

# CYCLE CELLULAIRE

## I) Définition, principes de régulation

Période qui sépare deux divisions d'une cellule.

**4 phases** consécutives :

- G1
  - S
  - G2
  - M
- } Interphase



Le cycle peut :

- avancer
- se bloquer
- **MAIS PAS revenir en arrière**
- ... ou encore la cellule peut mourir...

Des cellules peuvent cycler :

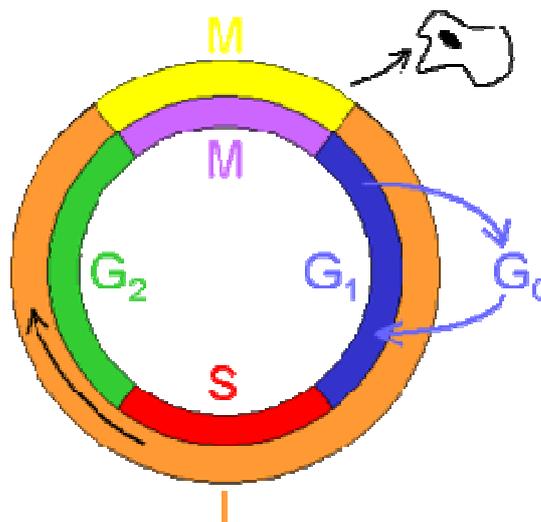
- **De façon permanente** (cellules immortelles, sans être forcément cancéreuses)
- **Un nombre limité de fois** pour répondre aux besoins : peau muqueuses, GB...

A la fin de la mitose → Sortie du cycle → **Phase G0 de quiescence**

Certaines cellules sont « hors cycle » en G0 **et ne se divisent pas** :

- neurones, muscles (grossissent ou rétrécissent mais ne se multiplient pas)
- Elles sont dites quiescentes, mais sont métaboliquement actives.
- La sortie de G0 (entrée en cycle) est étroitement contrôlée.

Cellules multipotentes (transitoirement)



Le cycle cellulaire.

## II) Techniques d'études

(pas de QCM)

On a découvert des mécanismes de cycle :

- utilisation de levure bourgeonnante (levure *S cerevisiae*)
- ou levure de fission (*S pombe*)
- mutants thermosensibles : découverte des cyclines
- utilisation d'œufs de *Xenopus Laevis* : quasi absence de G1 et G2.

Fusion de cellules a des phases distinctes du cycle : cellules à deux noyaux.

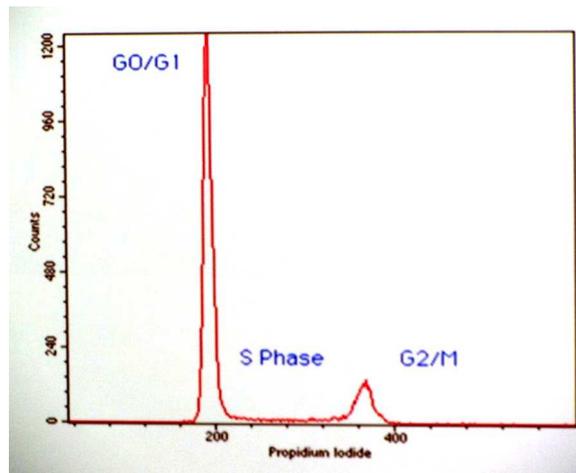
Mesure de quantité d'ADN : incorporation de thymidine tritiée par incorporation de nucléotides marqués au P32 dans l'ADN

Par incorporation de molécules fluorescentes qui s'intercalent dans l'ADN (Iodure de propidium, Brdu)

