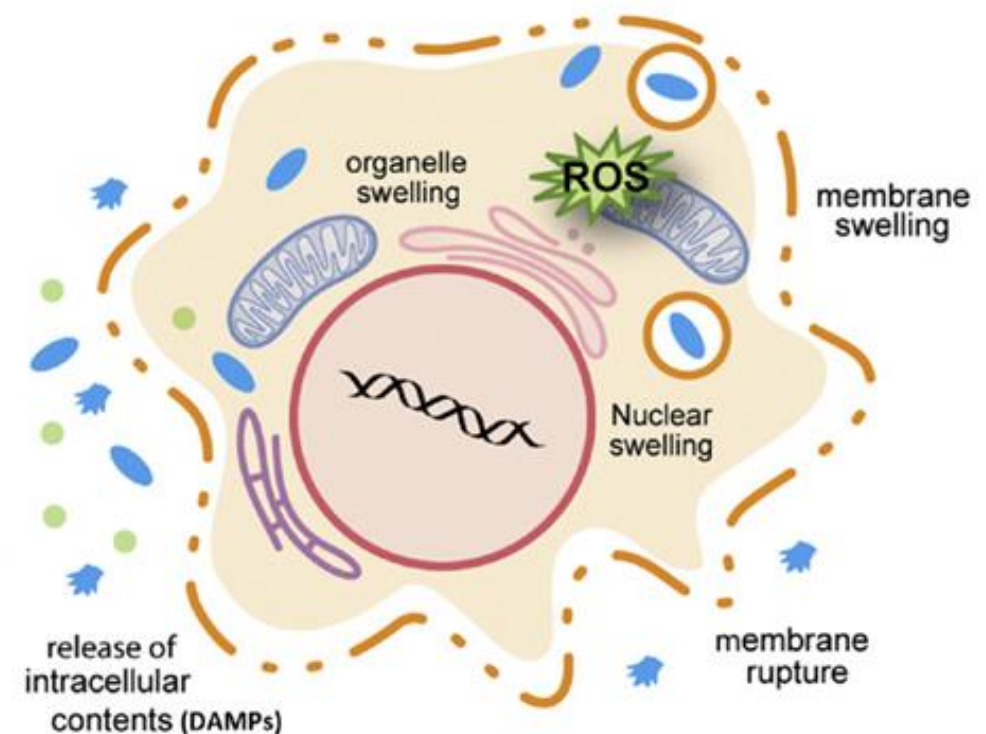
Cellules vivantes



Type III: Nécrose



Nécrose





# I. Nécrose & Nécroptose

---

## I.1. Activation de la nécrose

Circonstances violentes et contextes pathologiques:

- Hypoxie (ischémie, attaque cardiaque, AVC, chirurgie)
- Températures extrêmes
- Infections (bactéries, virus lytiques)
- Toxines (acides, bases, venins...)
- Stress mécaniques
- Pancréatite aigüe : libération anormale d'enzymes pancréatiques qui digèrent le tissu adipeux environnant, conduisant à sa nécrose

**Nécrose = toujours une mort cellulaire accidentelle (ACD) ?**

# I. Nécrose & Nécroptose

## I.1. Activation de la nécrose

Circonstances violentes et contextes pathologiques:

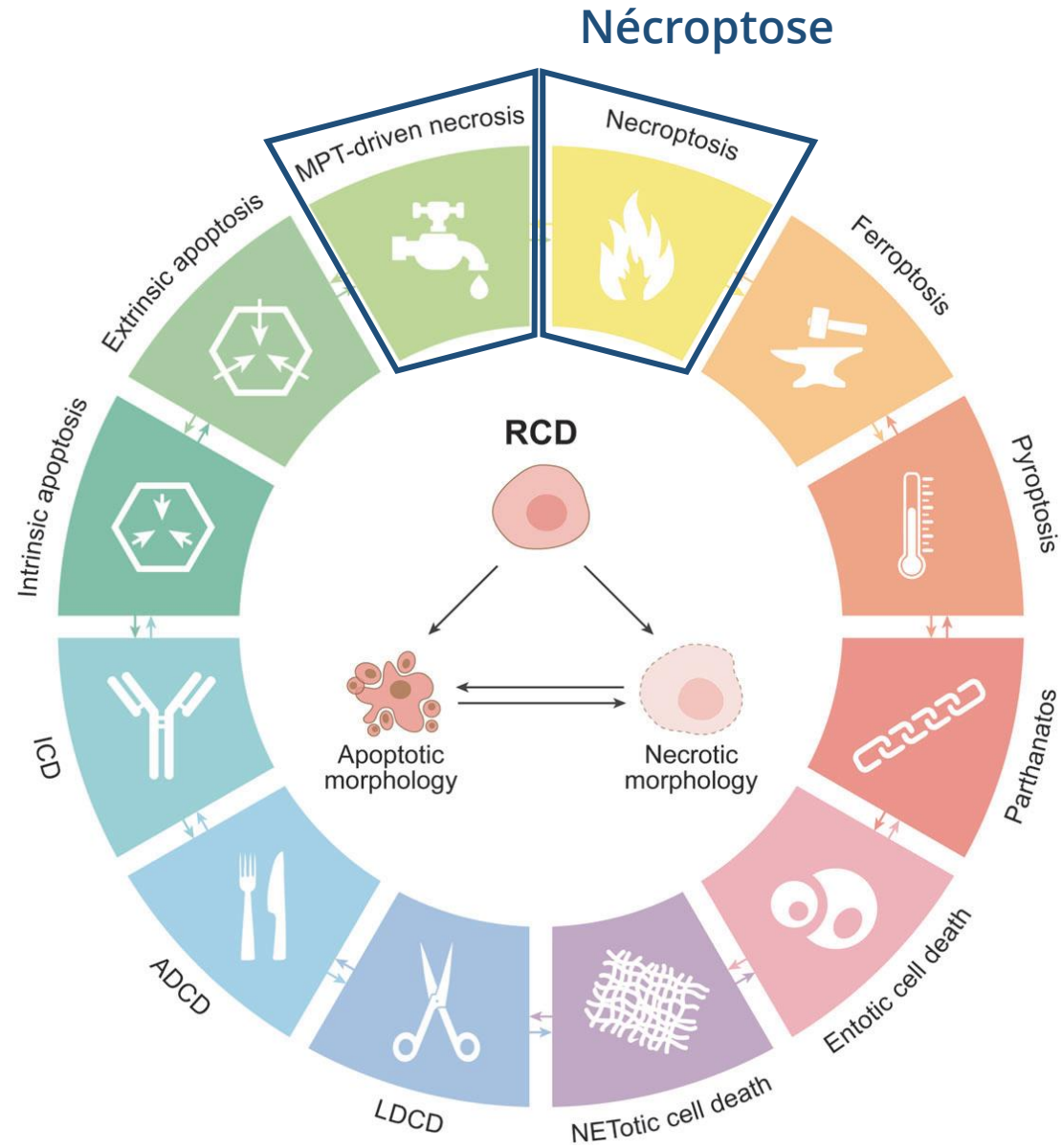
- Hypoxie (ischémie, attaque cardiaque, AVC, chirurgie)
- Températures extrêmes
- Infections (bactéries, virus lytiques)
- Toxines (acides, bases, venins...)
- Stress mécaniques
- Pancréatite aigüe : libération anormale d'enzyme pancréatiques qui digèrent le tissu adipeux environnant, conduisant à leur nécrose

Longtemps considérée accidentelle, aléatoire, non contrôlée = ACD



Mort cellulaire régulée (RDC) ?

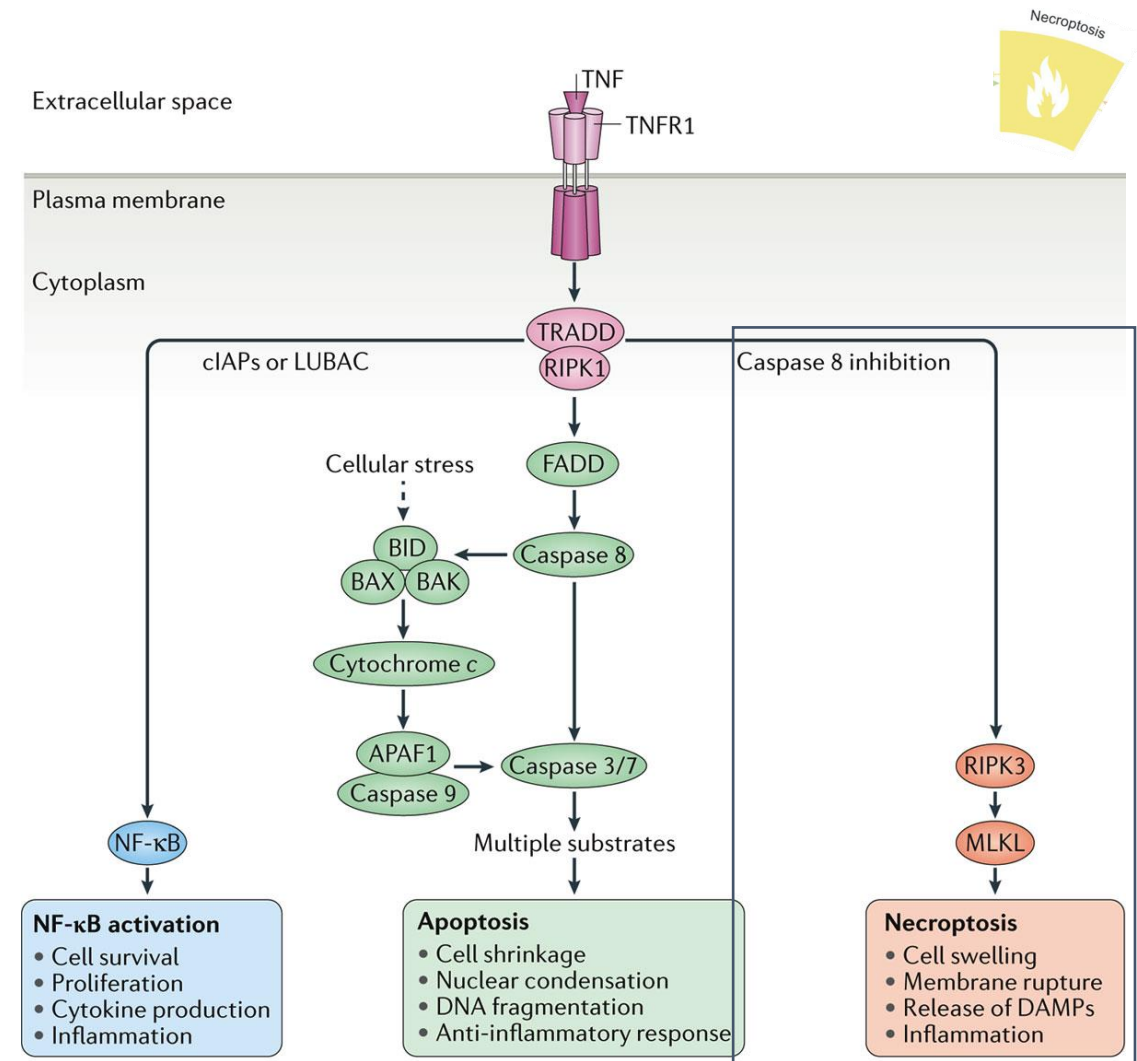
# I. Nécrose & Nécroptose



# I. Nécrose & Nécroptose

## I.2. La nécroptose, un mort cellulaire régulée

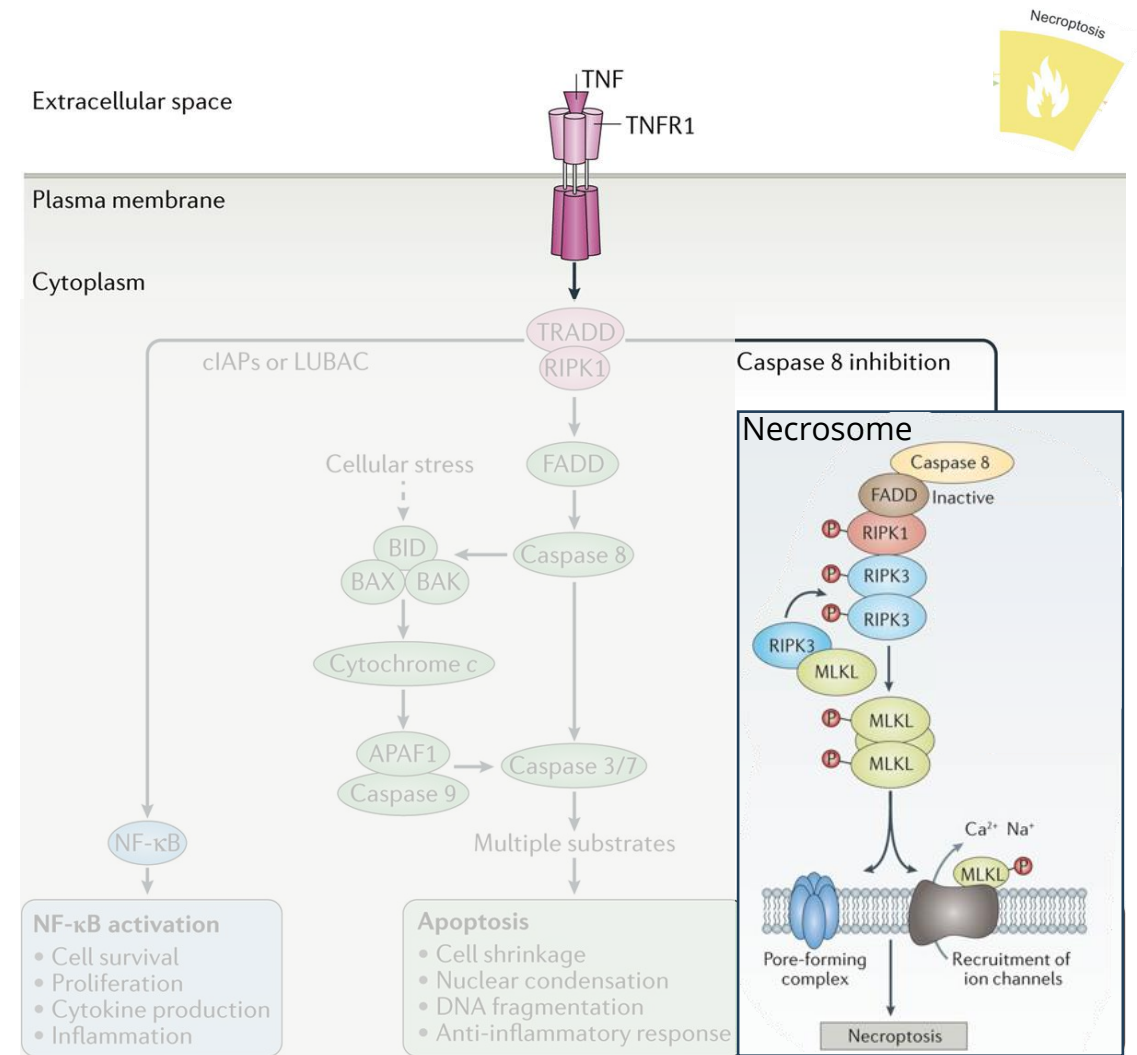
- Caractéristiques morphologiques cellules nécrotiques
- Induite par perturbations:
  - Intracellulaires (récepteurs TLR3, ZBP1)
  - extracellulaires (récepteurs de mort FAS, TNFR)
- Induite quand apoptose inhibée  
(mutations, inhibiteur de caspases zVAD)
- Voie de nécroptose la mieux comprise:  
TNF $\alpha$  /TNFR (*Tumor Necrosis Factor*)  
RIPK3, RIPK1 et MLKL



# I. Nécrose & Nécroptose

## I.2. La nécroptose, un mort cellulaire régulée

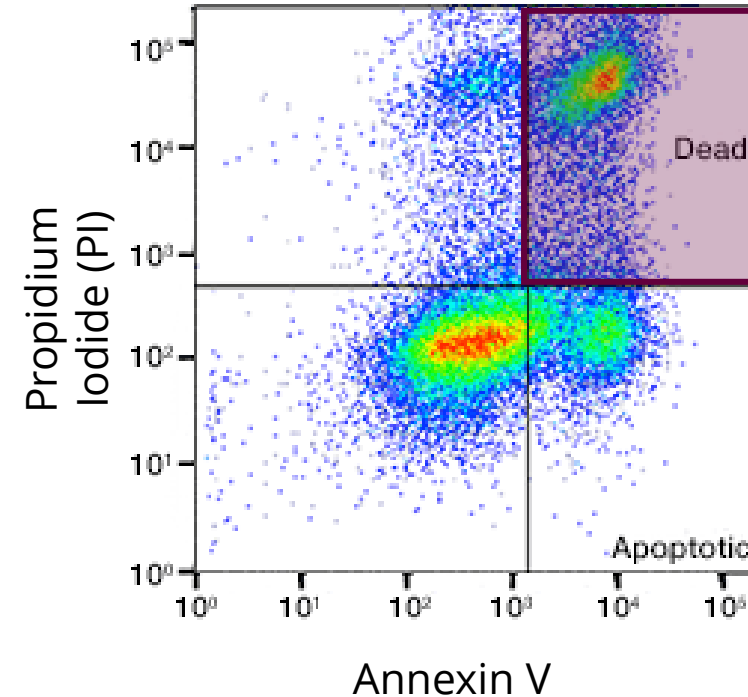
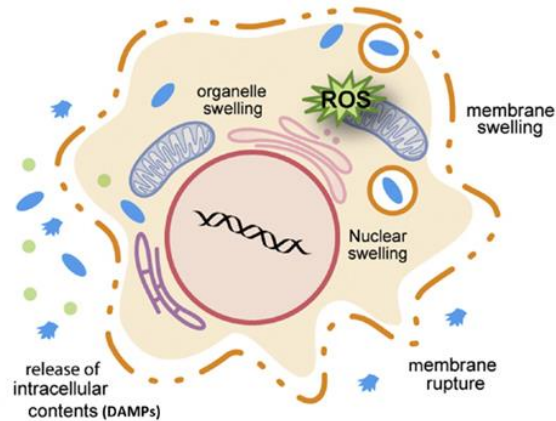
- Caractéristiques morphologiques cellules nécrotiques
- Induite par perturbations:
  - Intracellulaires (récepteurs TLR3, ZBP1)
  - extracellulaires (récepteurs de mort FAS, TNFR)
- Induite quand apoptose inhibée  
(mutations, inhibiteur de caspases zVAD)
- Voie de nécroptose la mieux comprise:  
TNF $\alpha$  /TNFR (*Tumor Necrosis Factor*)  
RIPK3, RIPK1 et MLKL



# I. Nécrose & Nécroptose

## I.3. Détection de la nécrose & de la nécroptose

### *Cytométrie en flux*



- Iodure de Propidium (IP) = Agent intercalent de l'ADN fluorescent
- Annexine V = lie Phosphatidylsérines (PtdSer) localisées dans le feuillet interne de la membrane plasmique

Rupture MP → ADN et PtdSer accessibles

**Cellules nécrotiques = IP+ / Annexine V +**



# I. Nécrose & Nécroptose

## I.3. Détection de la nécrose & de la nécroptose

- *Phosphorylation MLKL*  
(immunodétection)
- *Inflammation (indirect)*
  - Libération DAMPs
  - Activation cellules immunitaires



# I. Nécrose & Nécroptose

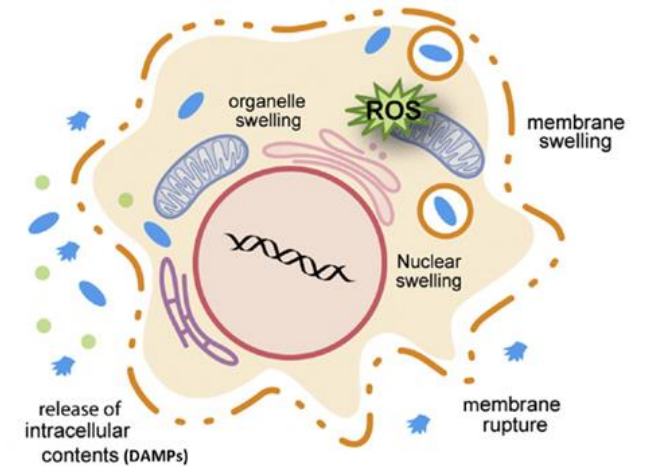


## I.4. Pathologies et traitements

### *Pathologies*

- Infections virales et bactériennes

- Nécrose des cellules infectées → limite infection
- Libération massive de DAMPs → +++ Inflammation → sepsis
- Mécanismes d'évasion par certains virus:  
protéines virales (domaine RHIM) inhibent RIPKs → échappement à la nécroptose, maintien de la réplication virale



# I. Nécrose & Nécroptose

## I.4. Pathologies et traitements

### *Pathologies*

- Inflammation / maladies inflammatoires
  - Nécroptose excessive
  - +++ inflammation



WT



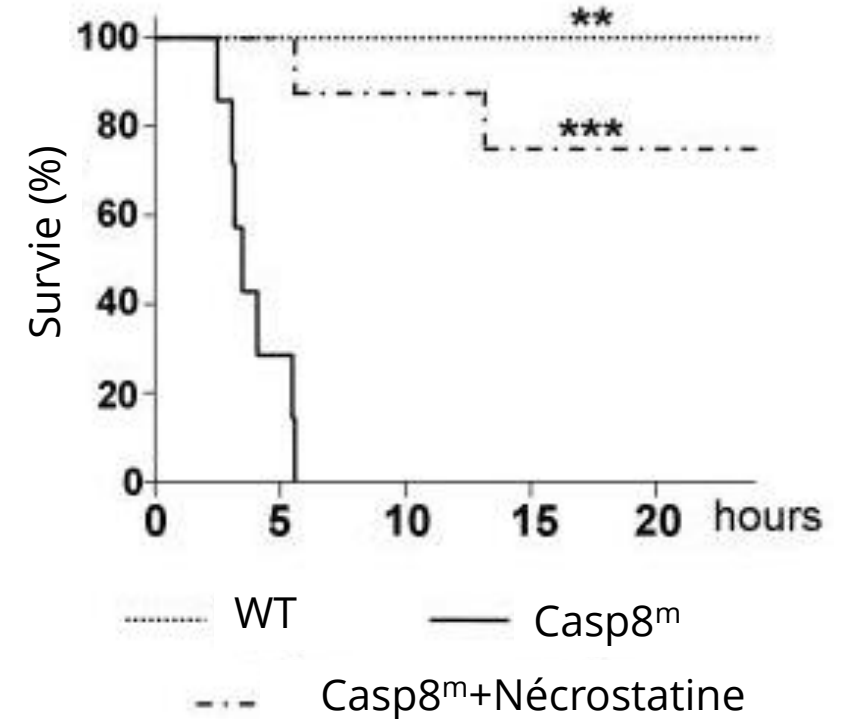
Mutation  
Casp8<sup>m</sup>



Mutation  
Casp8<sup>m</sup>  
+Nécrostatine



Coupes d'intestin  
Analyses  
histologiques

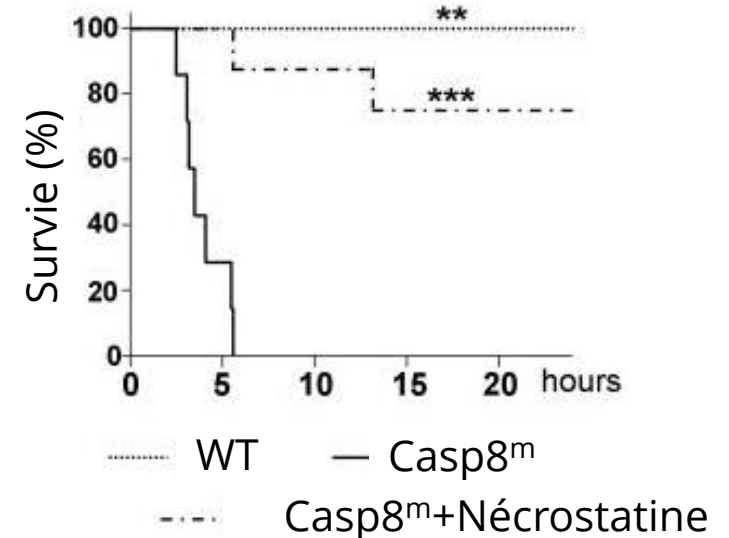
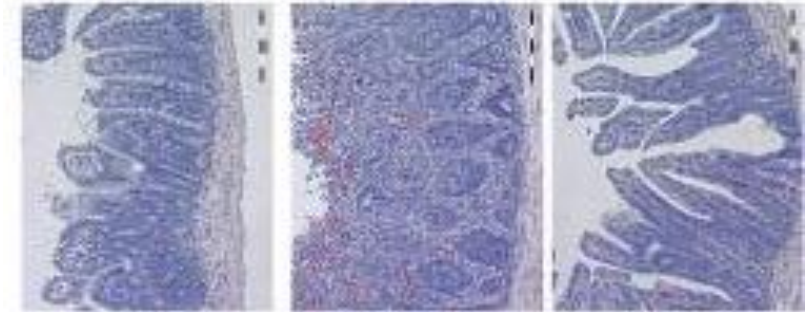
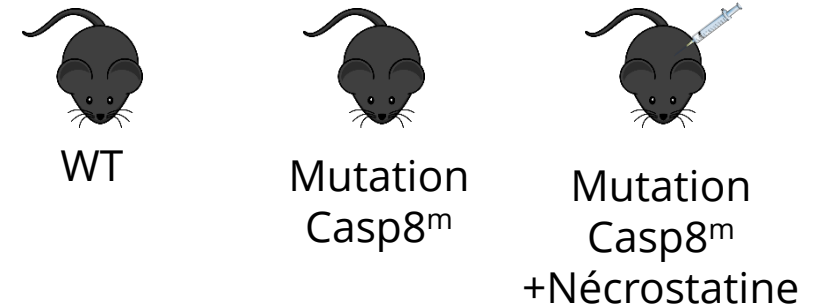