Exemple de profil de cycle

Marquage de l'ADN à l'iodure de propidium

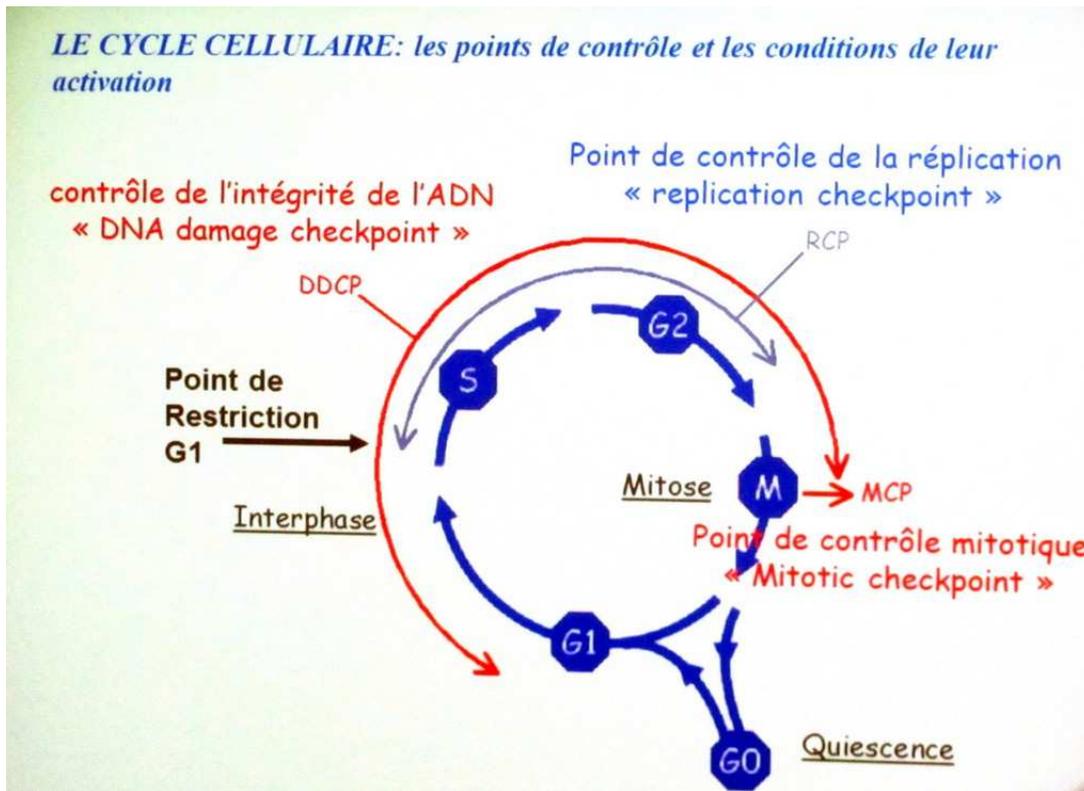
Les cellules sont perméabilisées et marquées avec l'IP



Le premier pic on n'arrive pas à dissocier G0 et G1

Le deuxième on n'arrive pas à dissocier

## LES POINTS DE CONTROLE



Il y a des points de contrôle pendant le cycle qui empêcheront des anomalies de se (re)produire.

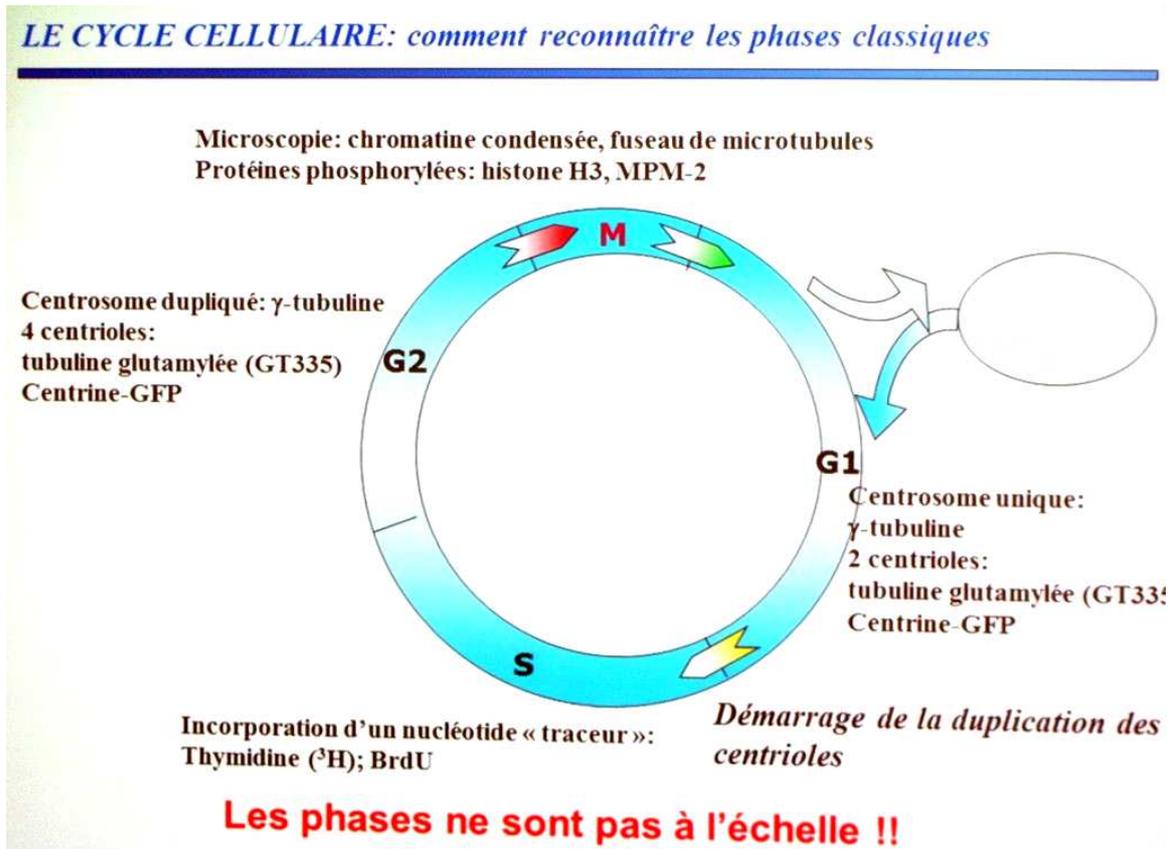
**1<sup>er</sup> checkpoint → en G1 avant d'entrer en phase S**

- le point de contrôle « autorise » la cellule à se répliquer ou non.

**2<sup>ème</sup> checkpoint → après que l'ADN se soit répliqué**

**3<sup>ème</sup> checkpoint → lors de la mitose, qui vérifie que les chromosomes sont bien séparés.**

## COMMENT RECONNAITRE LES PHASES CLASSIQUES ?



**PHASE G1** → on la repère si elle a un centrosome unique.

On peut démontrer que le centriole se duplique, en fin de phase G1 (on est sûr qu'elle est en G1 et pas en G<sub>0</sub>)

**PHASE S** → repérée par fluorescence grâce à **incorporations** (thymidine ou fluo / utilisation d'un cytomètre de flux)

**PHASE G2** → 2 centrosomes repérables **par fluorescence**.

**MITOSE** → **Observation directe** des chromosomes par coloration (Condensation de la chromatine en chromatides)

Des anticorps peuvent marquer les microtubules → visualisation du fuseau.

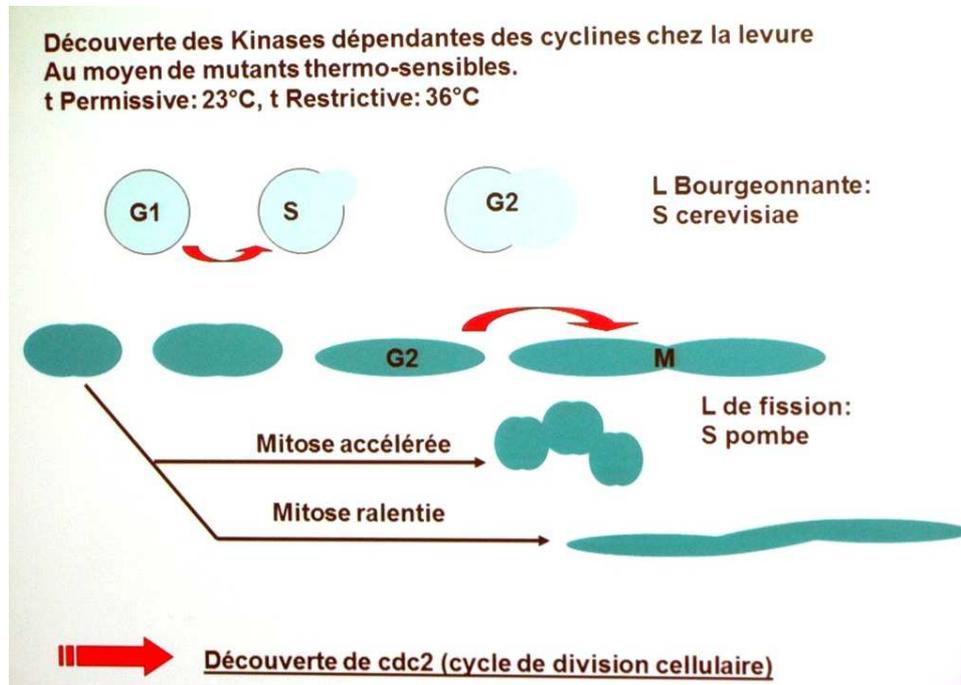
En résumé utilise soit des **colorations**, soit des **immunomarquages** (anticorps)