# I. Nécrose & Nécroptose

## I.4. Pathologies et traitements

### *Pathologies*

- Inflammation / maladies inflammatoires
  - Nécroptose excessive
  - +++ inflammation
  - Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), polyarthrite rhumatoïde, psoriasis, dommages reins, cerveau...
- Cancer : rôles pro- and anti- tumoraux (selon contexte)



# I. Nécrose & Nécroptose

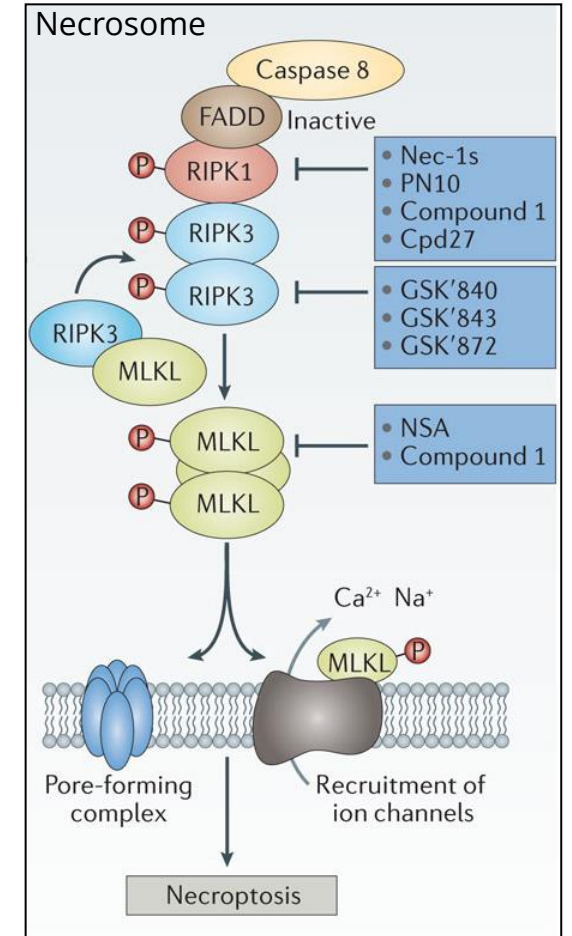


## I.4. Pathologies et traitements

### Traitements

Contrôle de l'inflammation par inhibiteurs de nécroptose

- **Inhibiteurs de RIPK1 :**  
Nécrostatine (Nec-1s)  
Dérivés Benzoxazepinone (BOAs) (GSK2982772 essais clinique de Phase II pour psoriasis, RCH, and polyarthrite rhumatoïde)
- **Inhibiteurs de RIPK3 :** GSK843, GSK872
- **Inhibiteurs de l'oligomérisation de MLKL :** Nécrosulfonamide (NSA)

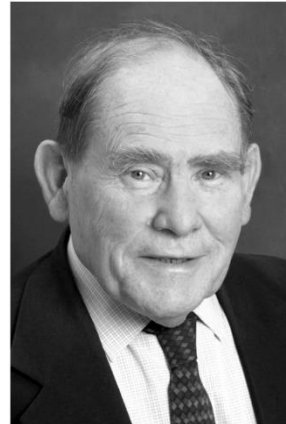


# II. Apoptose

## II.1. Définition, rôles physiologiques & caractéristiques

Mort cellulaire programmée, suicide cellulaire

Prix Nobel Physiologie & Médecine 2002



S. Brenner



H. R. Horvitz



J. E. Sulston

Quand? Pourquoi?



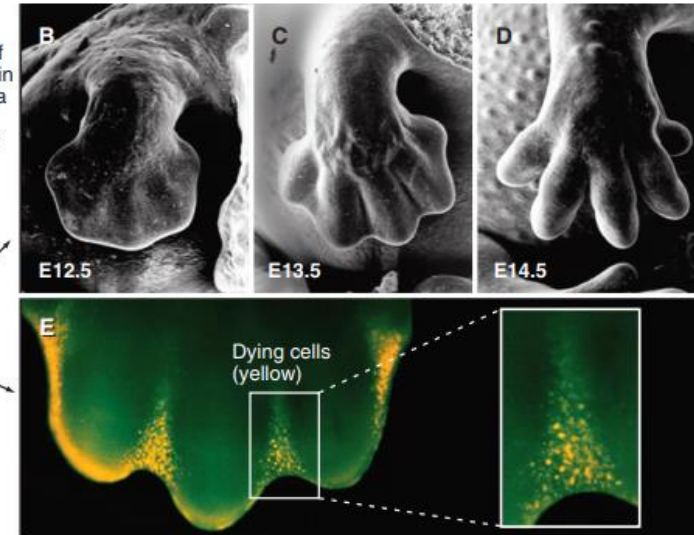
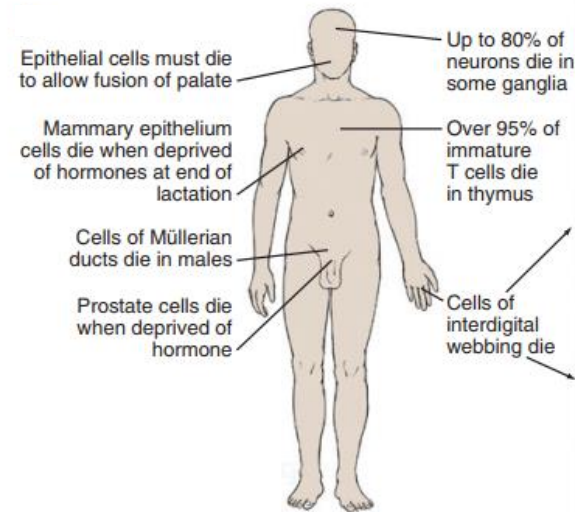
# II. Apoptose

## II.1. Définition, rôles physiologiques & caractéristiques

### Nécessaires aux organismes

### Développement embryonnaire et chez l'adulte

- Morphogenèse et élimination de structures
- Maturation système immunitaire: élimination lymphocytes T autoréactifs
- Maturation système nerveux: élimination neurones qui n'atteignent pas leur cible
- Élimination de cellules endommagées ou infectées
- Homéostasie tissus/organes (peau, sang, intestin)



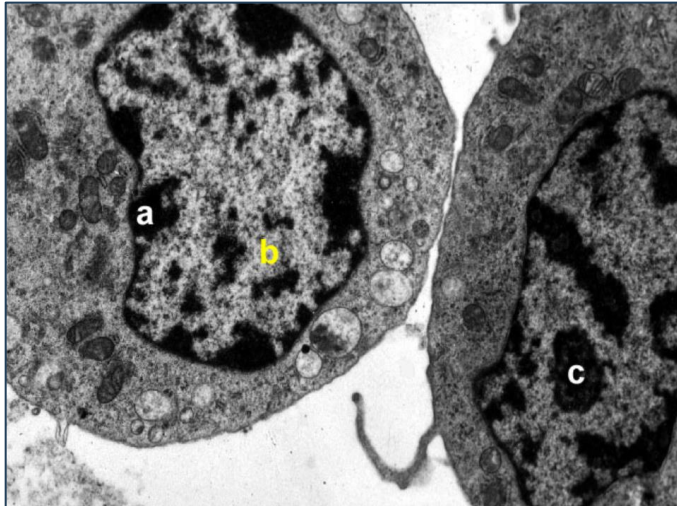
Cell Biology third edition, T. Pollard, W. Earnshaw, Elsevier



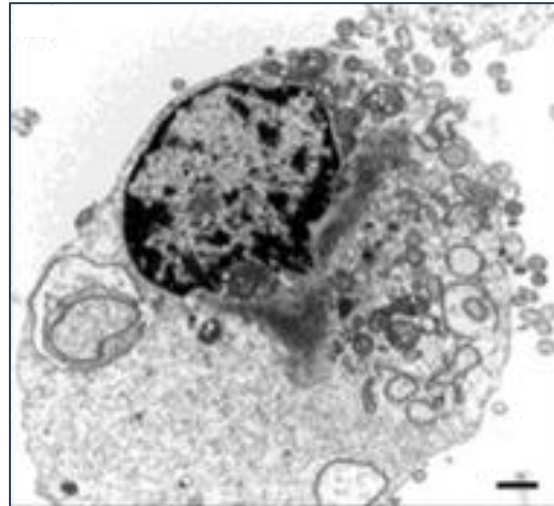
# II. Apoptose

## II.1. Définition, rôles physiologiques & caractéristiques

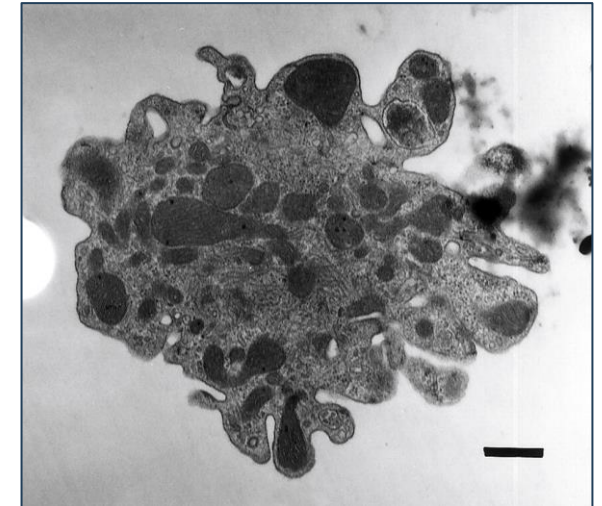
Cellule vivante



Cellule nécrotique



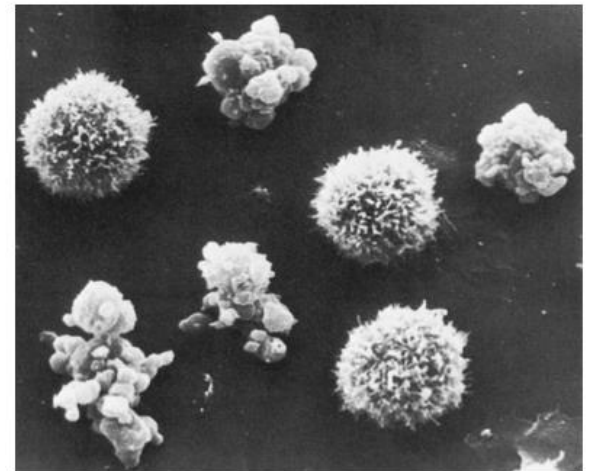
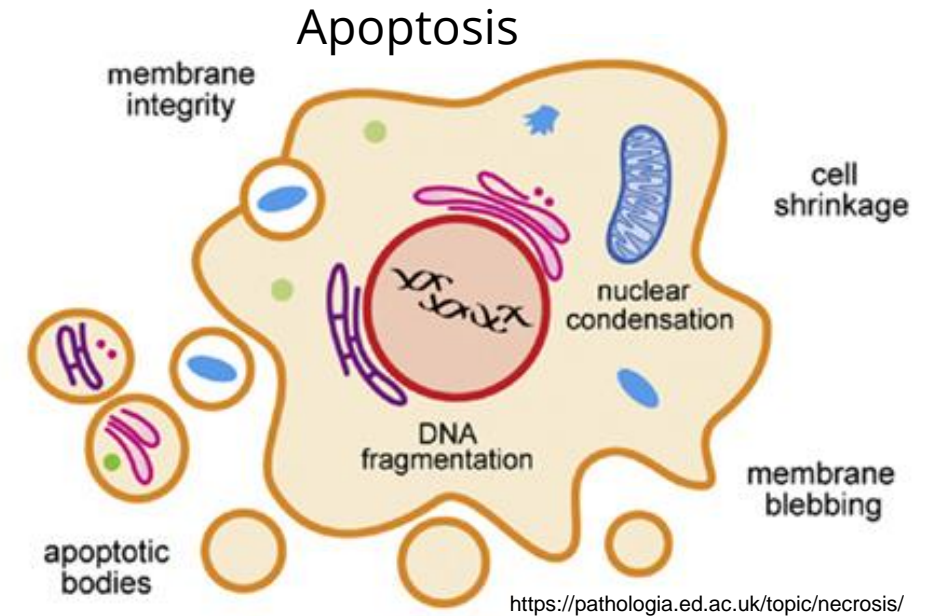
Cellule apoptotique



# II. Apoptose

## II.1. Définition, rôles physiologiques & caractéristiques

- Silencieuse (pas ou peu d'inflammation)
- Intégrité de la membrane plasmique (MP) préservée
- Perte des jonctions cellulaires
- Perte de l'asymétrie de la MP → externalisation des PtdSer
- Fragmentation ADN/noyau
- Bourgeonnement MP, formation corps apoptotiques (éliminés par phagocytes)



# II. Apoptose

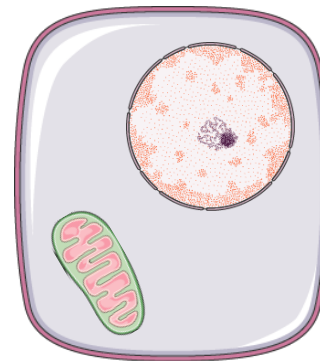
## II.2. Mécanismes moléculaires de l'apoptose

3 phases de l'apoptose

### INITIATION

- Dommages ADN
- Activation récepteur de mort
- Anticancéreux
- Arrêt cycle cellulaire
- Privation facteurs croissance

### DECISION



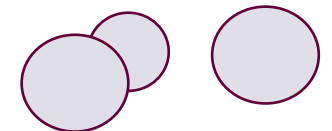
Protéines  
famille Bcl-2

### EXECUTION

Caspase  
cascade

Clivage protéines cellulaires

Caractéristiques morpho.

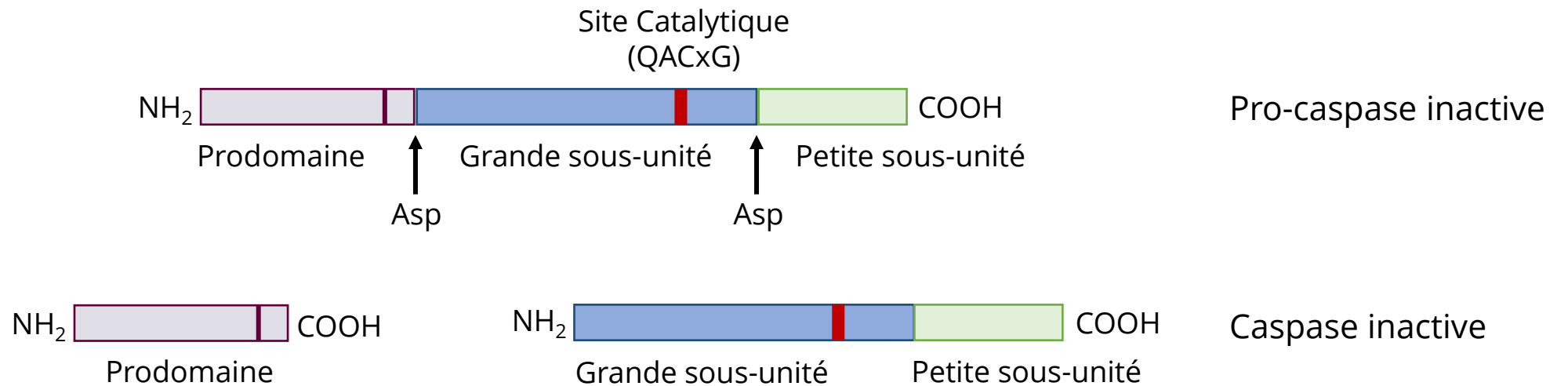


# II. Apoptose

## II.2.1 Caspases

Caspase = *Cysteiny-Aspartate-cleaving proteases* or *Cysteine-ASPartASES*

- Famille de protéases cytosoliques (11 dans cellules humaines)
- Résidu Cystéine dans site catalytique
- Clivage de protéines cibles après résidu Aspartate (Asp)
- Synthétisées sous forme de précurseurs inactifs, activation par clivage lors de l'apoptose



# II. Apoptose

Inactive

Active

Pro-domain

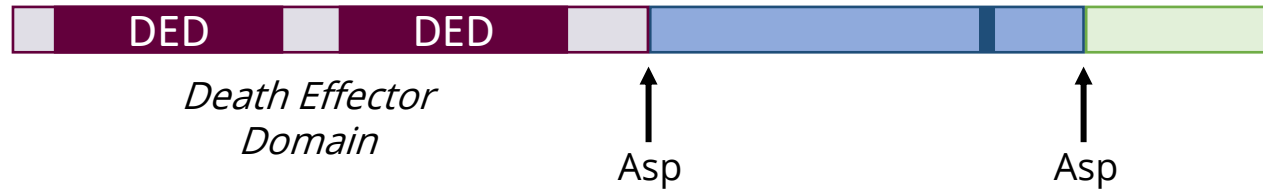
Grande sous-unité

Petite sous-unité

Catalytic site

Caspases initiatrices

Pro-caspase 8/10

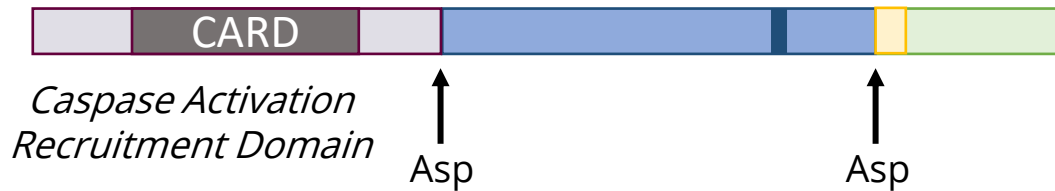


*Death Effector Domain*

Asp

Asp

Pro-caspase 2/9



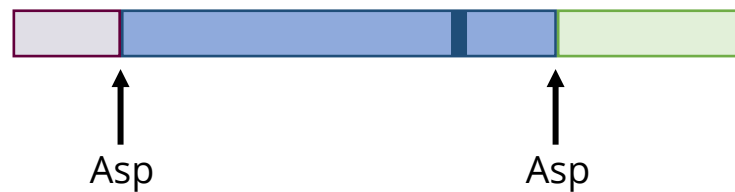
*Caspase Activation Recruitment Domain*

Asp

Asp

Caspases effectrices

Pro-caspase 3/6/7

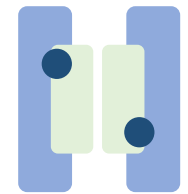


Asp

Asp

Caspases Initiatrices

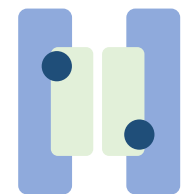
(8/10/2/9)



*Auto-activation  
Clivage caspases effectrices*

Caspases effectrices

(3/6/7)

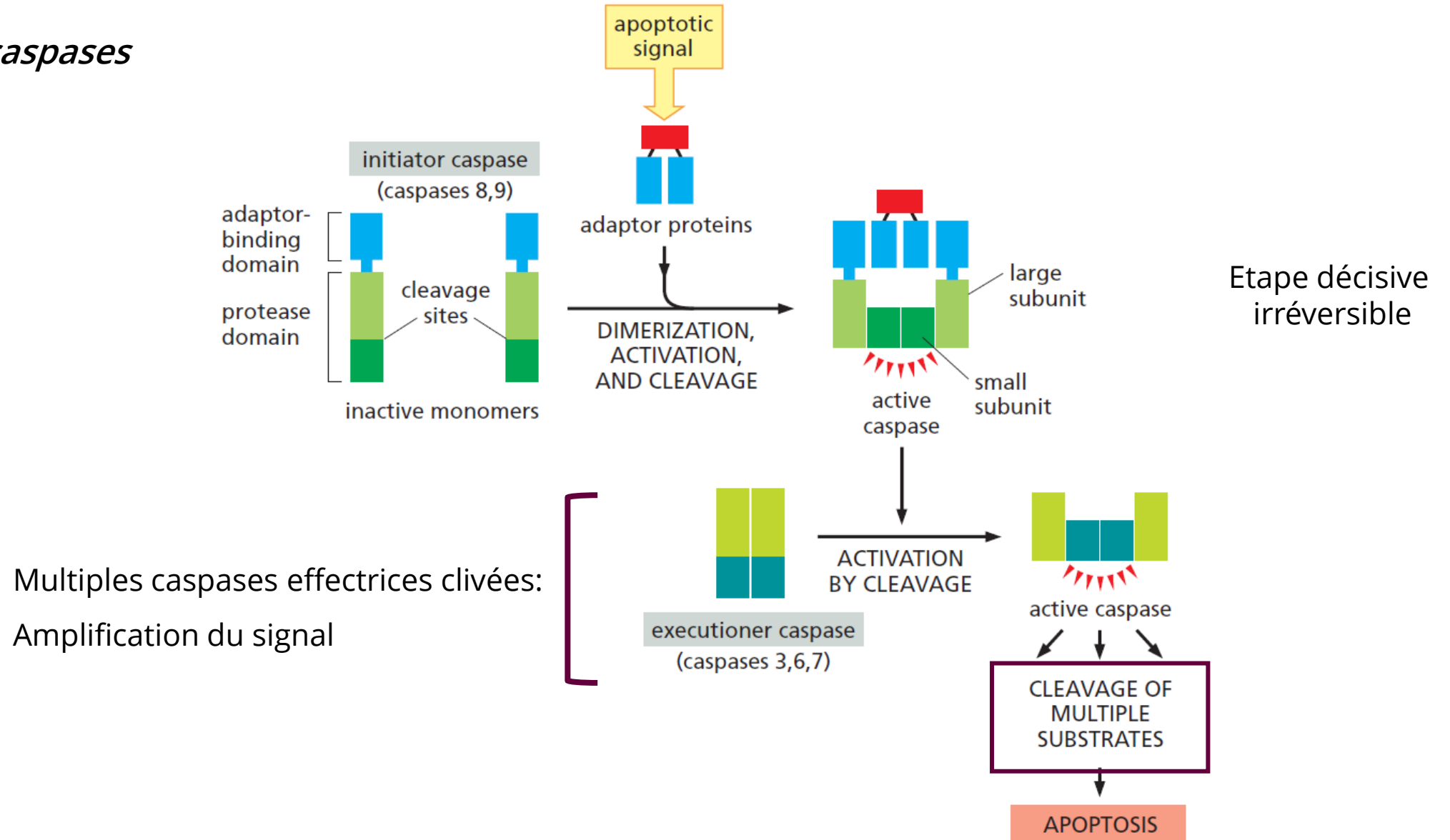


*Clivage substrats cellulaires*



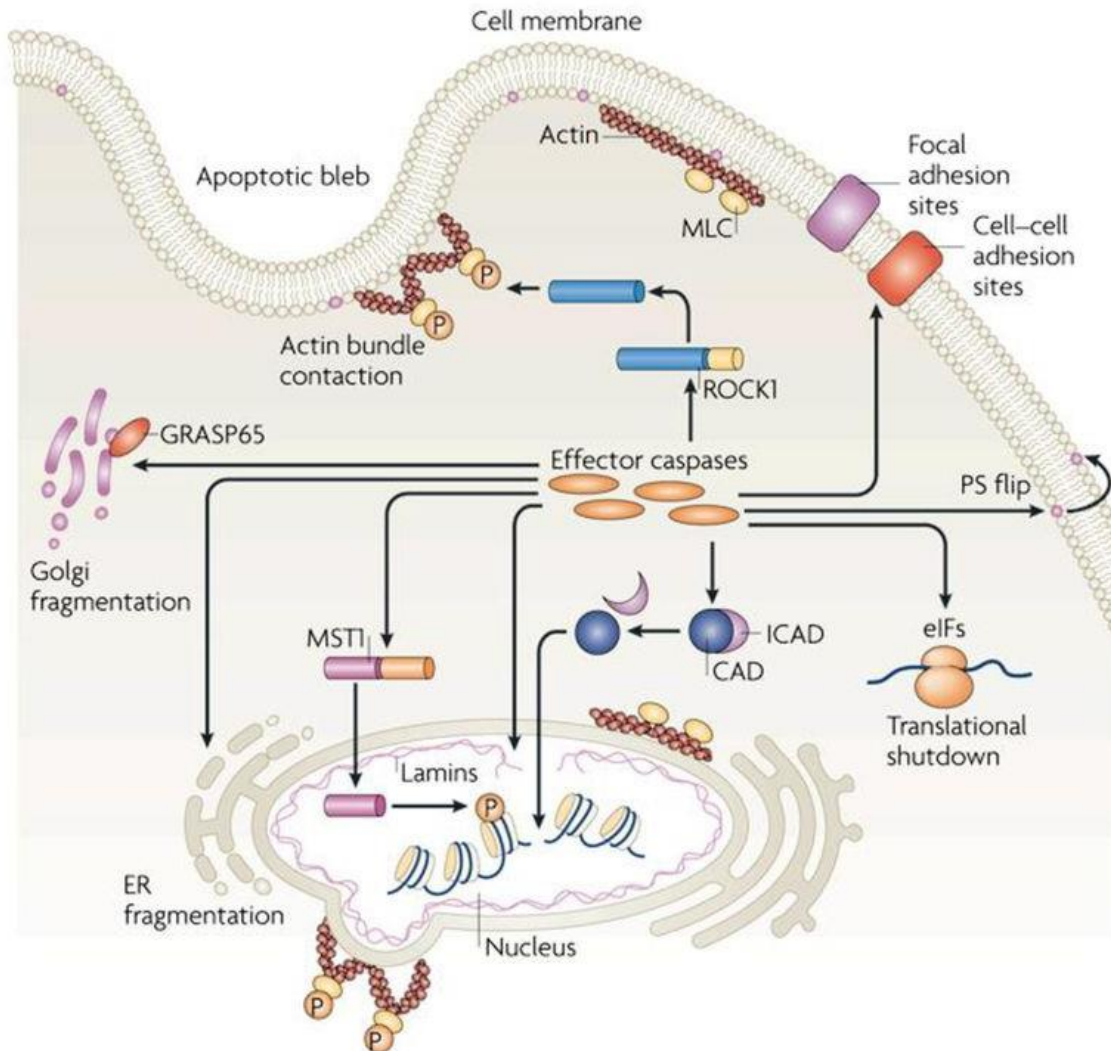
# II. Apoptose

## Cascade des caspases



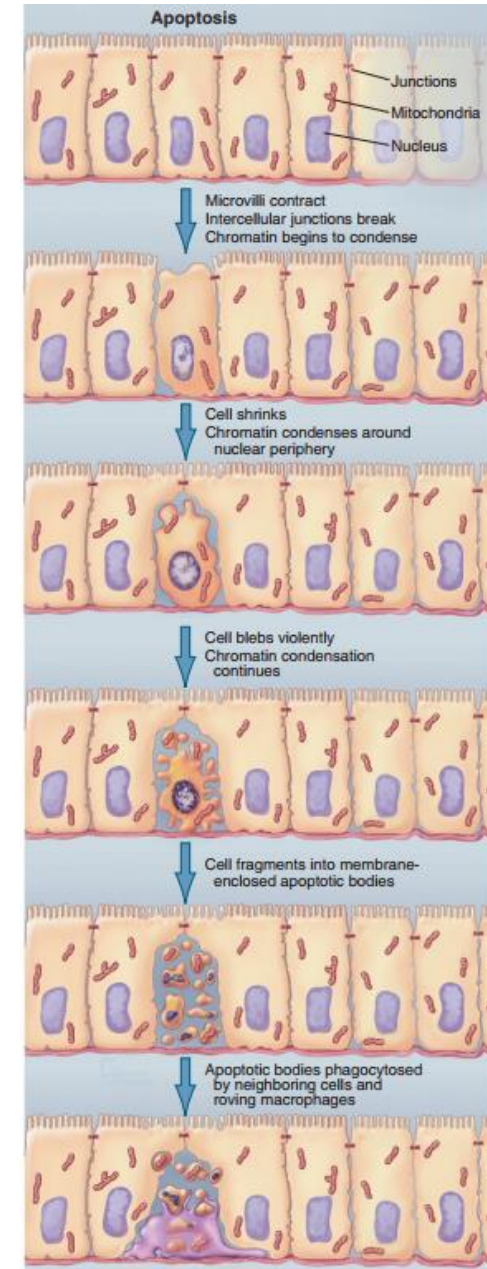
# II. Apoptose

## Substrats des caspases effectrices



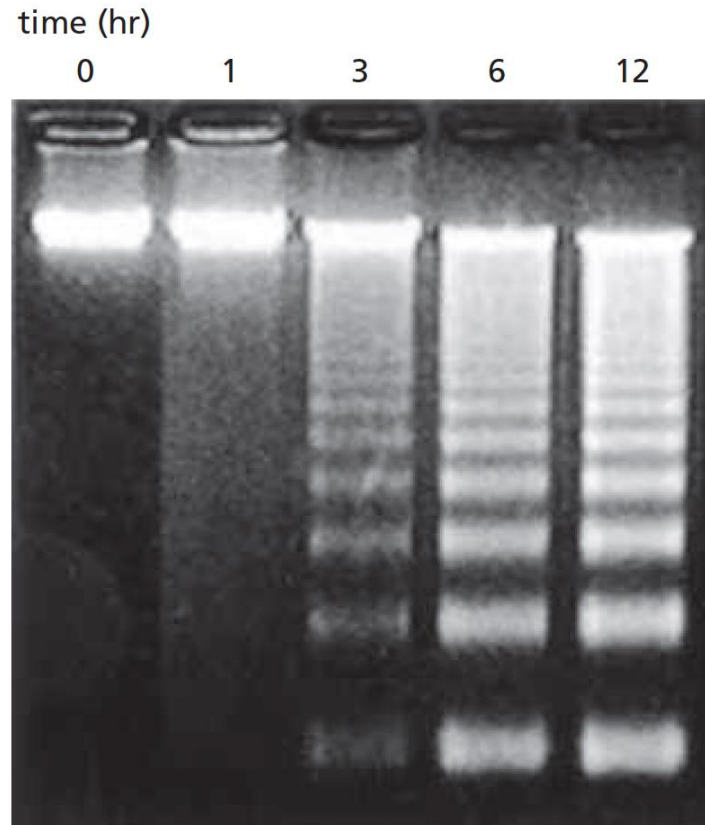
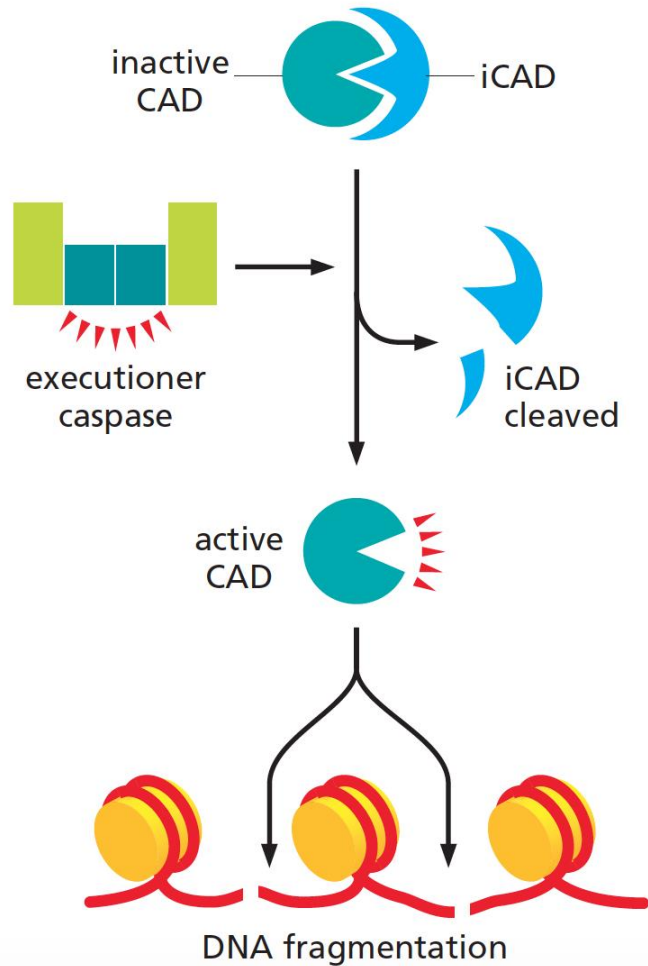
## Clivage de multiples protéines cibles

- Molécules d'adhérence → ↓ contact cellulaires
- eIF → ↓ traduction
- ROCK1 → bourgeonnement MP
- MST1 Kinase → phosphorylation Histone H2B → condensation chromatine
- Lamines → changement morphologie noyau



## II. Apoptose

### *Substrats des caspases effectrices: ex ICAD*



- Clivage ICAD → coupure ADN entre nucléosomes par CAD (*Caspase Activated DNase*), fragments de 180 bp  
Electrophorèse gel d'agarose: "barreaux d'échelle"

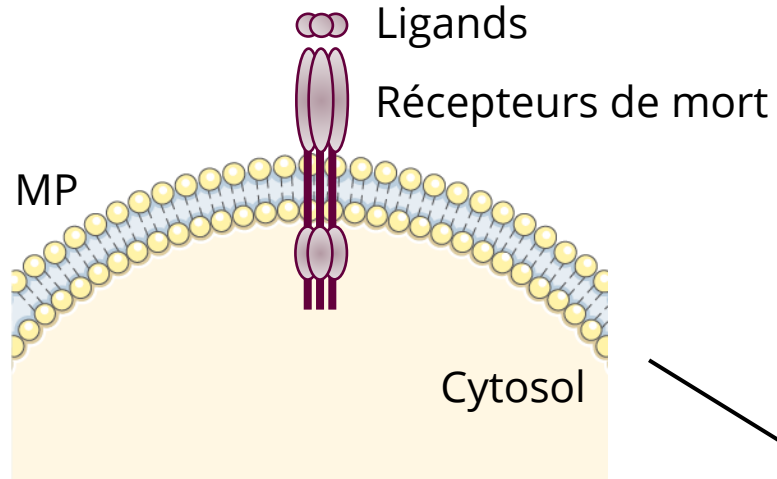
# II. Apoptose



## Deux voies de l'apoptose

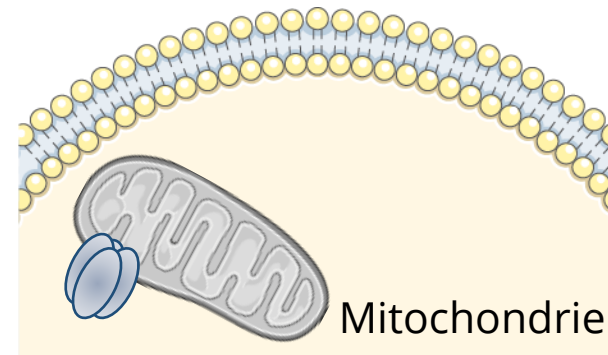
Voie extrinsèque /

Voie des récepteurs de mort



Voie intrinsèque /

Voie mitochondriale



Caspases

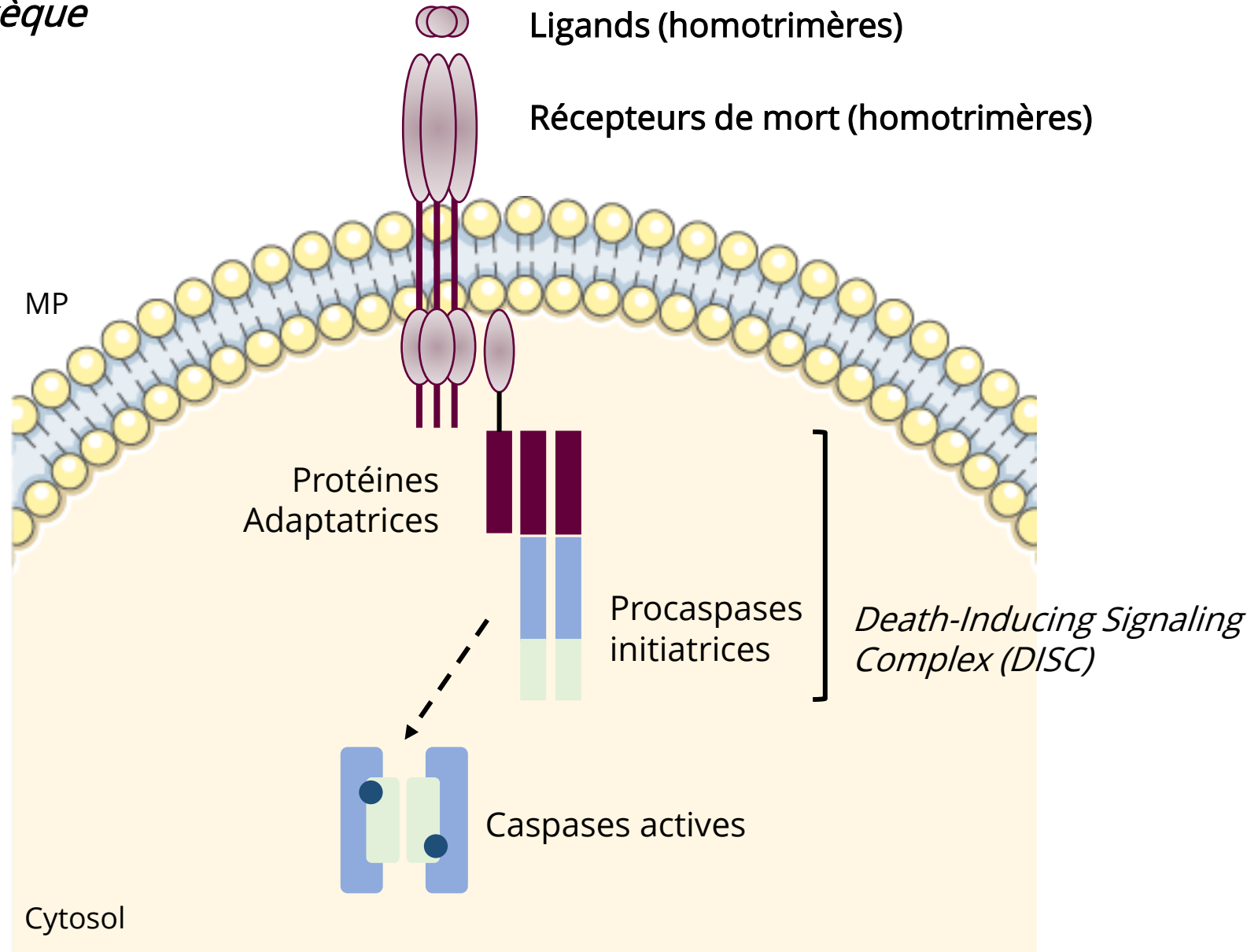


Apoptose

# II. Apoptose



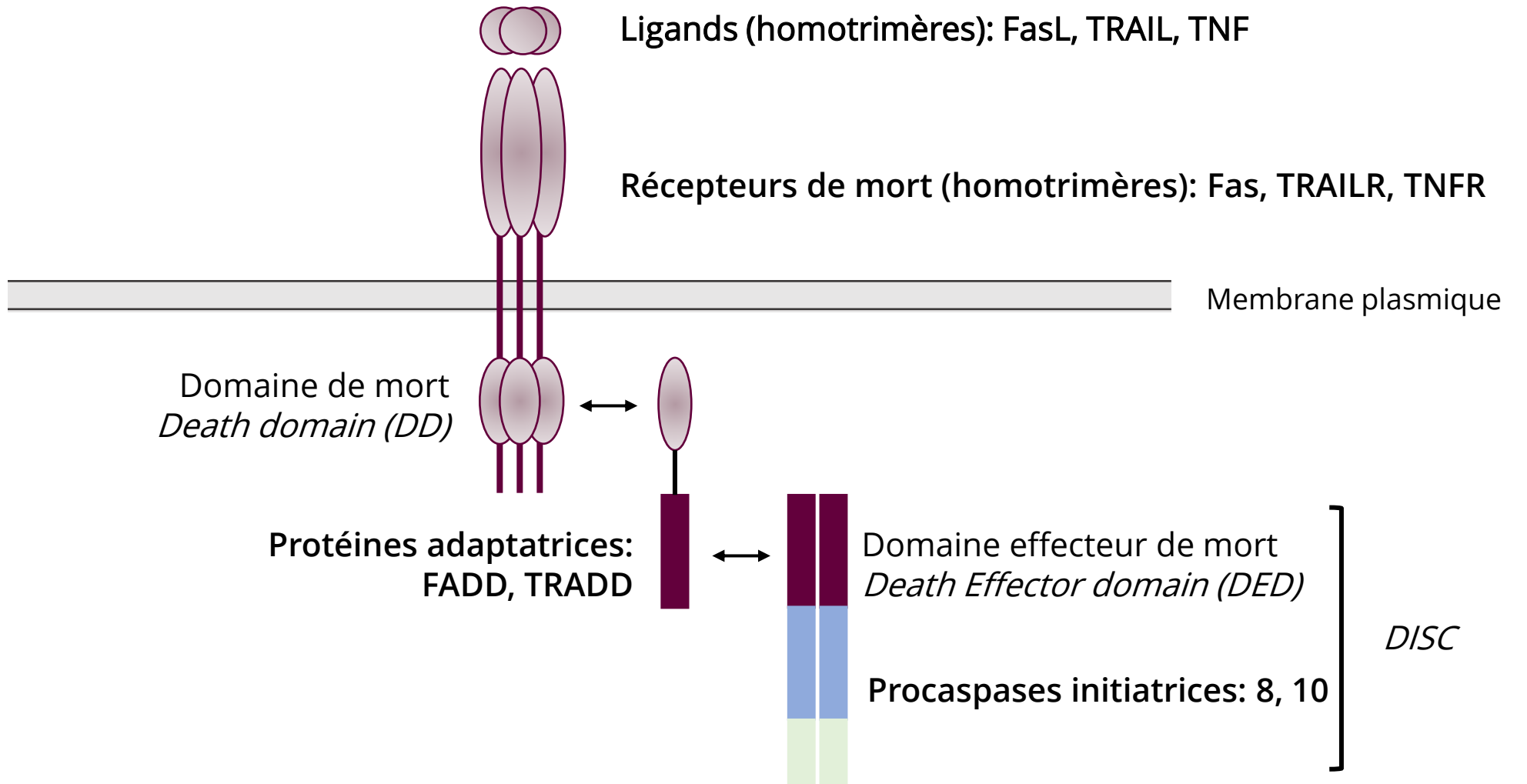
## II.2.2 Voie extrinsèque



## II. Apoptose



### Complexe DISC (*Death-Inducing Signaling Complex*)

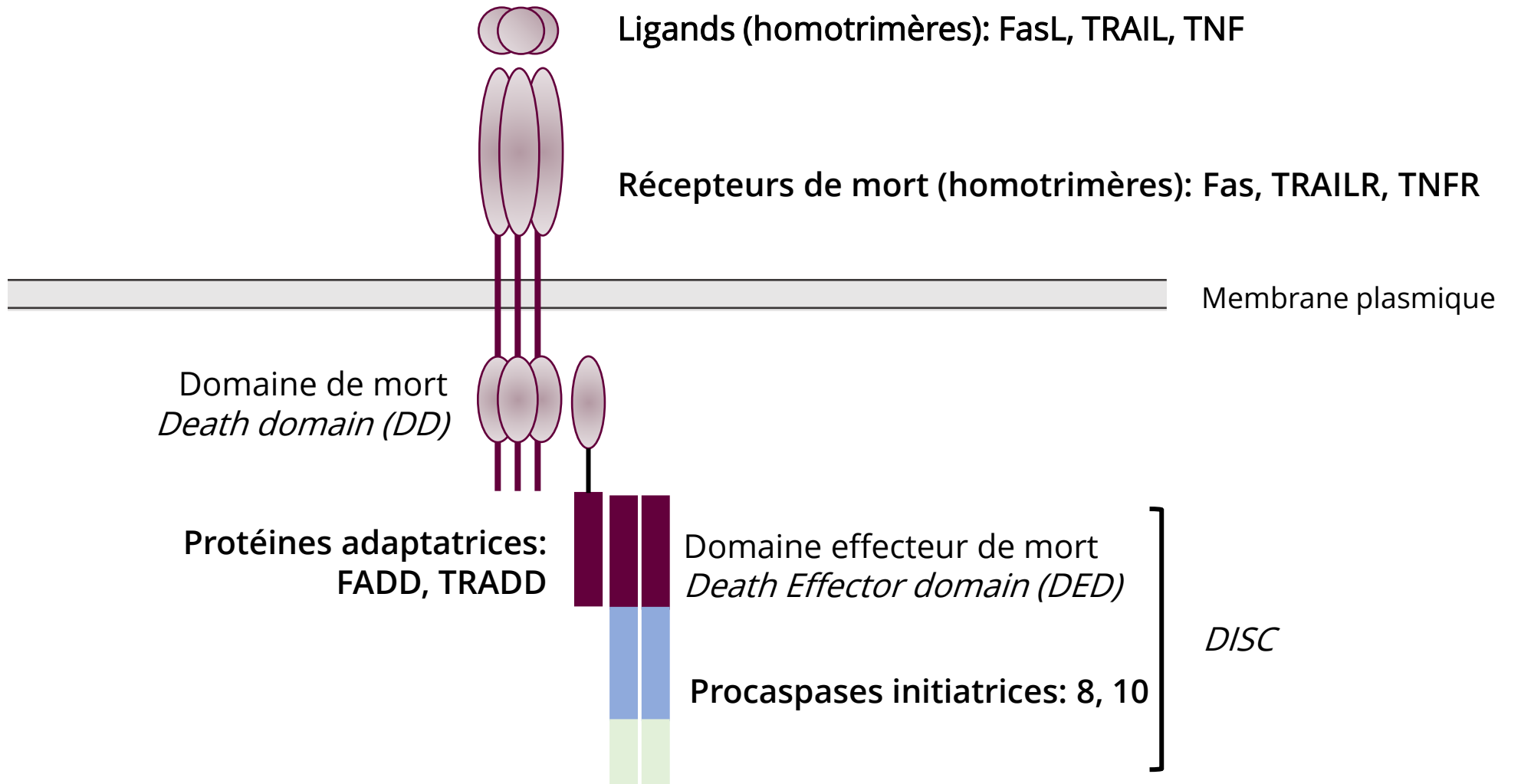




## II. Apoptose



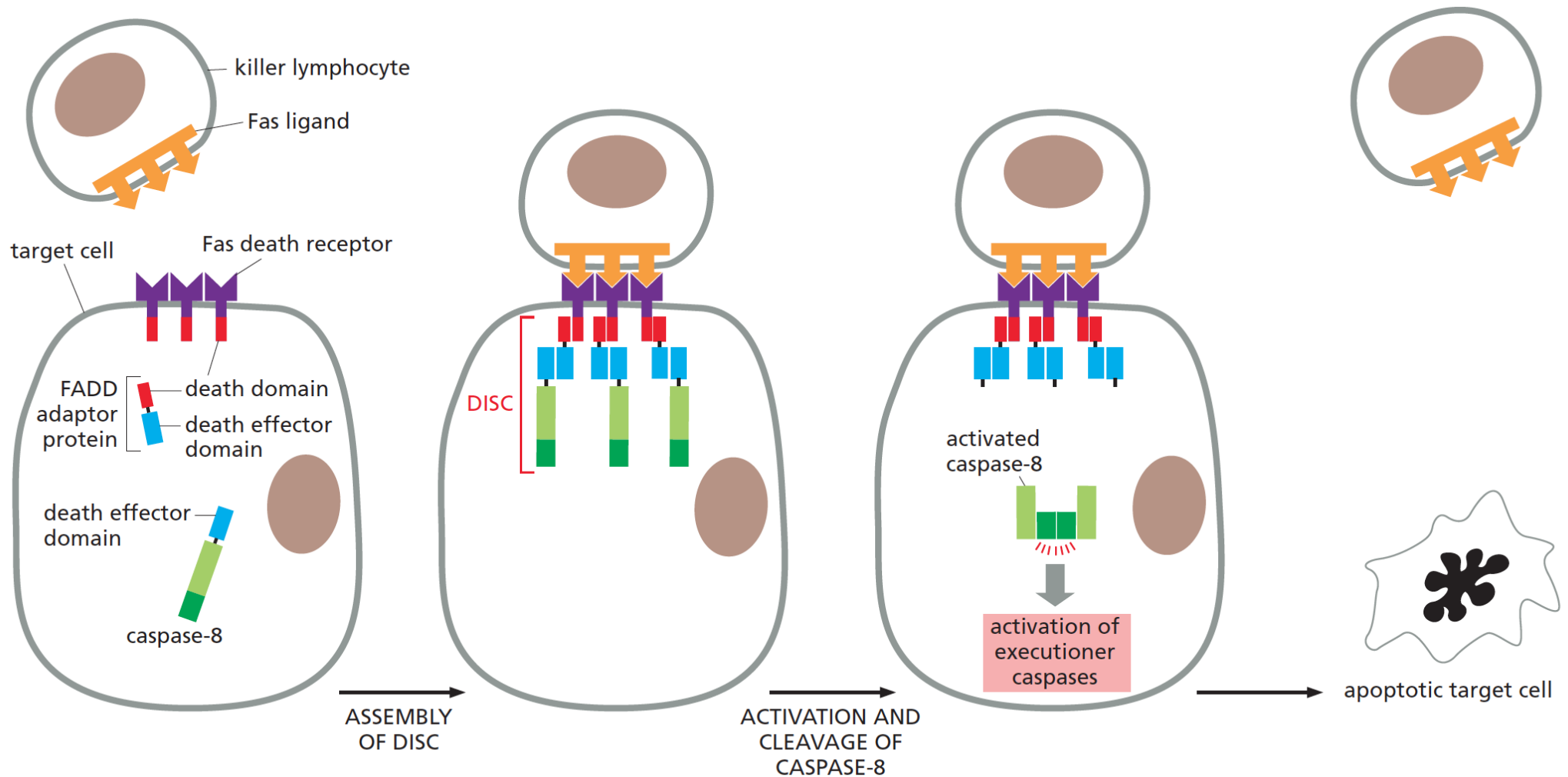
### Complexe DISC (*Death-Inducing Signaling Complex*)