## COMMENT LE CYCLE FONCTIONNE

Découverte de kinases dépendantes des cyclines chez la levure au moyen de mutants thermosensibles.

T° permissive : 23°C

T° restrictive : 36°



→ Découverte de la molécule CDC2

### III) BASES MOLECULAIRES

**CDC2 est indispensable à la transition G1-S et G2-M.**

Le gène code pour une **protéine kinase P34**. Il est très conservé chez Homo Sapiens (équivalent **CDK1**) où il déclenche la transition **G2-M**

→ **Interaction cycline / kinase.**

Pour fonctionner, l'enzyme doit être associée à une protéine régulatrice : la cycline.

La cycline varie en fonction du cycle. Ce qui permet de contrôler des centaines de milliers de protéines

**Chez l'homme, les CDC sont nommées : CDK (Cyclin Dependant Kinase)**

#### LES CYCLINES

- Famille de protéines de **25-90 kDa**
- Sous unités de CDK
- Leur expression cyclique détermine quelle CDK sera activée. (on verra qu'elles s'associent)

Chez les eucaryotes supérieurs, il existe **4 types de cyclines** :

- G1
- G1/S
- S
- M

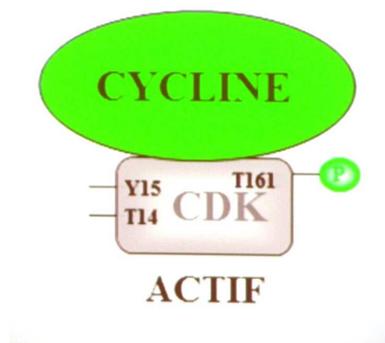
#### LA PROGRESSION DANS LE CYCLE DEPEND DES COMPLEXES CYCLINES CDK

La cycline possède un motif « **boîte cycline** »

→ Motif protéique qu'on retrouve dans les différentes cyclines.

→ S'emboîte avec CDK

Trois AA essentiels : **Thréonine 14, et 161, Tyrosine15** (le numéro correspond à la localisation sur la protéine).



**Ces AA doivent être phosphorylés.**

Sous-unité catalytique de l'enzyme a l'activité Ser/Thr protéine kinase (S TPXK)  
L'activité de CDK dépend de son association à une cycline et donc de son état de phosphorylation.

Liaison cycline CDK → aboutit à une activation partielle dans un premier temps.

La CDK devient accessible à une kinase sur thréonine la CAK (Cyclin activation kinase)  
→ induit une activation complète