# II. Apoptose

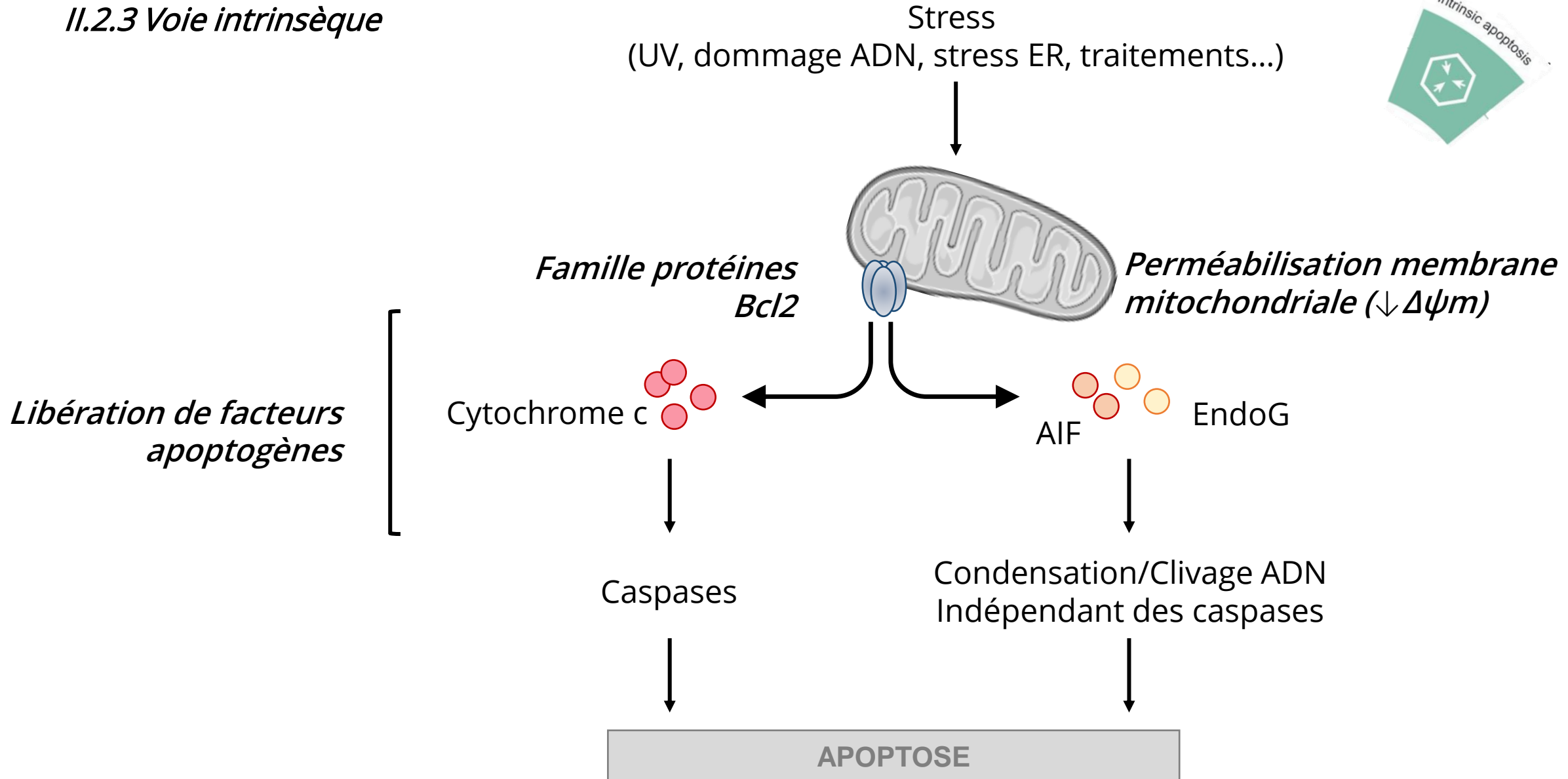


## Cellule immunitaire



# II. Apoptose

## II.2.3 Voie intrinsèque



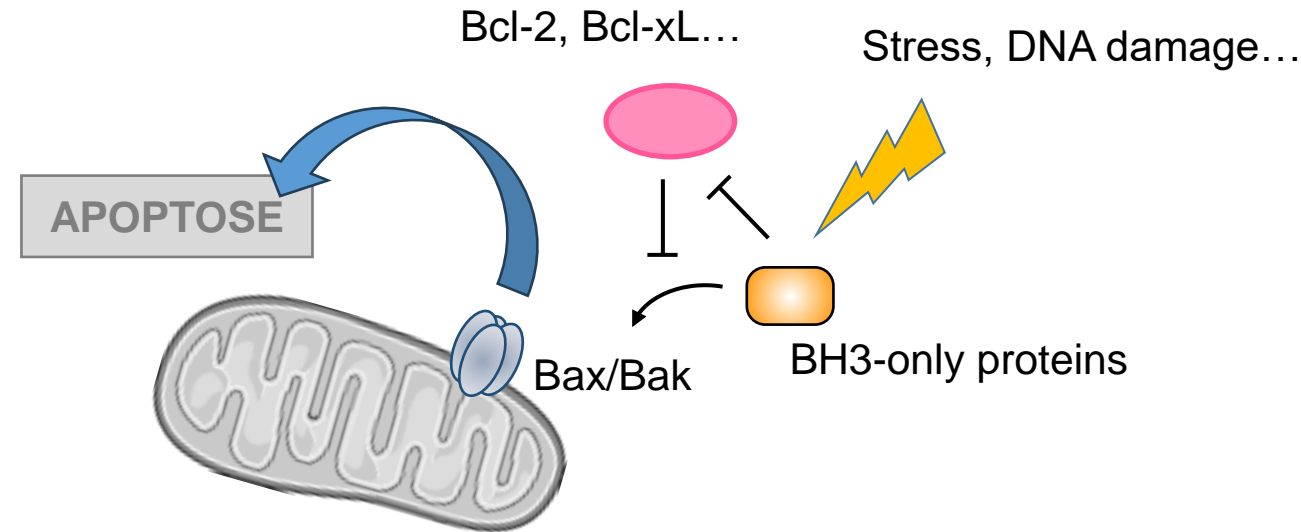
# II. Apoptose

## Protéines de la famille Bcl2

- Régulent libération facteurs apoptogènes mitochondriaux
- Fonctions pro- ou anti-apoptotiques
- Interactions modulent leur activité
- 3 classes:

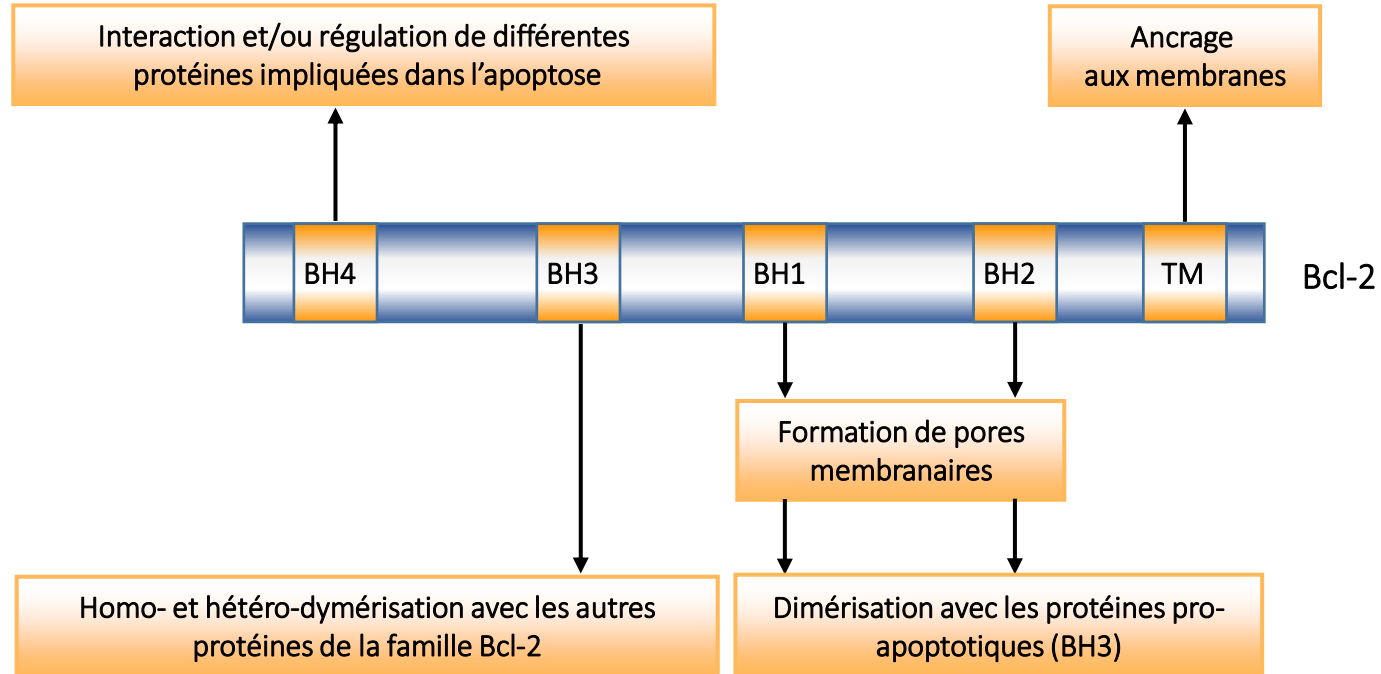


Cell Biology third edition, T. Pollard, W. Earnshaw, Elsevier



# II. Apoptose

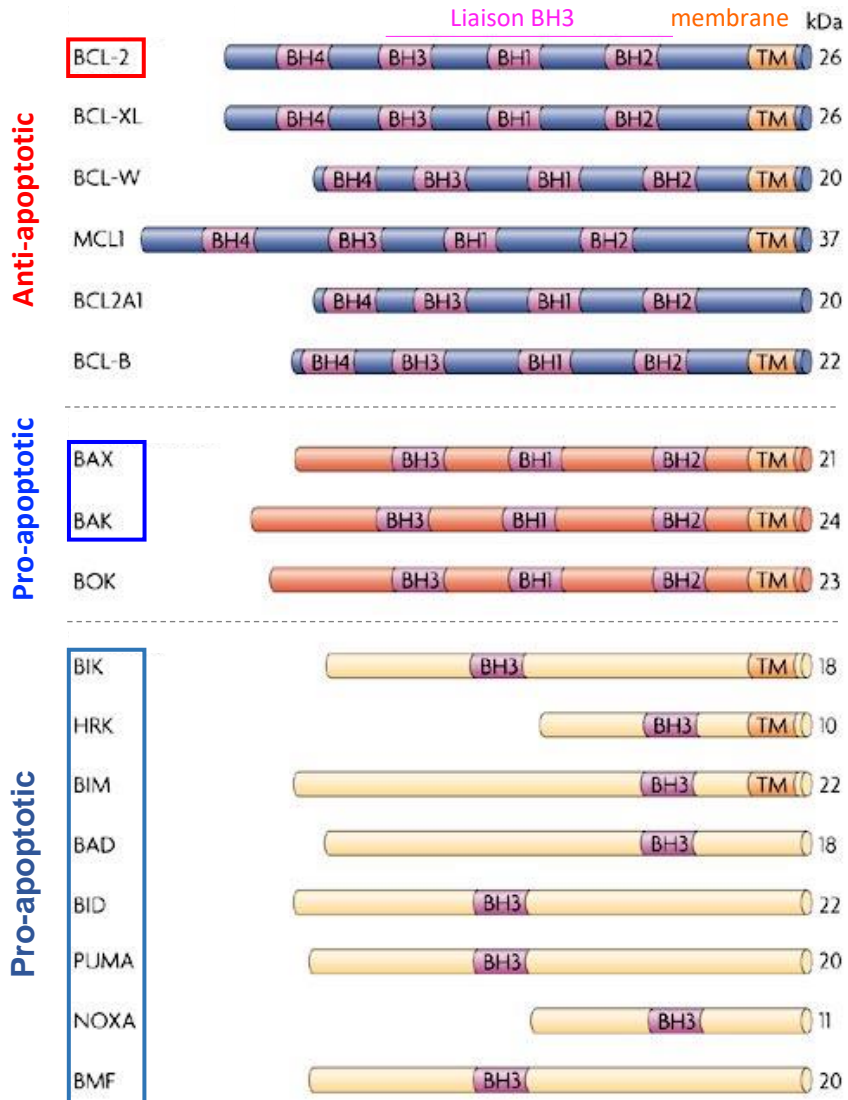
## Protéines de la famille Bcl2



BH = Bcl-2 Homology Domain

# II. Apoptose

## Protéines de la famille Bcl2



Taylor et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2008

### Membres anti-apoptotiques

4 domaines BH + ancrage mb (TM)

### Membres pro-apoptotiques : Bax-like

3 domaines BH

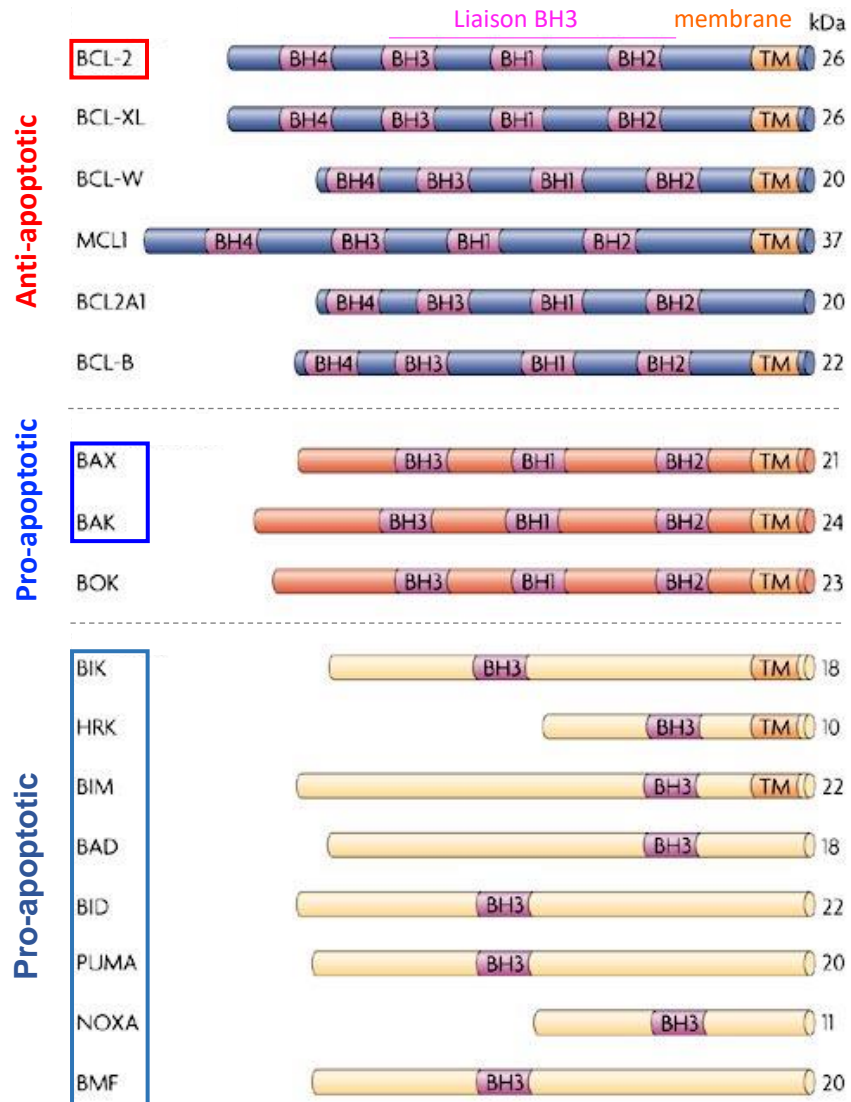
Change perméabilité mb

### Membres pro-apoptotiques : BH3 only

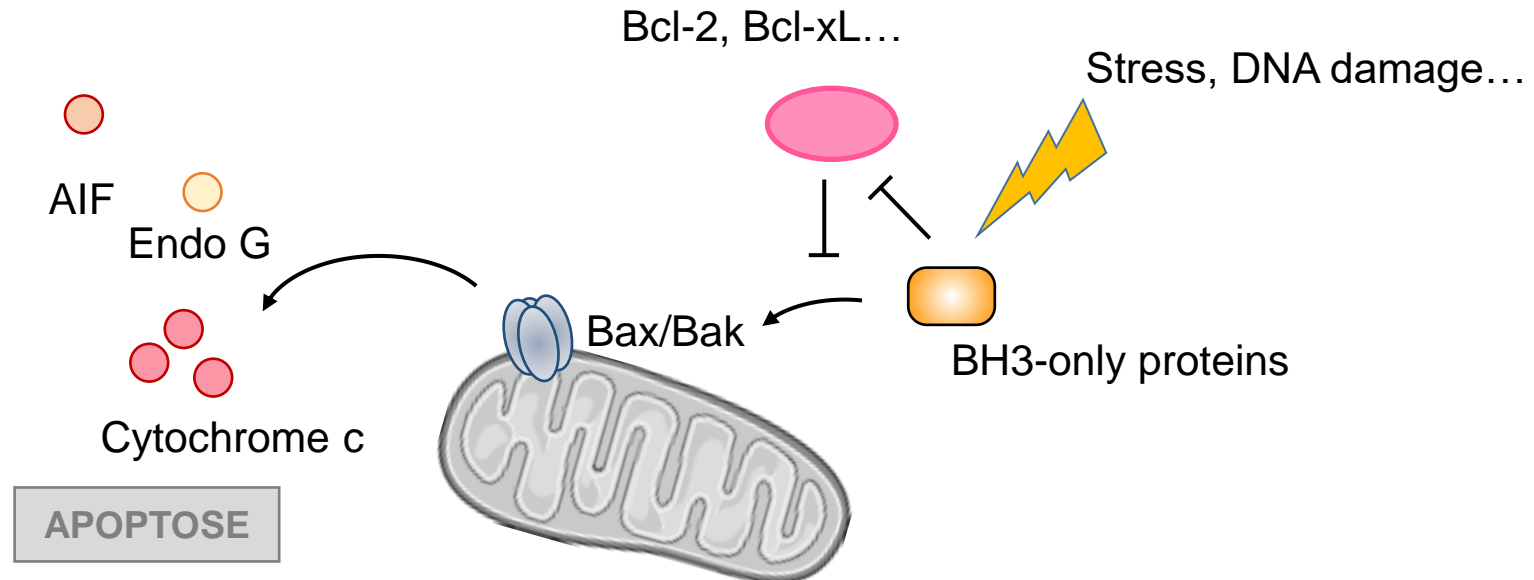
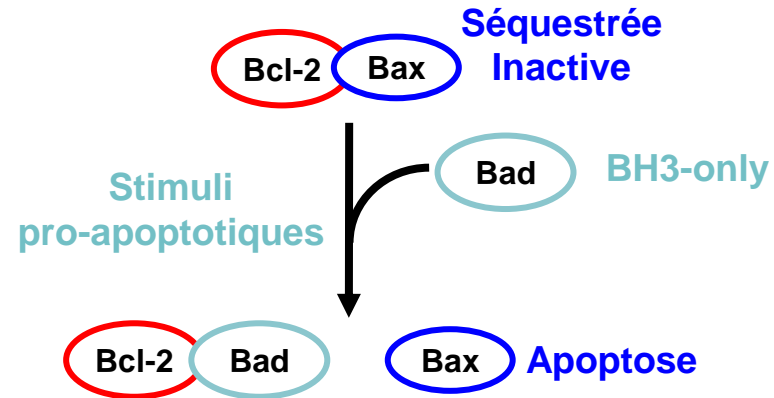
1 domaine BH3

# II. Apoptose

## Protéines de la famille Bcl2

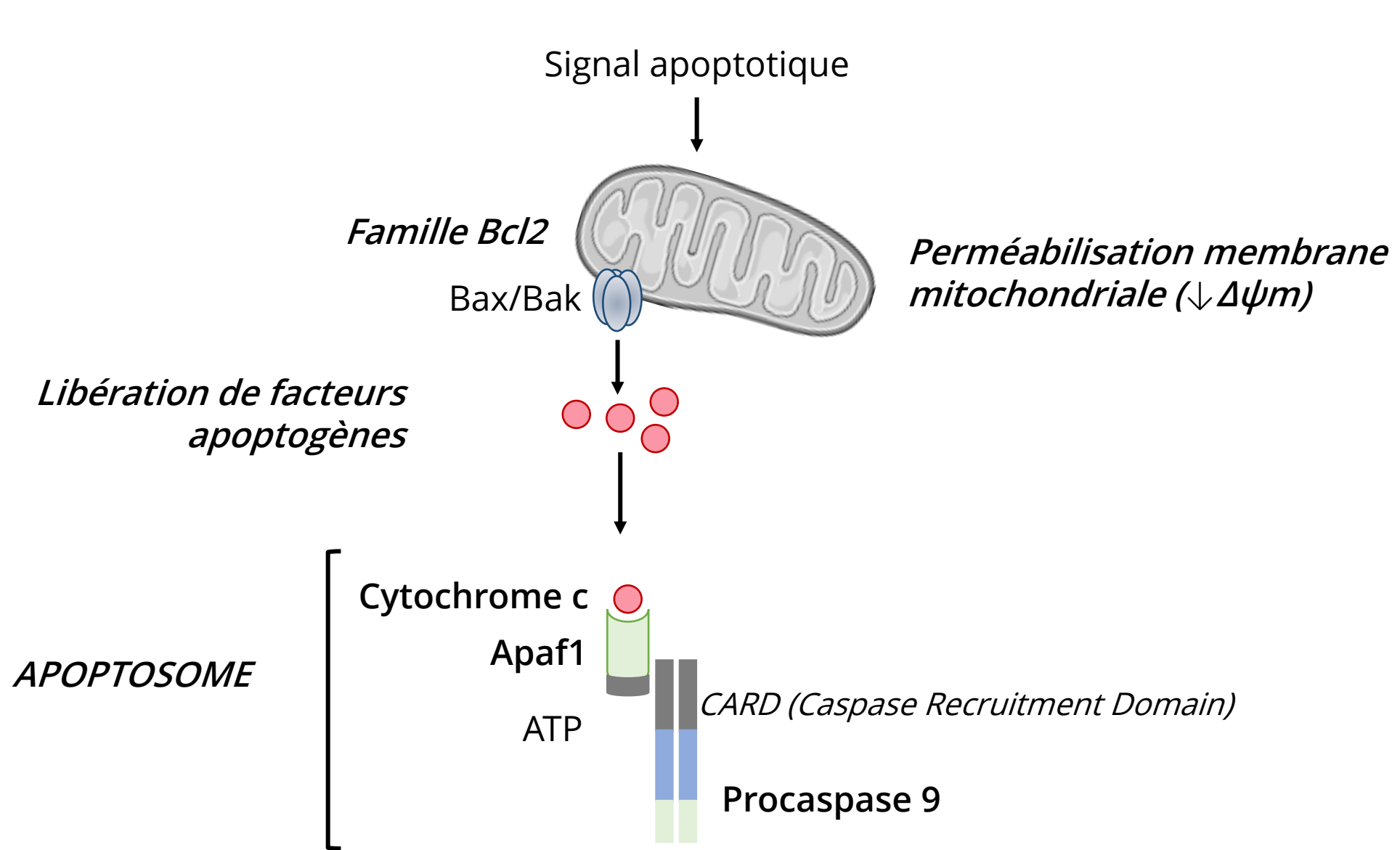


### Principe de la famille

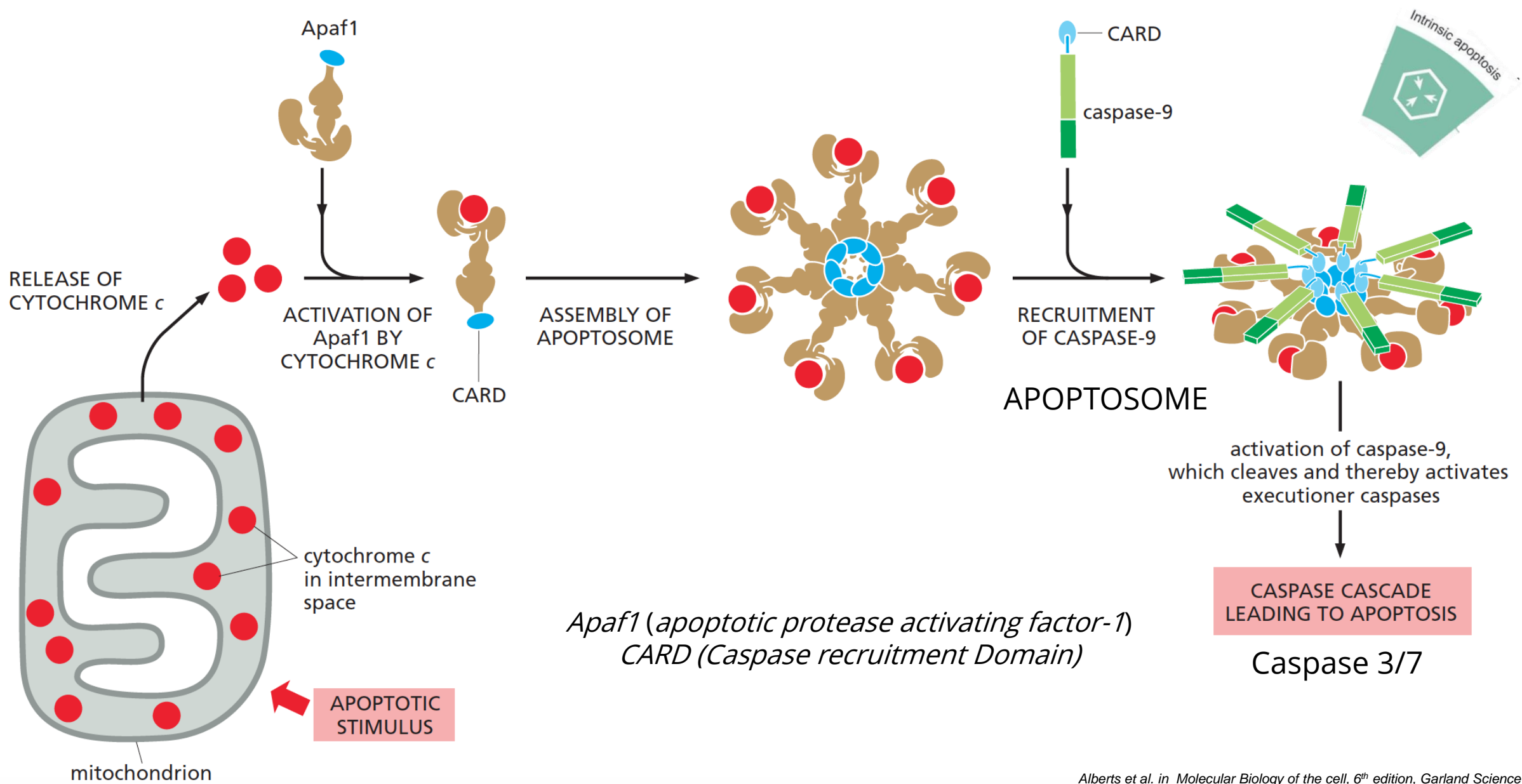




## II. Apoptose



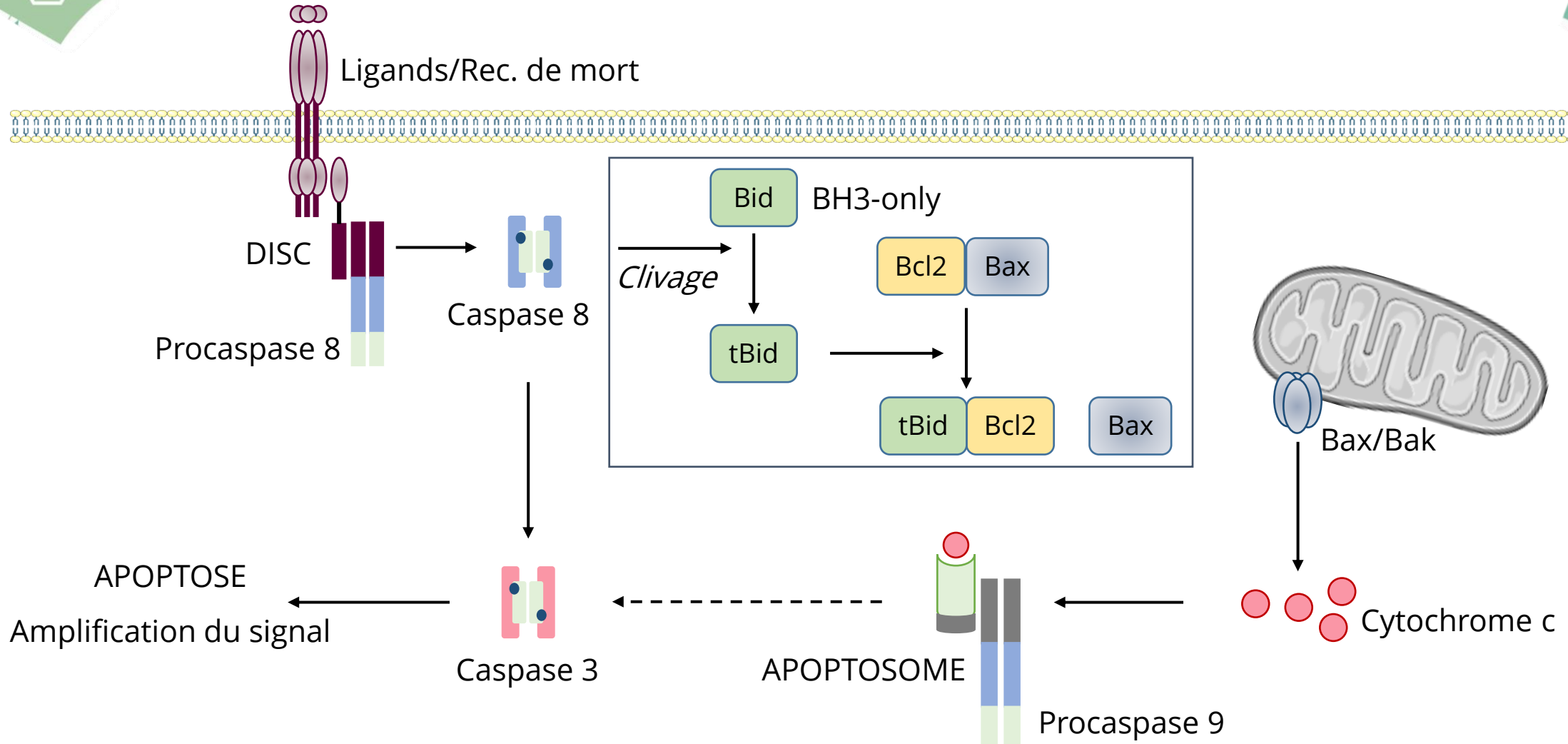
# II. Apoptose



# II. Apoptose



## II.2.4 Lien entre voies extrinsèque & intrinsèque



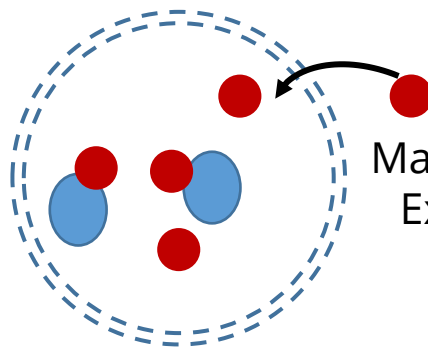
# II. Apoptose

## II.3. Détection & analyse de l'apoptose

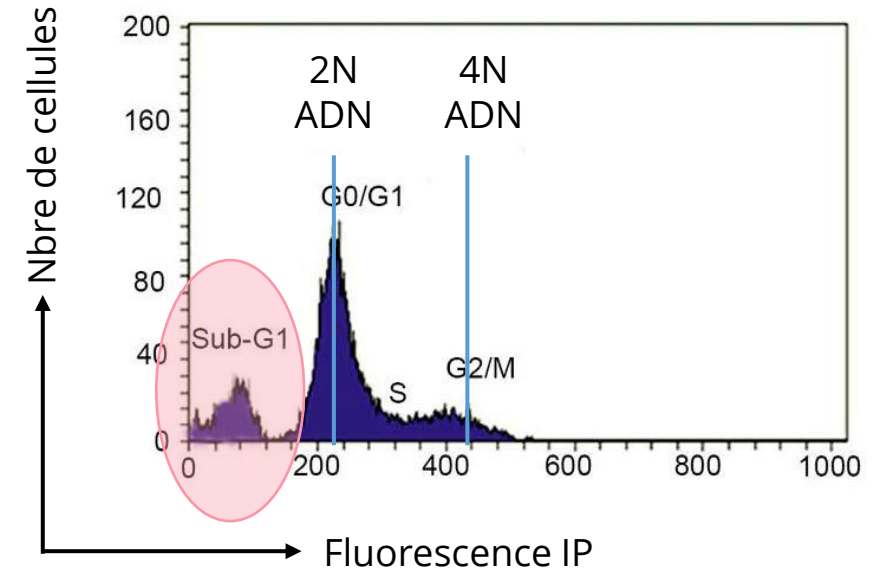
### *Détection du clivage de l'ADN*

- Electrophorèse sur gel d'agarose (fragments d'ADN multiples de 180 pb)
- TUNEL (*Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labelling*) : marquage extrémités 3'OH libres avec dUTP fluo.
- Analyse du contenu en ADN par cytométrie en flux : « Sub-G1 »

Perméabilisation  
des cellules



Marqueur de l'ADN fluorescent  
Ex: Iodure de Propidium (IP)



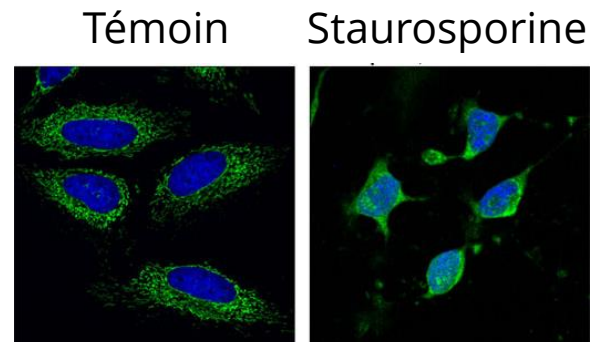
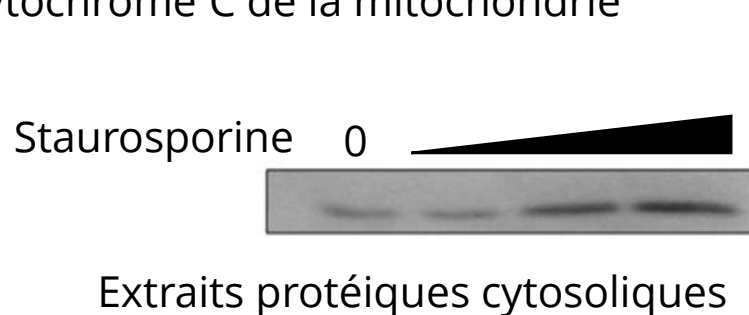
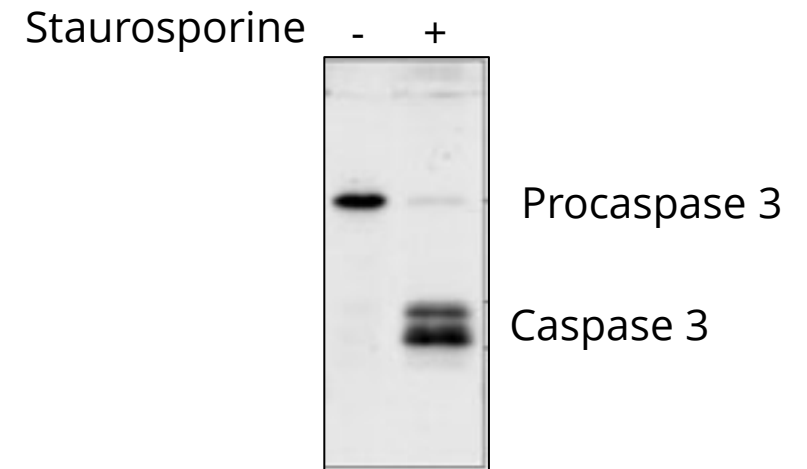
Cellules apoptotiques :  
Sub-G1, <2N quantité d'ADN

# II. Apoptose

## II.3. Détection & analyse de l'apoptose

### *Analyse des modifications de protéines de l'apoptose: WB or Immunofluorescence*

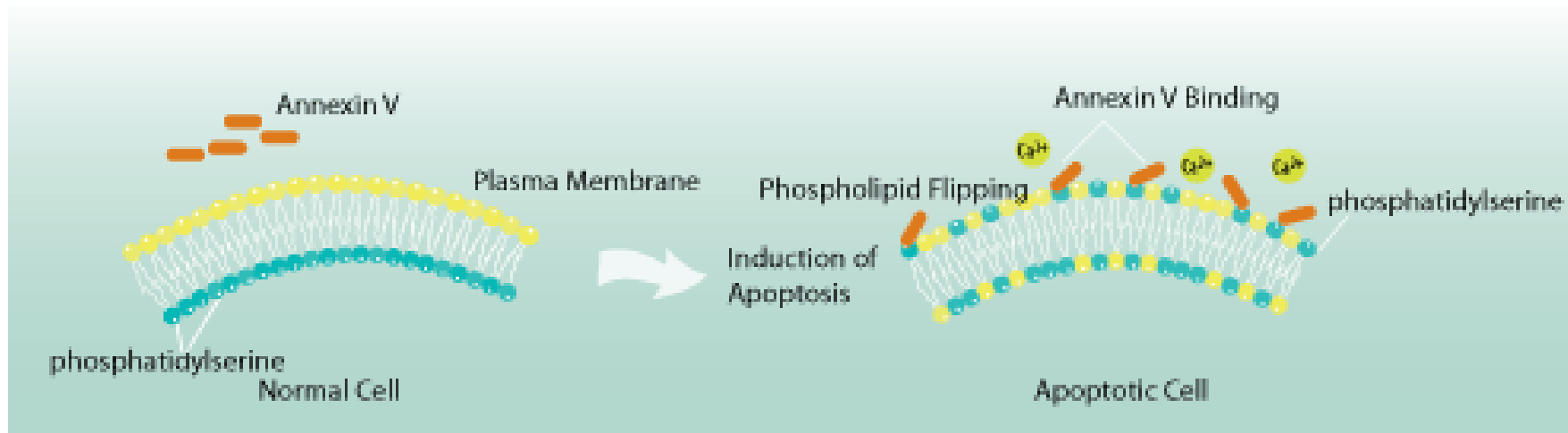
- Variation des niveaux des protéines de la famille Bcl2: ↓ Bcl2 , ↑ BAX
- Clivage des pro-caspases en caspases actives
- Clivage de substrats des caspases effectrices (ex: PARP)
- Sortie de cytochrome C de la mitochondrie



# II. Apoptose

## II.3. Détection & analyse de l'apoptose

*Externalisation Phosphatidylsérines (PtdSer) / Iodure Propidium (IP) -Cytométrie en flux*



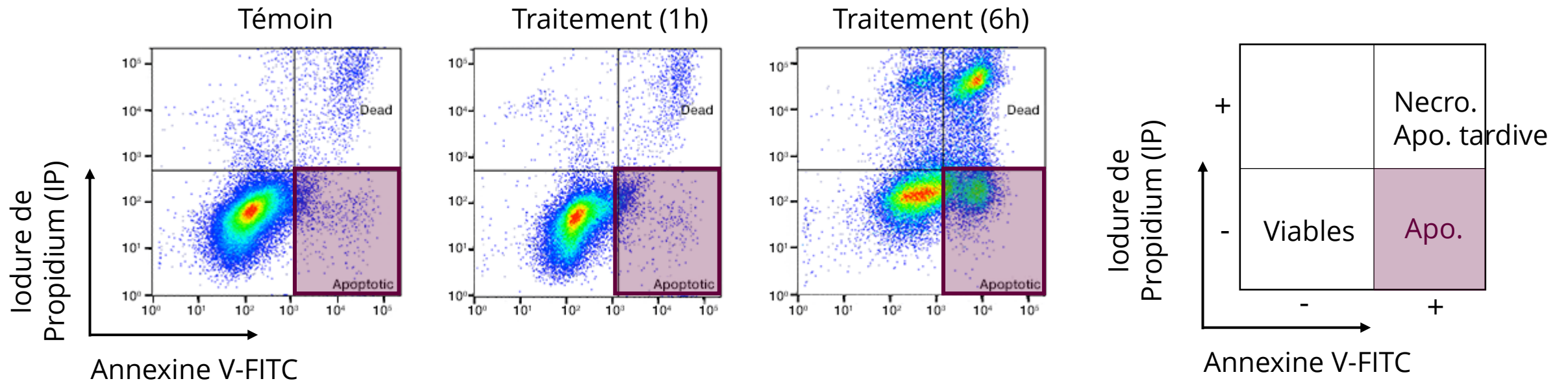
Pas de fixation/perméabilisation des cellules

- Fixation Annexine V aux PtdSer externalisées par cellules apoptotiques
- Pas d'entrée d'IP dans cellules apoptotiques

# II. Apoptose

## II.3. Détection & analyse de l'apoptose

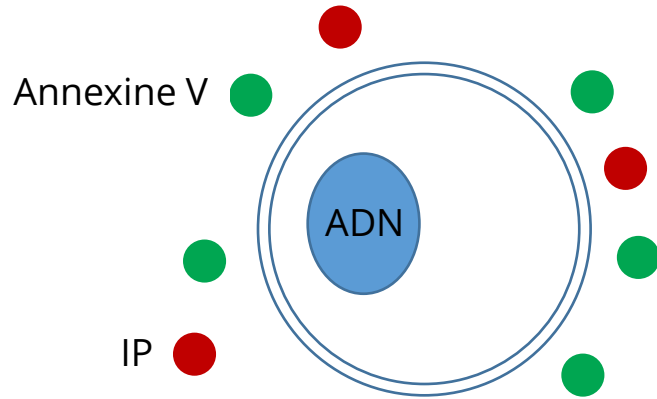
*Externalisation Phosphatidylsérines (PtdSer) / Iodure Propidium (IP) –Cytométrie en flux*



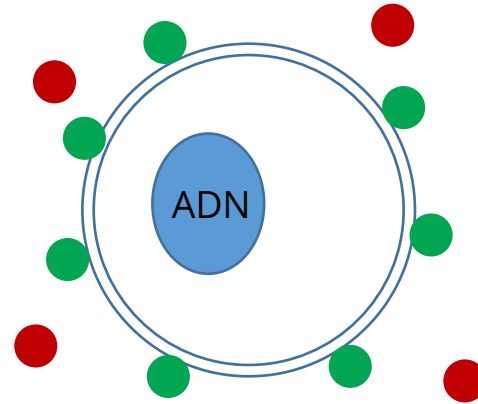
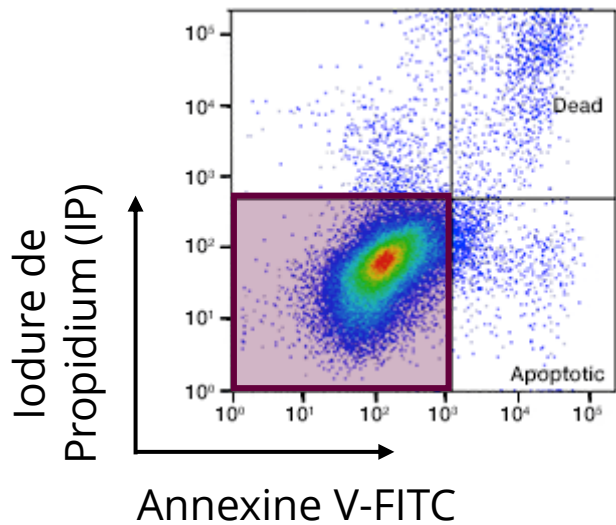


## II. Apoptose

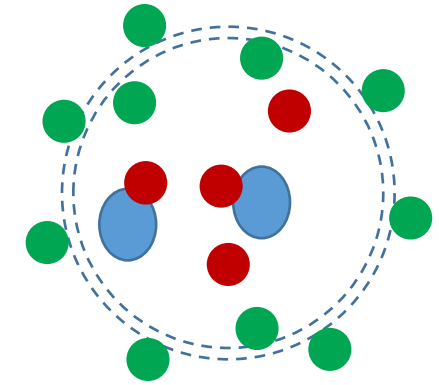
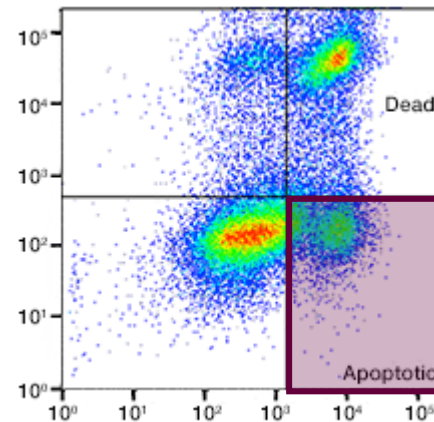
*Externalisation Phosphatidylsérines (PtdSer) / Iodure Propidium (IP) -Cytométrie en flux*



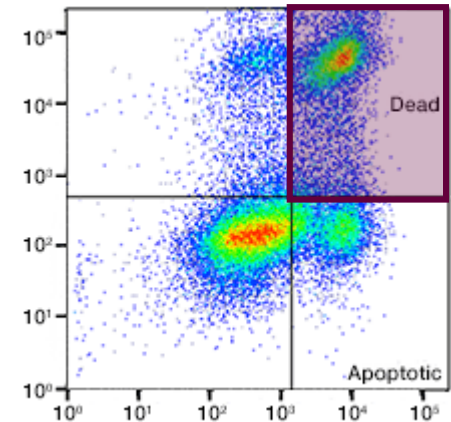
Cellules vivantes  
 $IP^- / Annexine V^-$



Apoptose précoce  
 $IP^- / Annexine V^+$



Apoptose tardive/Nécrose  
 $IP^+ / Annexine V^+$

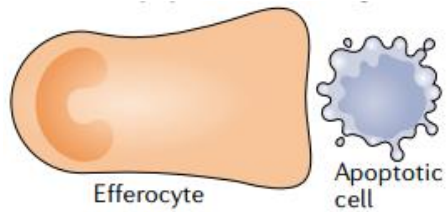


# II. Apoptose

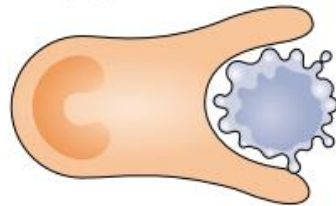
## II.4. L'apoptose, une mort cellulaire silencieuse ?

- Elimination des cellules en apoptose/corps apoptotiques par phagocytes

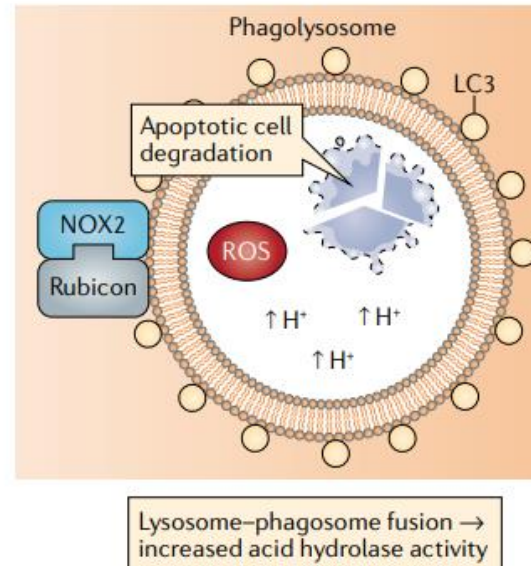
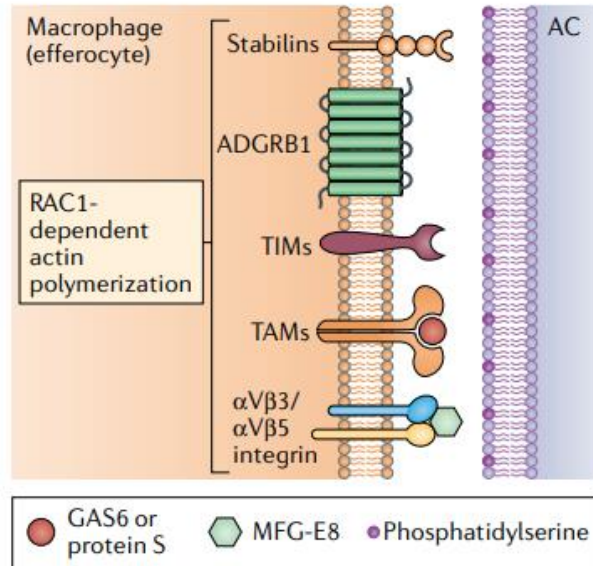
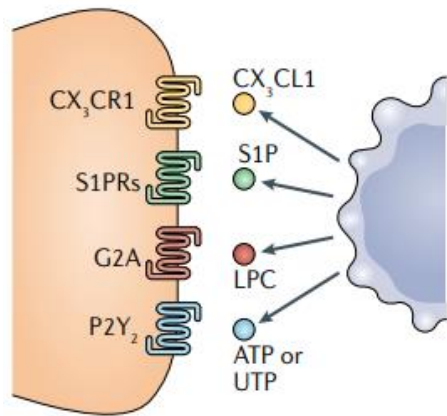
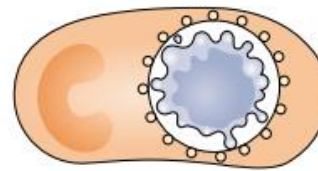
Signaux « Find-me »



Signaux « Eat-me »



Dégradation lysosomale  
Réponse anti-inflammatoire

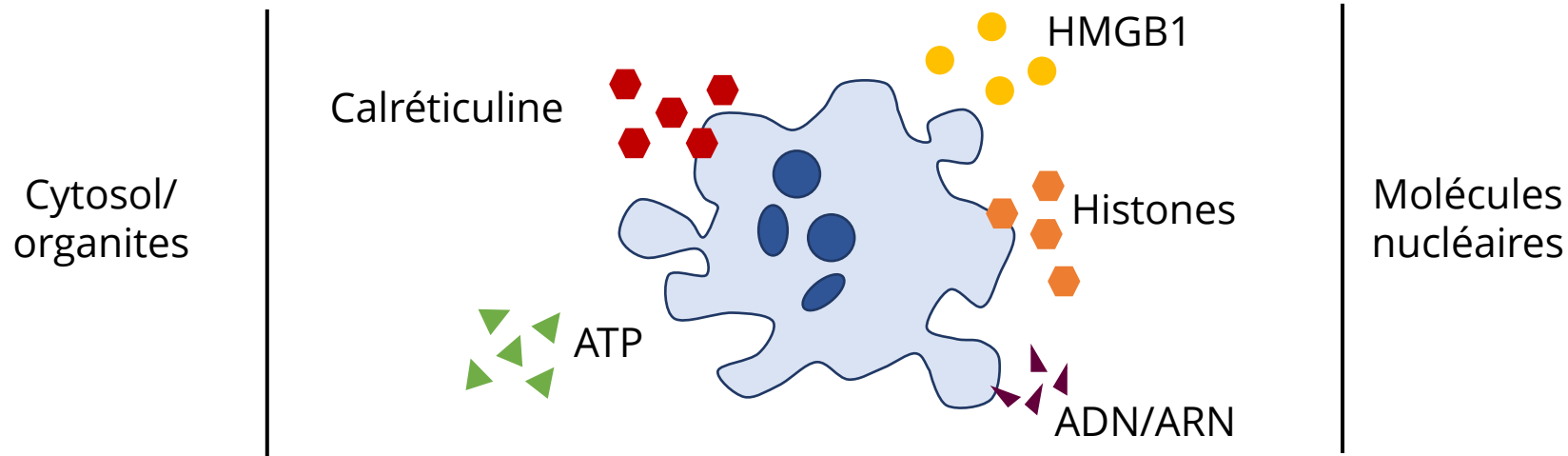


Pas d'apoptose tardive  
/nécrose secondaire dans un  
organisme

## II. Apoptose

### II.4. L'apoptose, une mort cellulaire silencieuse ?

- Pas de rupture de la membrane plasmique → pas de libération massive de constituants intracellulaires
- Certains stress (ex : certaines chimiothérapies anti-cancéreuses) → exposition/libération **contrôlée** de certains DAMPS



- = Mort cellulaire immunogène : importante pour réponses immunitaires anti-tumorales

# II. Apoptose

---

## II.5. Apoptose, pathologies et traitements

### *Pathologies liées à un défaut d'apoptose*

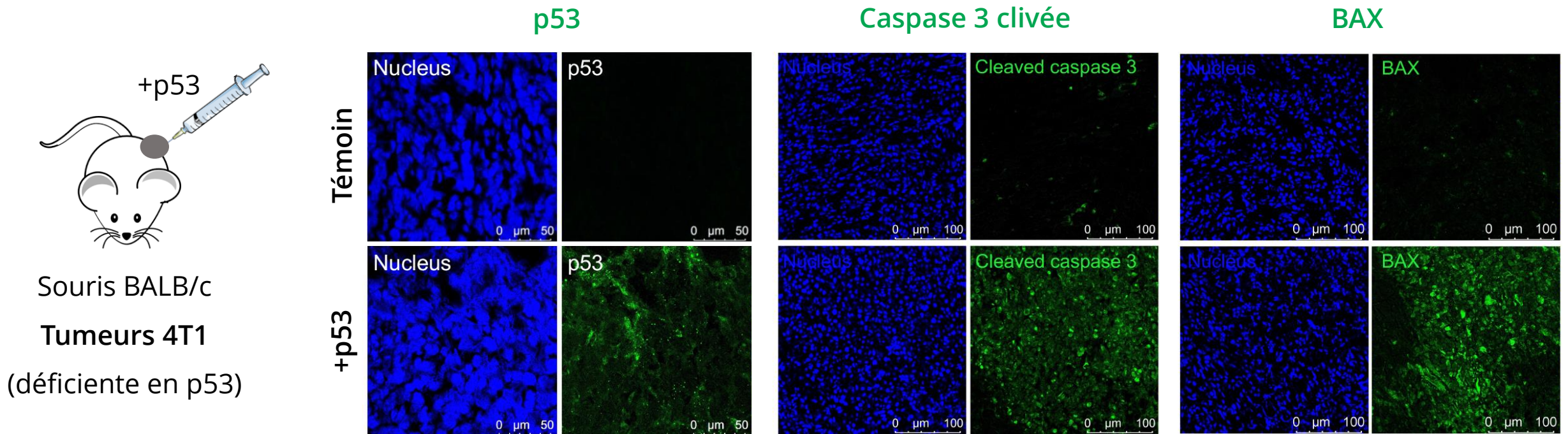
- **Maladies auto-immunes:** pas d'élimination des lymphocytes T autoréactifs dans le thymus  
→ auto-immunité
  
- **Infections virales:** expression d'inhibiteurs viraux de l'apoptose → survie des cellules infectées, réplication virale favorisée

# II. Apoptose

## II.5. Apoptose, *pathologies* et traitements

### *Pathologies liées à un défaut d'apoptose*

- **Cancers** : mutation p53, surexpression Bcl2, perte de Bax → Survie cellules cancéreuses



Zang et al, JITC, 2022

Ré-expression p53 : rétablissement apoptose



# II. Apoptose

## II.5. Apoptose, pathologies et traitements

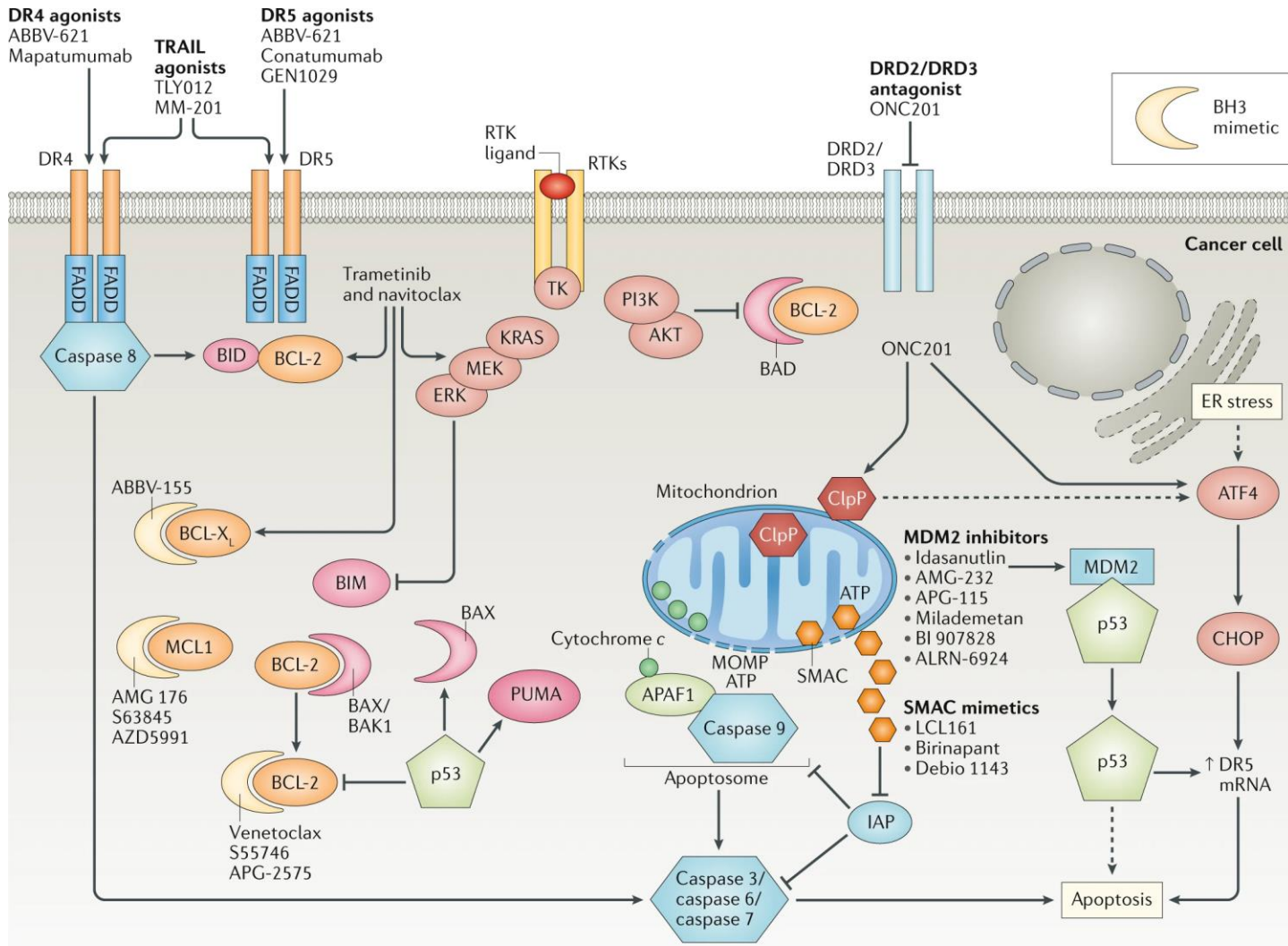
### *Pathologies liées à un excès d'apoptose*

- **SIDA**: apoptose des lymphocytes liée à une surexpression du récepteur de mort Fas
- **Maladies Neurodégénératives** :
  - Alzheimer (surexpression FasL or TNF $\alpha$ )
  - Huntington / Parkinson
- **AVC**: ischémies causent surexpression de Bax

# II. Apoptose

## II.5. Apoptose, pathologies et traitements

### Traitement Cancers



- Inhibiteurs Bcl2 / BclXL (ex: Venetoclax, Navitoclax)
- Inhibiteurs protéines anti-apoptotiques (ex: LCL161, Birinapant)
- Agonistes récepteurs de mort (ex: GEN1029)
- Inhibiteurs MDM2 pour cibler p53 (ex: Idasanutlin)
- Inhibition signalisation Oncogénique (ex: Trametinib)



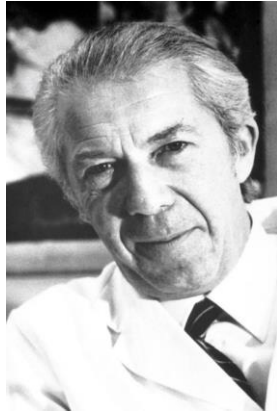
# III. Autophagie

## III.1. Définition, rôles physiologiques & caractéristiques



Prix Nobel Physiologie & Medicine

1974



C. De Duve

Lysosome (1955)  
Autophagie (1963)

2016



Y. Ohsumi

Identification 1<sup>er</sup> gene de l'autophagie (Atg) chez levure (1993)  
1<sup>er</sup> clonage d'un Atg (1997)

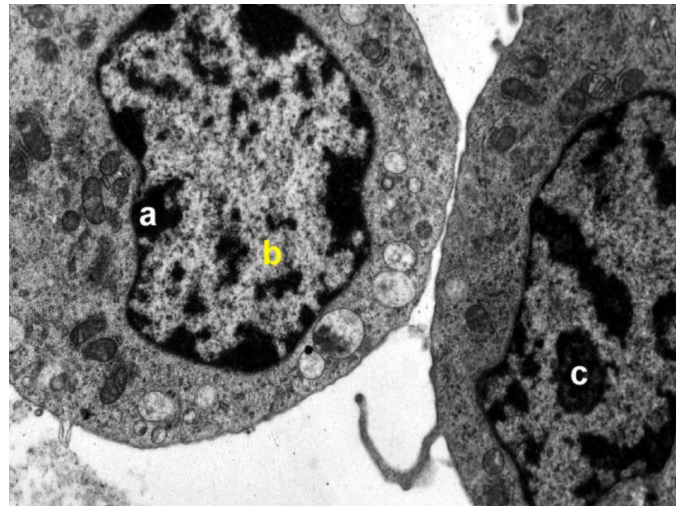
# III. Autophagie



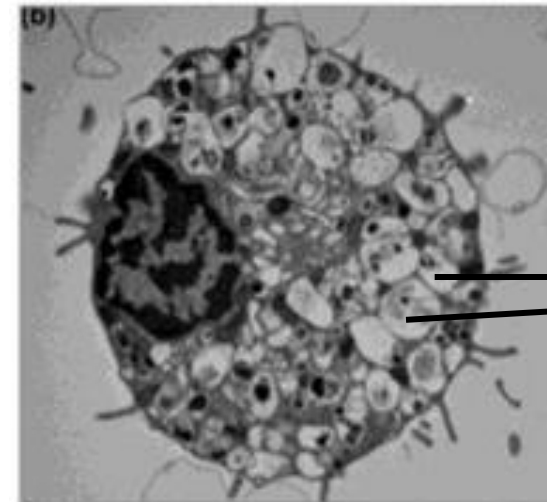
Décrite initialement comme mort cellulaire de Type II

- Accumulation de vésicules autophagiques
- Autodigestion à l'extrême
- Observée chez *Drosophila melanogaster* et *Dictyostelium discoïdum*

Cellules vivantes



Mort cellulaire autophagique



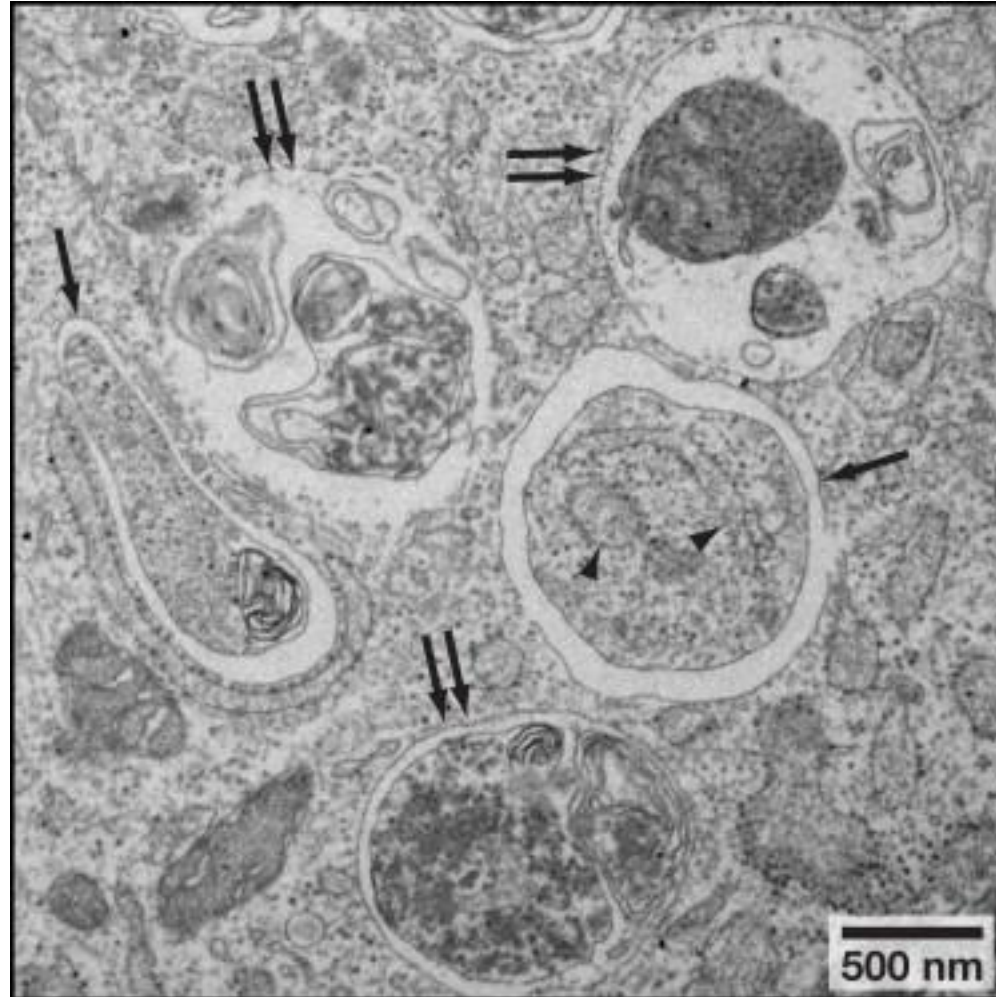
(Macro)Autophagie = Processus d'autodigestion conservé au cours de l'évolution qui aboutit à la dégradation lysosomale de molécules et organites intracellulaires dans des vacuoles autophagiques.

# III. Autophagie



→ Autophagosomes

⇒ Autophagolysosomes



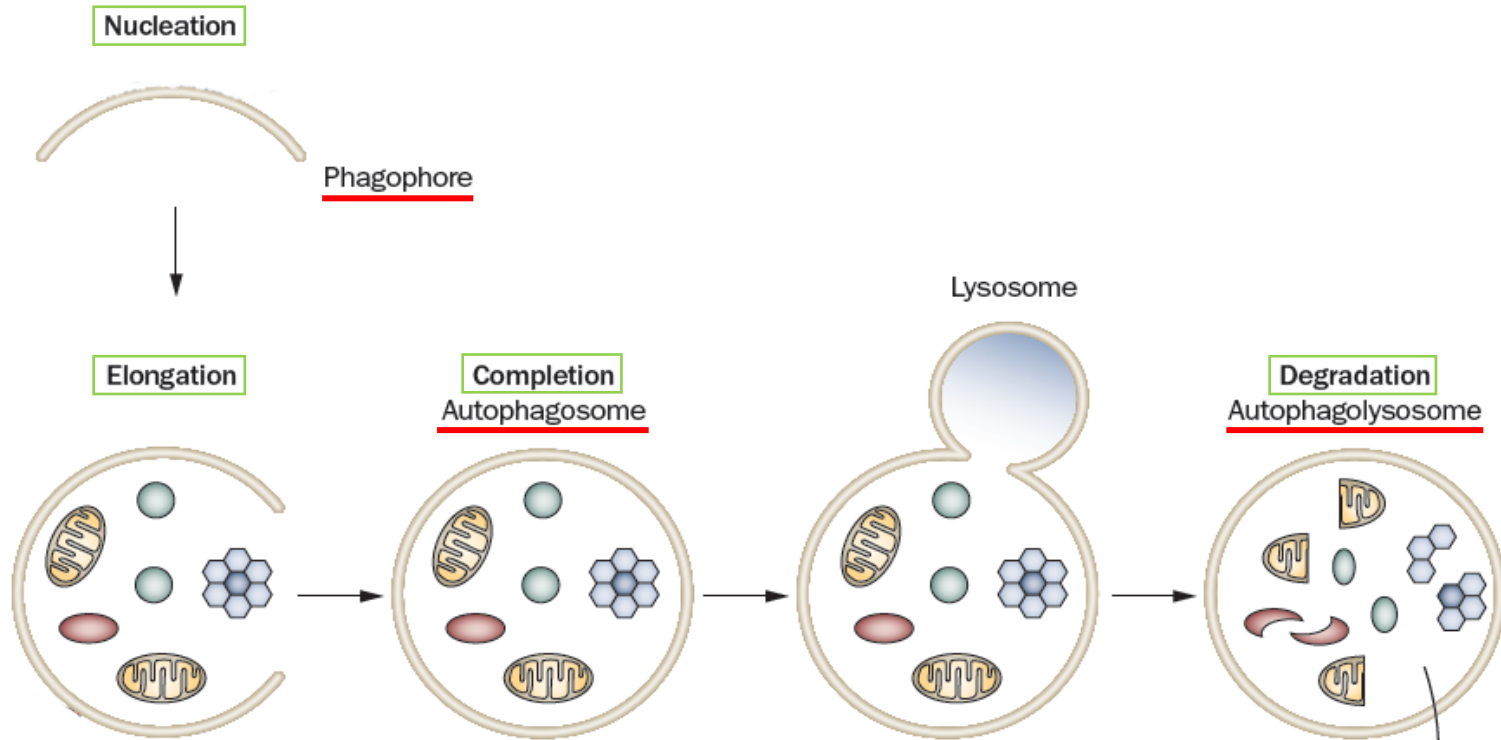
Vacuoles autophagiques

- double membrane
- fusion avec lysosomes

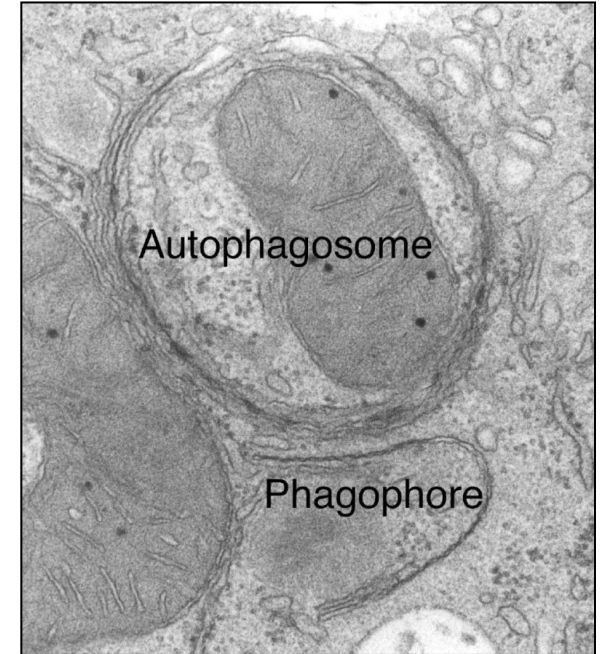
# III. Autophagie

## III.2. Mécanismes moléculaires

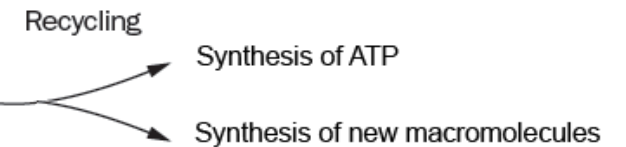
### 1. Séquestration de matériel cytoplasmique (macromolécules, organites, etc...)



D'après Janku et al., 2011



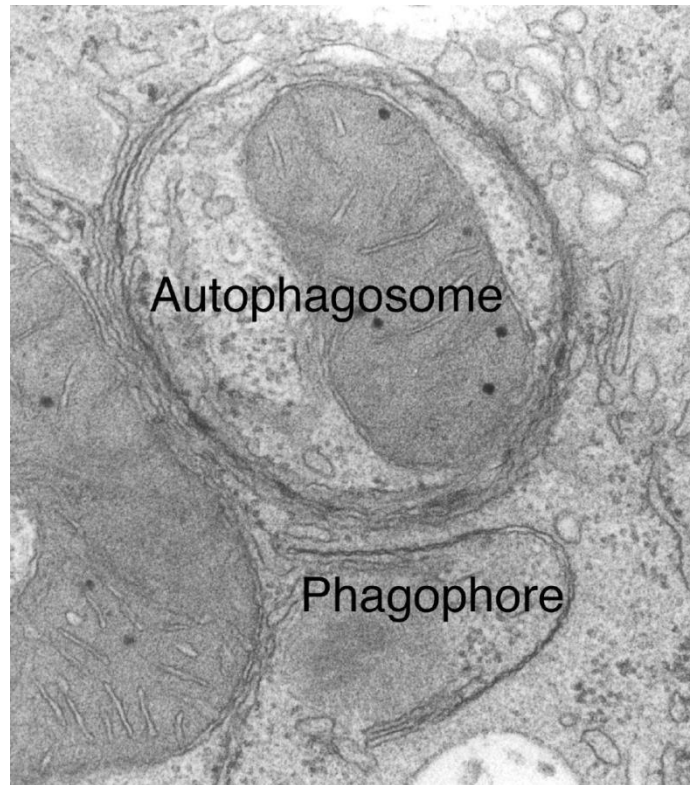
Eskelinen et al., 2005



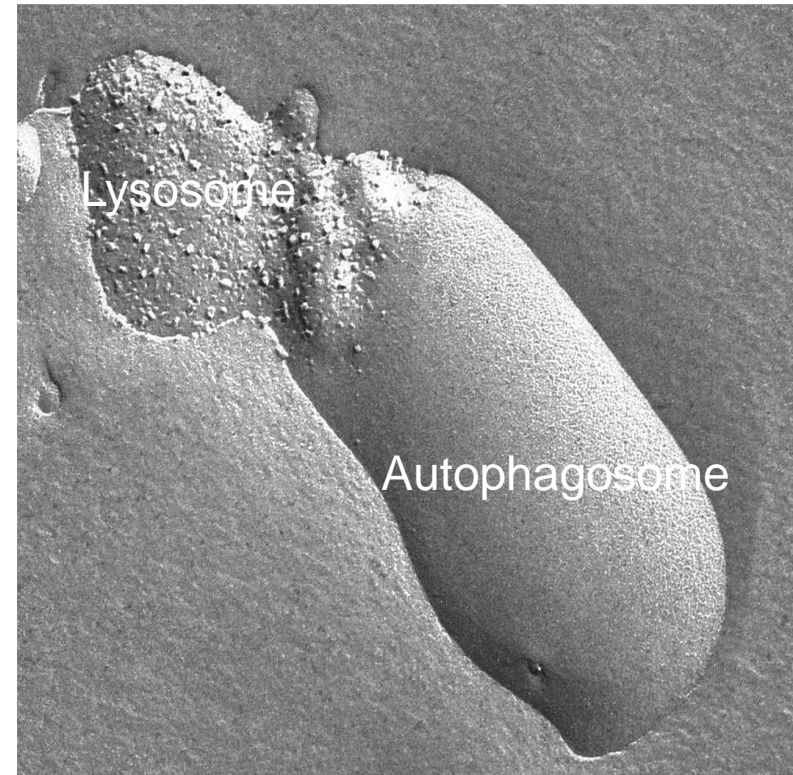
### 2. Dégradation et recyclage du matériel cytoplasmique



# III. Autophagie



*Eskelinen et al., 2005*



*Fengsrud et al., 2000*

# III. Autophagie

## *Machinerie cellulaire de l'Autophagie*



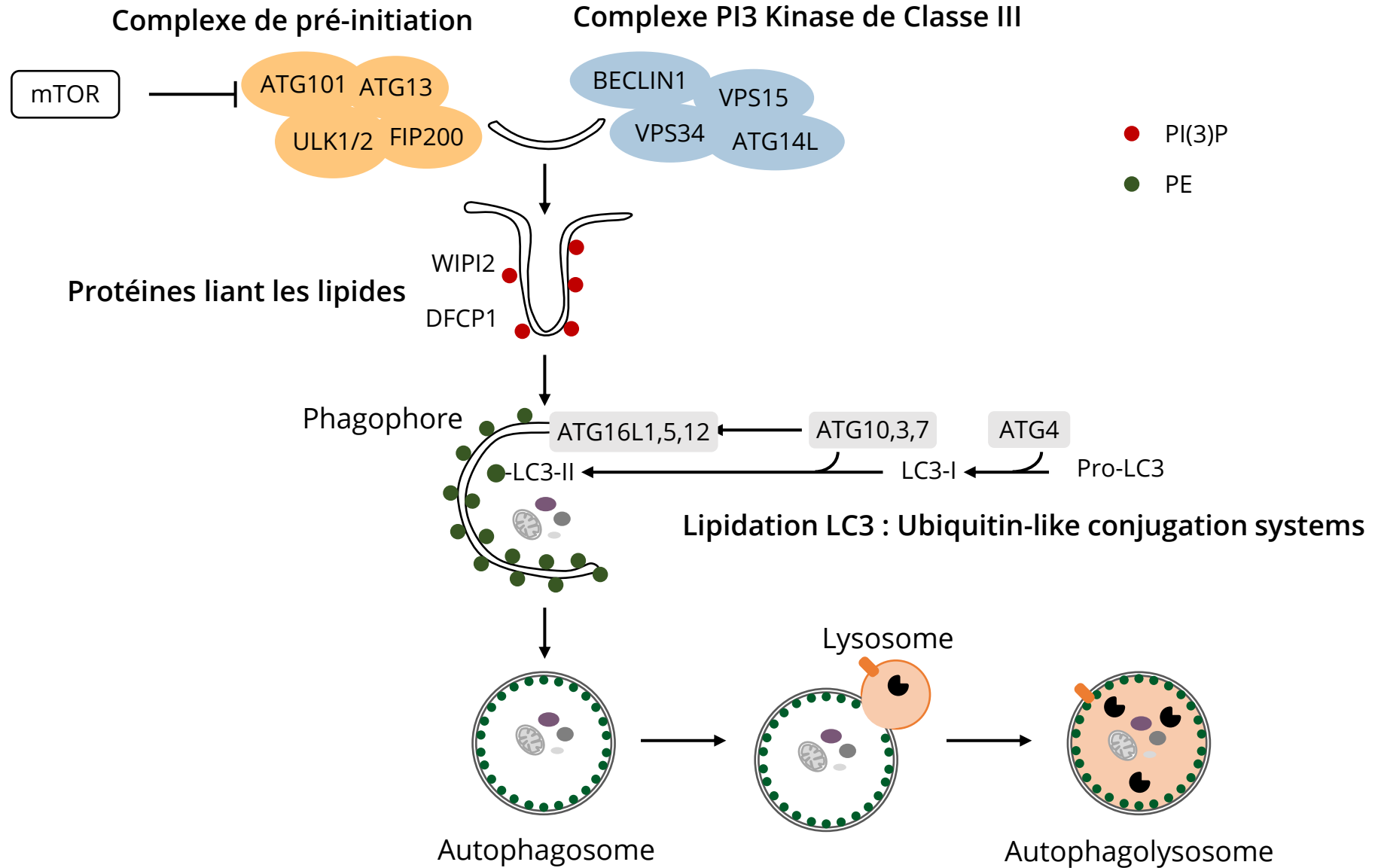
Environ 40 gènes de l'autophagie = ATG

- Identifiés chez la levure, conservés au cours de l'évolution
- Formation and maturation des autophagosomes, régulation de l'autophagie

Protéines organisées en complexes

- **Complexe de pré-initiation:** ULK1/2, FIP200, ATG13, ATG101 → Nucléation
- **Complexe PI3 Kinase de Classe III :** Beclin1, VPS34, VPS15, ATG14L → génération de lipides (PI(3)P)
- **Protéines liant les lipides:** WIPI2, DFCP1
- **Machinerie de lipidation de la protéine LC3:** ATG4, ATG10/3/7, ATG16L1/12/5 → Conjugaison de LC3 à des lipides (phosphatidylethanolamines = PE)

# III. Autophagie





# III. Autophagie

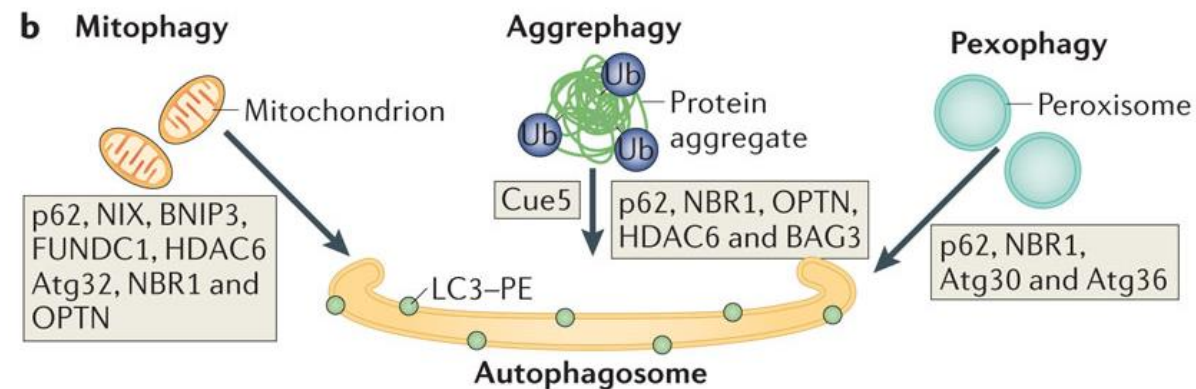
## III.3. Autophagie non-sélective et sélective

### Autophagie non sélective:

- séquestration aléatoire de constituants du cytosol, cargos non spécifiques
- Basale ou induite par déficit en énergie/nutriments

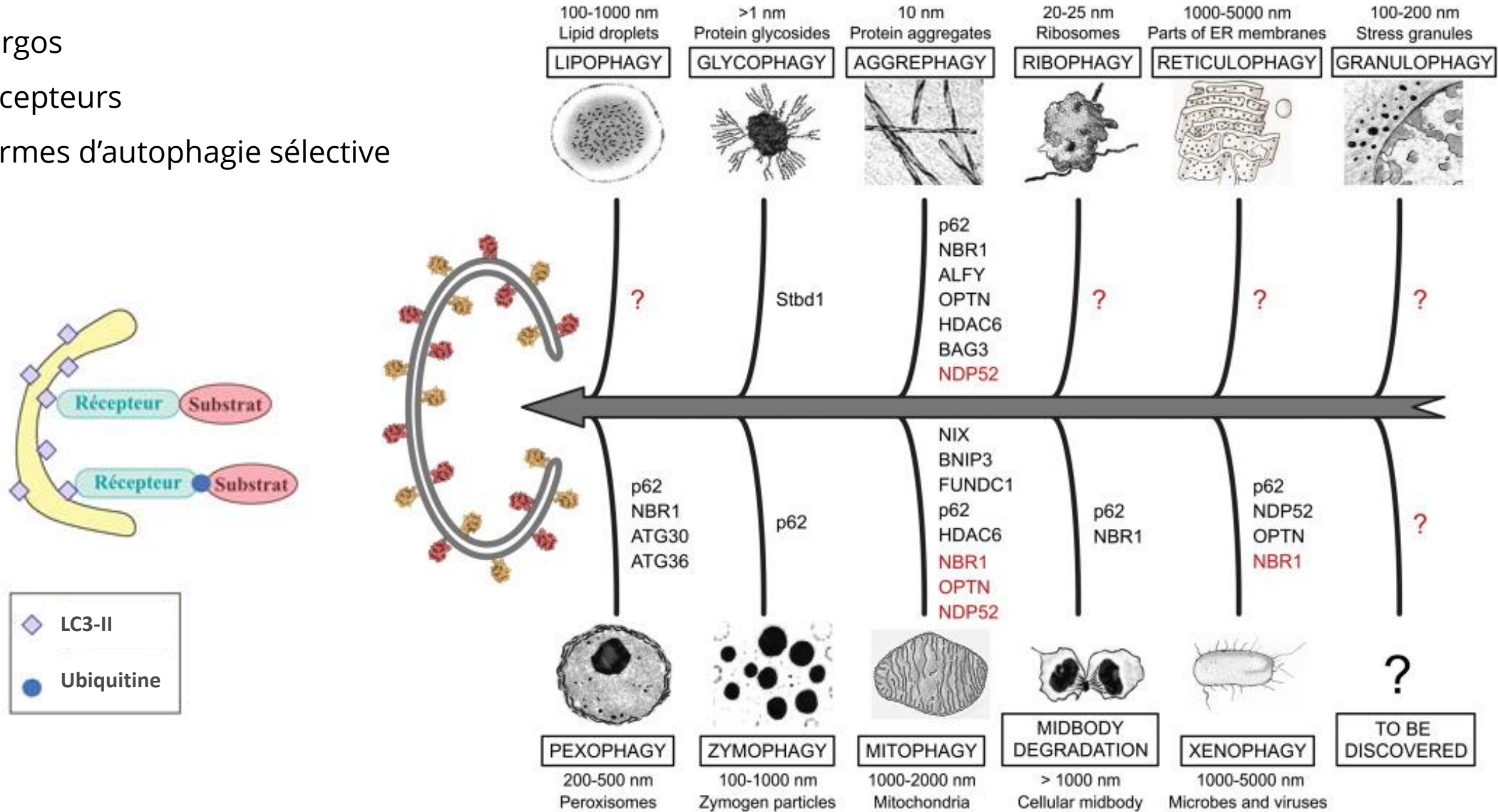
### Autophagie sélective:

- Reconnaissance de cargos spécifiques: pathogènes, mitochondries endommagées, RE, agrégats protéiques...
- Récepteurs de l'autophagie:
  - Reconnaissent et lient cargos spécifiques
  - Lient LC3 (*LC3-interacting region = LIR domain*)



# III. Autophagie

- ≠ cargos
- ≠ récepteurs
- ≠ formes d'autophagie sélective

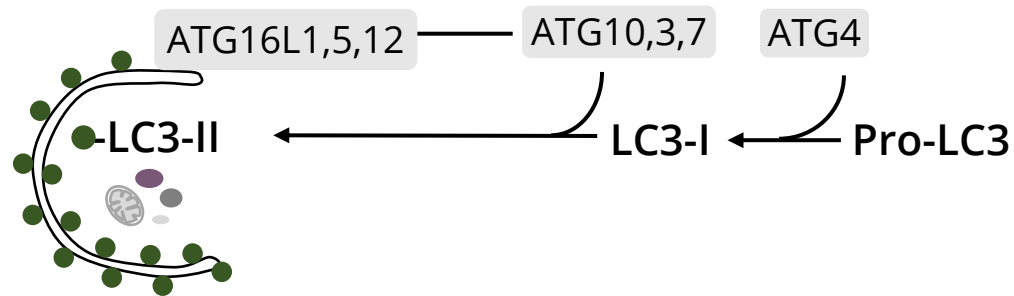


# III. Autophagie

## III.4. Détection & analyse de l'autophagie

### Protéine LC3 : marqueur de l'autophagie, sous différentes formes

- Pro-LC3 et LC3-I = solubles, libres dans le cytosol
- LC3-II = liées à la membrane des autophagosomes par conjugaison aux lipides (PE)



### Analyse de la lipidation et de la localisation cellulaire de la protéine LC3

- Protéine LC3 fluorescente : GFP-LC3
- Détection de LC3 par anticorps spécifique



# III. Autophagie

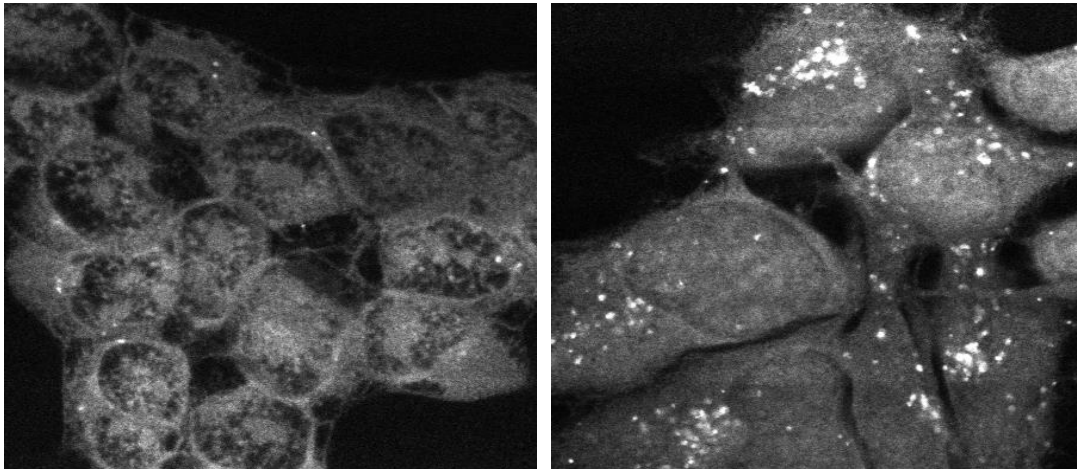
## III.4. Détection & analyse de l'autophagie

*Microscopie fluorescence*  
*LC3 fluorescente ou immunocytofluorescence*

HEK293 GFP-LC3

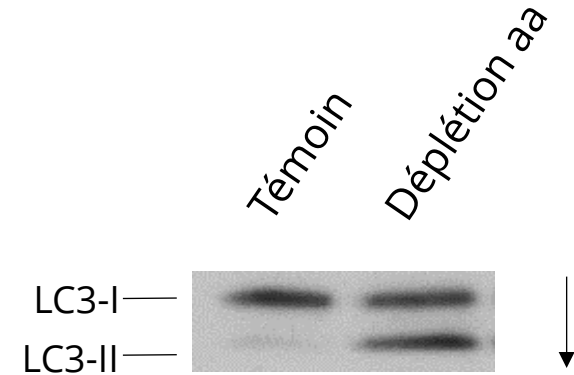
Témoin

Déplétion acides aminés



Formation de structures punctiformes LC3+  
dans le cytosol

*Détection de LC3 par WB*

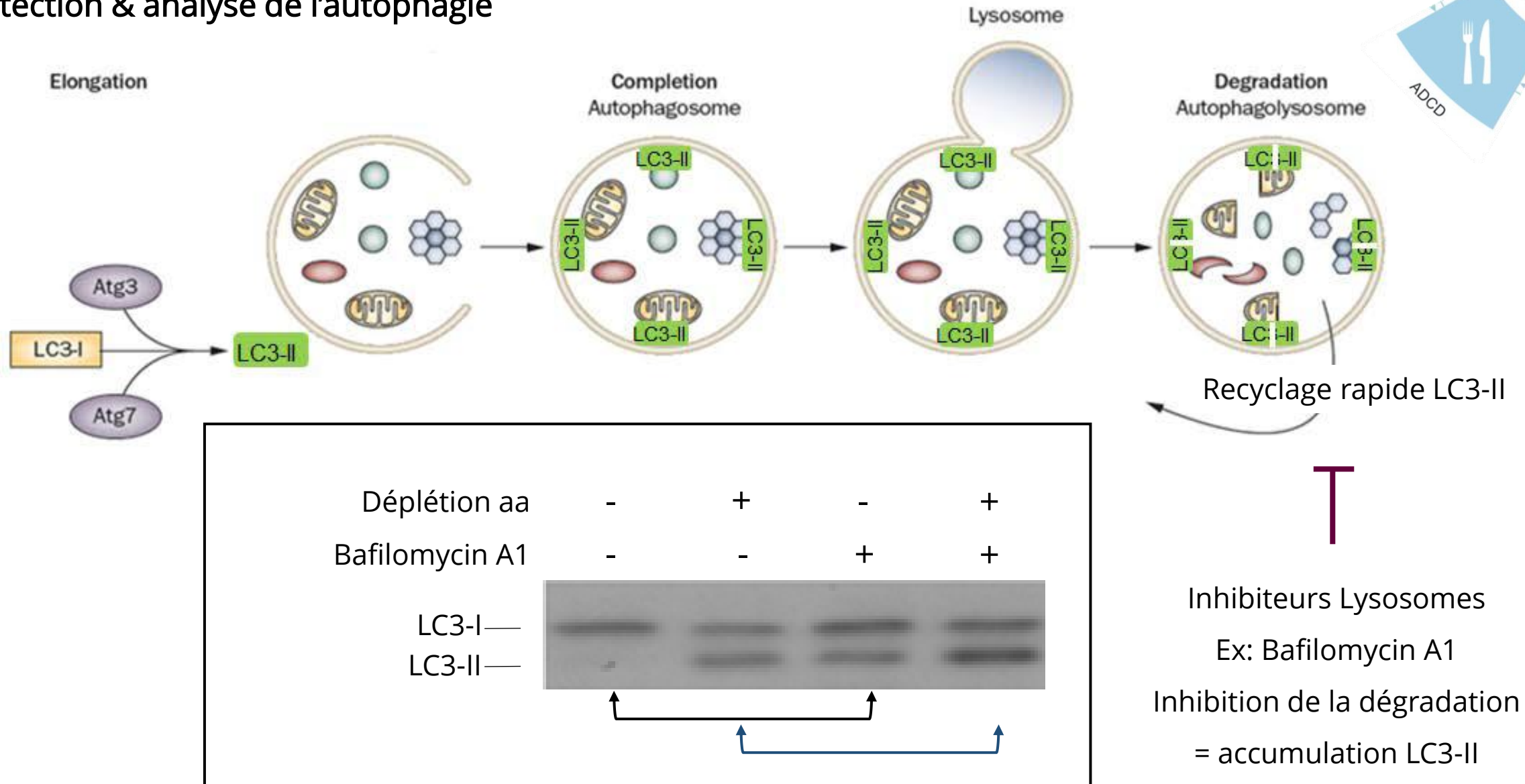


Lipidation LC3 (LC3-II conjuguée aux PE)  
Migration plus rapide de LC3 lipidée (LC3-II)  
sur gel SDS-PAGE



# III. Autophagie

## III.4. Détection & analyse de l'autophagie



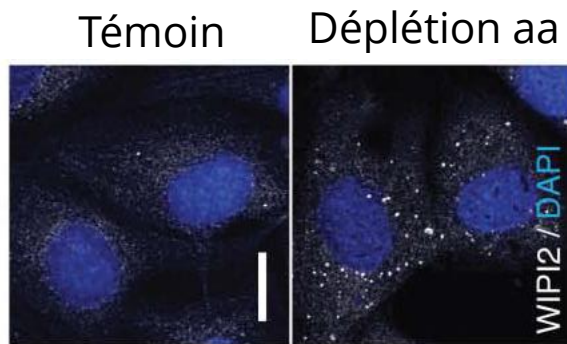


# III. Autophagie

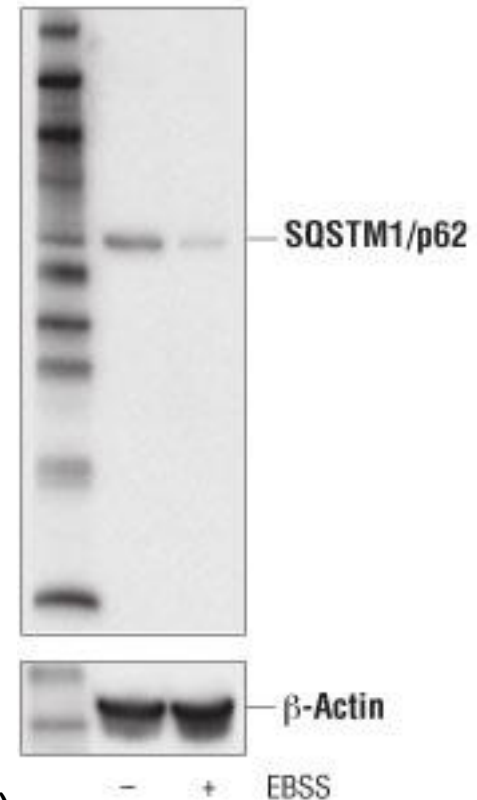
## III.4. Détection & analyse de l'autophagie

### Autres marqueurs de l'autophagie

- Détection des autophagosomes par microscopie électronique (vésicules intracellulaires double membranes)
- Structures punctiformes WIPI2+ ou DFCP1+ (étapes précoces)



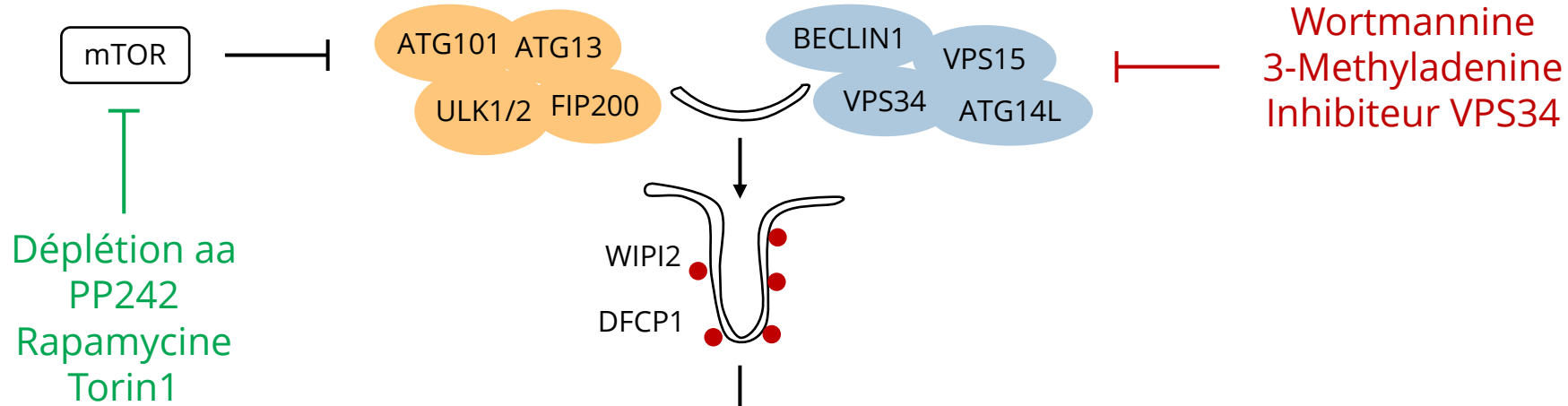
- Dégradation récepteurs de l'autophagie (utile pour autophagie selective, ex: p62)



# III. Autophagie



## Modulateurs d'autophagie



Déplétion aa  
PP242  
Rapamycine  
Torin1

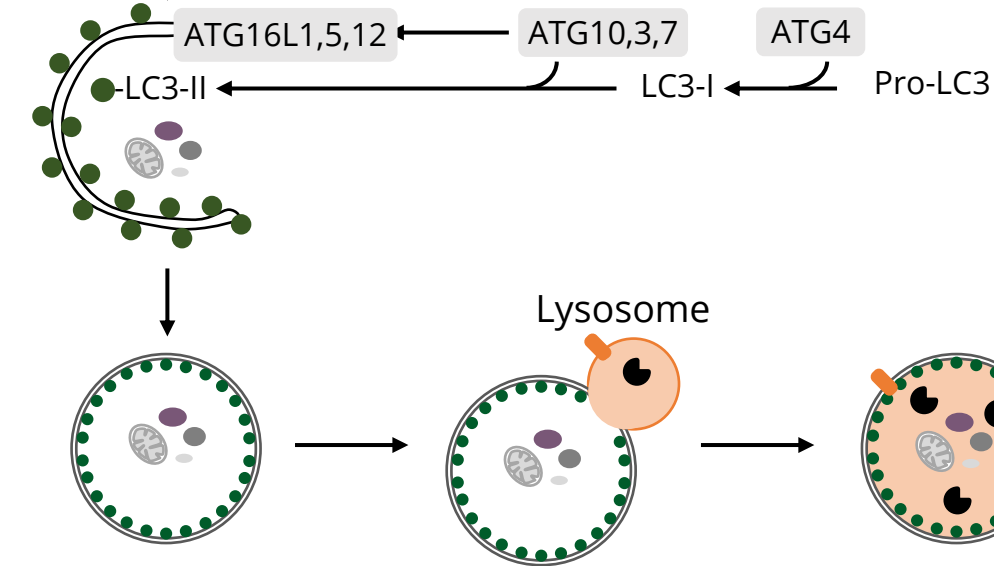
Wortmannine  
3-Methyladenine  
Inhibiteur VPS34

Stimulent formation autophagosomes

Inhibent formation autophagosomes

Inhibent dégradation autophagosomes

→ accumulation



Bafilomycine A1  
Chloroquine

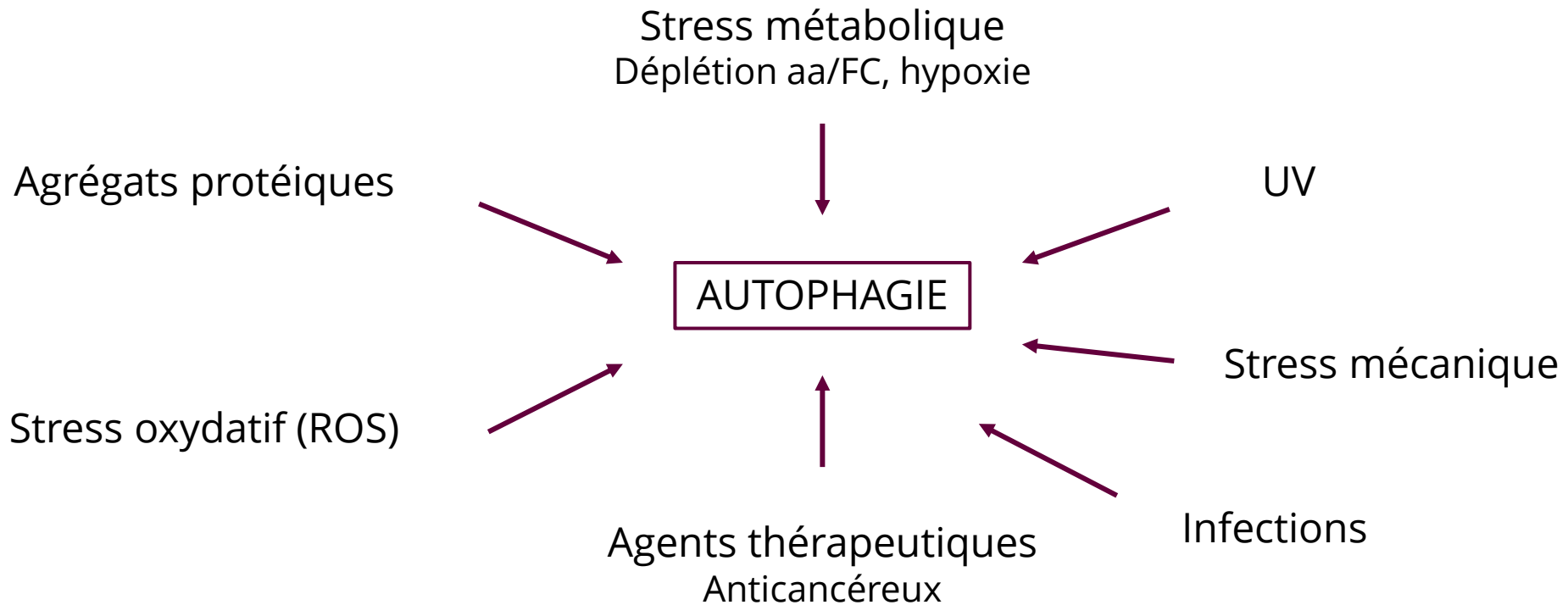


# III. Autophagie

## III.5. Rôles physiologiques de l'autophagie



Autophagie : basale ou ≠ induite par formes de stress



# III. Autophagie

## III.5.1. Autophagie et survie cellulaire



Autophagie basale



Ex: Stress métabolique

Autophagie induite



Agrégats protéiques, organites endommagés

Renouvellement constitutants cellulaires

**Contrôle qualité cytosol**



Production ROS limitée, homéostasie



Recyclage constituants cellulaires

Précurseurs pour synthèse macromolécules / ATP

**Adaptation au stress**



Cytoprotection



SURVIE CELLULAIRE

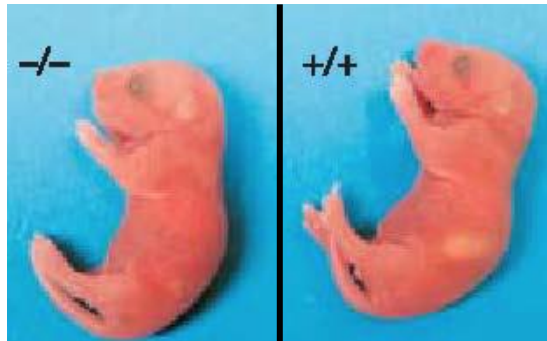
# III. Autophagie

## III.5.1. Autophagie et survie cellulaire

*Essentielle pendant développement*

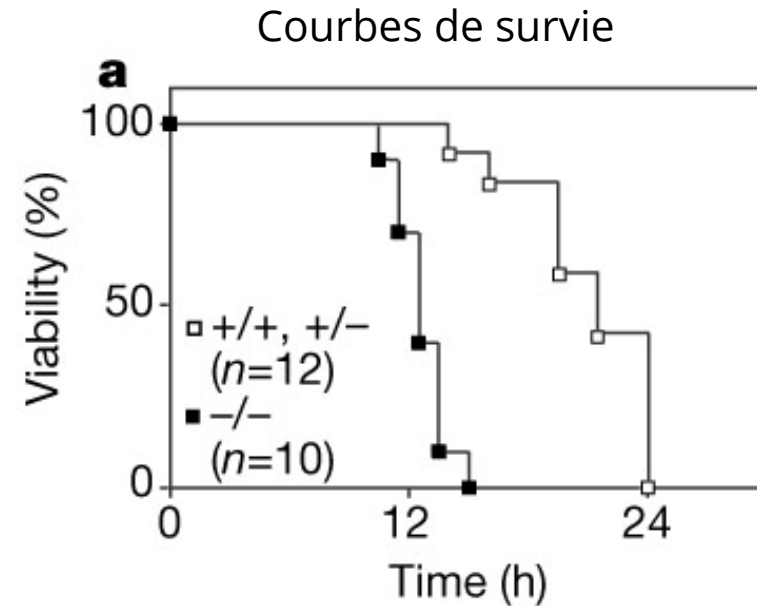


Atg5 KO ■                      WT □  
Absence autophagie      Autophagie normale



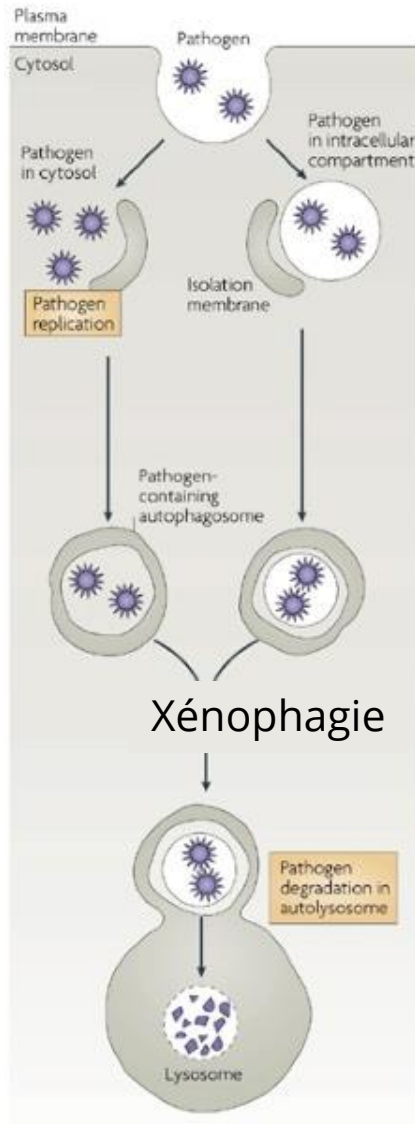
Survie souriceaux sans allaitement maternel?

Rôle de l'autophagie?

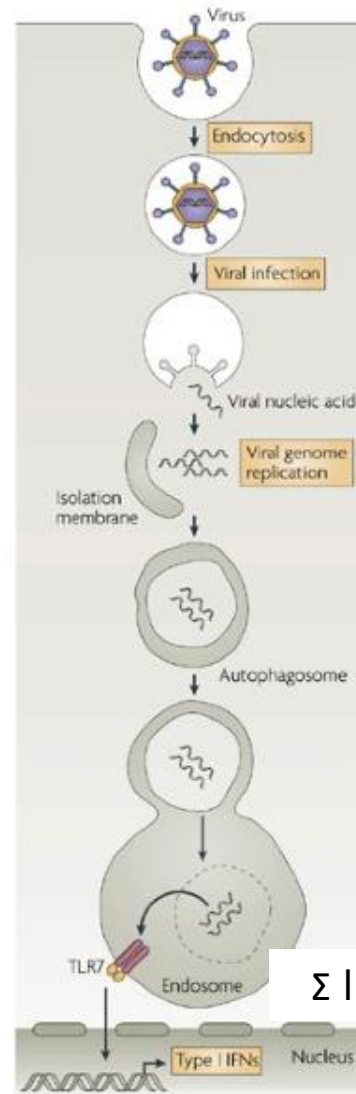


Atg5 KO ■ : Survie réduite

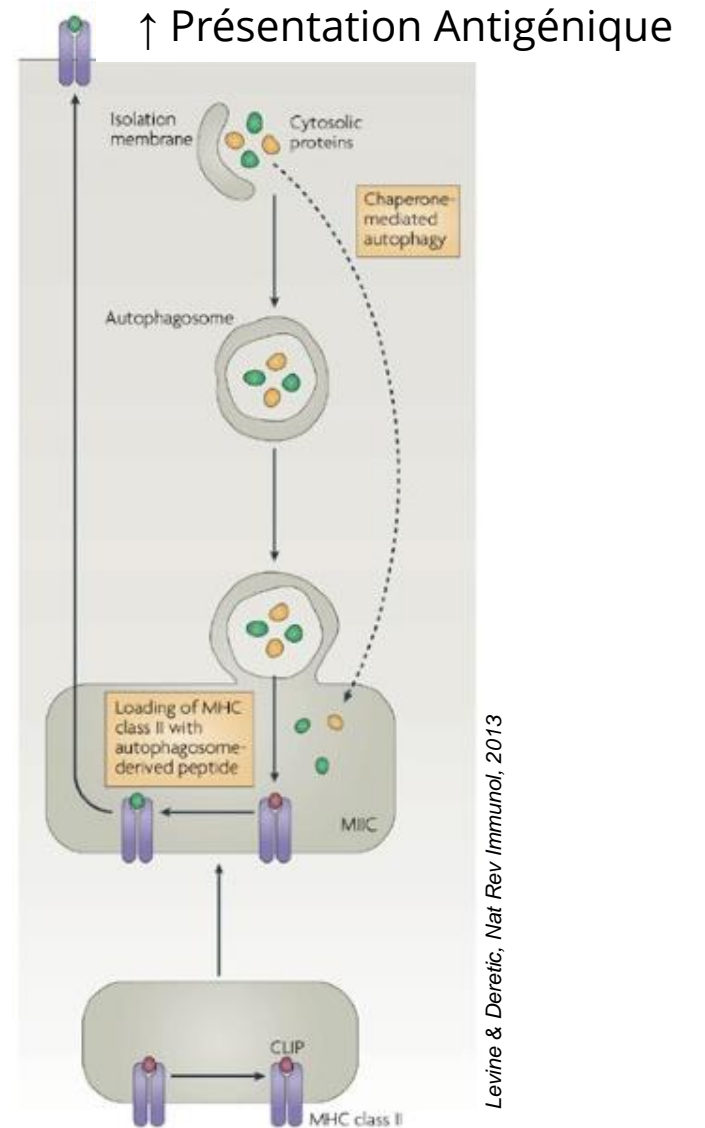
# III. Autophagie



Elimination pathogènes



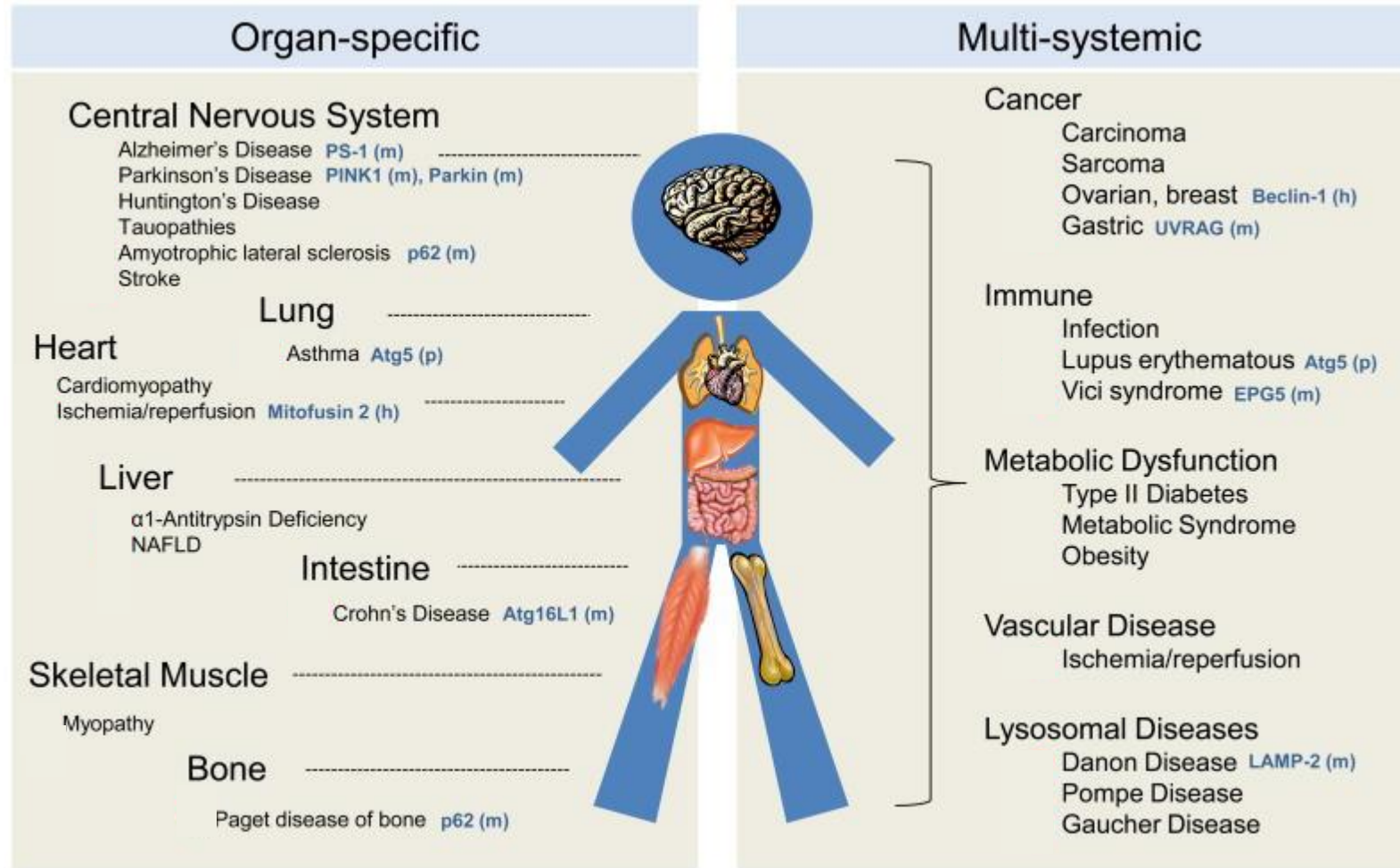
Activation immunité innée



Activation immunité adaptative

# III. Autophagie

## III.6. Autophagie, pathologies & traitements



Schneider & Cuervo, Curr Opin Genet Dev, 2014

Mutations gènes de l'autophagie dans de nombreuses pathologies

# III. Autophagie

## Rôle double dans le cancer



Cancer progression		Role of autophagy
Cancer initiation	Antitumoral	Protection against stress (metabolic, oxidative, inflammatory)
Growth of primary tumour	Protumoral	Protection against stress (metabolic, oxidative, inflammatory)
EMT	Antitumoral	Downregulation of EMT-promoting transcription factors
Anoikis resistance	Protumoral	Unclear mechanism, multiple pathways involved
Migration	Antitumoral	RHOA degradation
	Protumoral	Focal adhesion turnover
Cancer treatment		Role of autophagy
Treatment resistance	Protumoral	Cytoprotection
Immunogenic cell death	Antitumoral	Secretion of factors that trigger tumour-specific immune response

*Dikic & Elazar, Nat Rev Mol Cell, 2018*

Combinaisons entre inhibiteurs d'autophagie et agents anticancéreux → résultats décevants