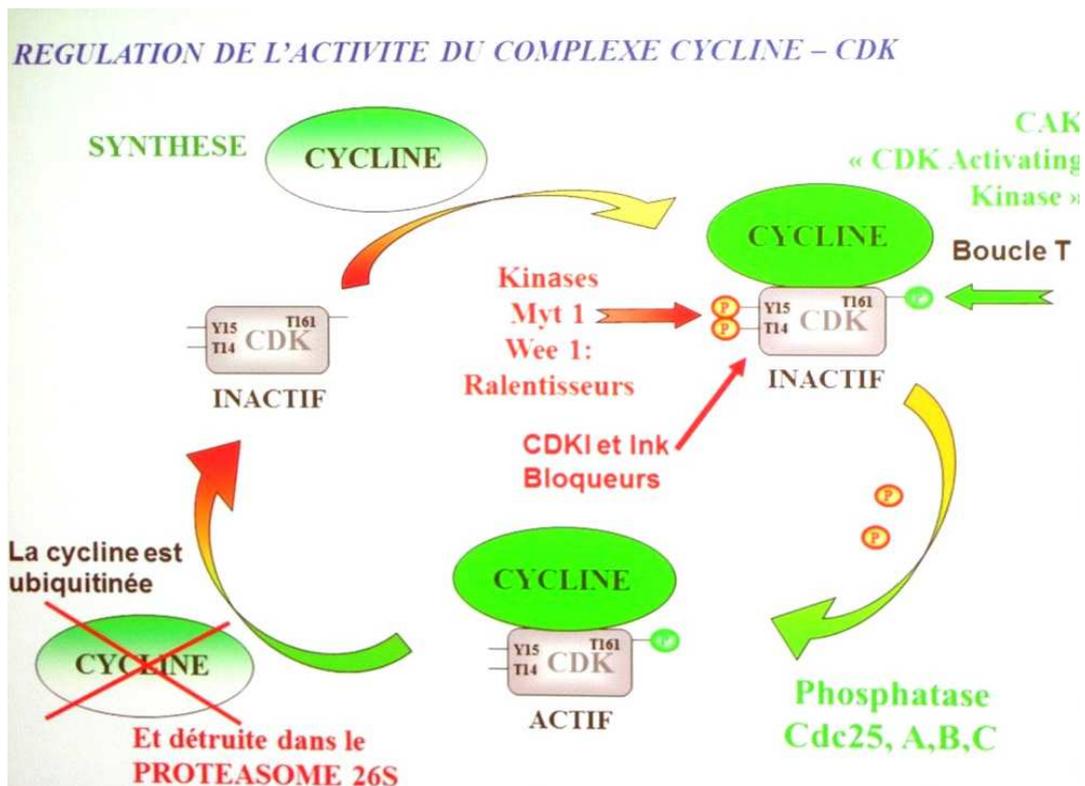
→ Le complexe cycline CDK activé peut phosphoryler un grand nombre de substrats impliqués dans une phase donnée du cycle.

## REGULATION DE L'ACTIVITE DU COMPLEXE CYCLINE CDK

La CDK est **inhibée** par

- des **phosphorylations inhibitrices** dues à des kinases (Wee), ces phosphorylations sont contrées par des phosphatases (CDC 25)
- La fixation de **protéines inhibitrices** de la CDK (CKI) sur la CDK : Protéines P27, P19 P16... (petits poids moléculaires).

Dans les cancers → mutations de ces protéines.



ne pas retenir les n° des AA.

**Cycline durée de vie courte** → Se lie à son partenaire → Est détruite → puis resynthétisée.

**CDK : durée de vie longue** → peut resservir en se liant soit à la même, soit autre cycline et être réactivée.

#### IV) DESTRUCTION PROTEIQUE ET CONTROLE DU CYCLE

Cyclines dégradées par le **protéasome** qui constitue 1% des protéines totales.  
Le complexe multimoléculaire de 26S > 700 kDa en cylindre creux formé d'anneaux empilés.

Il comprend des enzymes protéolytiques d'activité diverses  
Caspase, Trypsine, chymotrypsine.

Il est inhibé par un **antibiotique** : la **lactacystine** qui forme des liaisons covalentes avec les Thréonines du protéasome.

Le protéasome reconnaît les protéines qui doivent être dégradées (marquées d'un signal de destruction : le motif **PolyUbiquitine**)

L'ubiquitine est une protéine de 76 AA qui s'active en 3 étapes.

Ceci aboutit à une liaison d'une ubiquitine sur la lysine de la protéine cible grâce à l'U-Ligase.

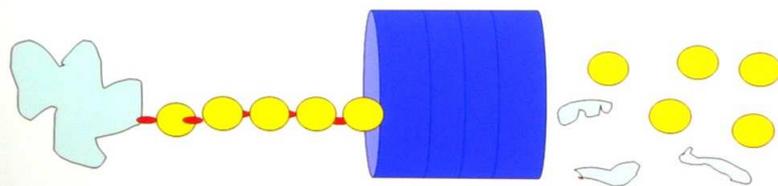
Puis les ubiquitines se conjuguent sur la lys48 (système d'embranchement) de l'ubiquitine  
→ formation d'un motif PolyUbiquitine, qui est donc un signal de dégradation.  
Le protéasome dégrade aussi d'autres trucs.

**Le P reconnaît des protéines destinées à être éliminées.** Ces protéines sont Marquées d'un **signal de destruction**: le motif **PolyUbiquitine**.

**L'Ubiquitine est une protéine de 76aa qui s'active en 3 étapes.**

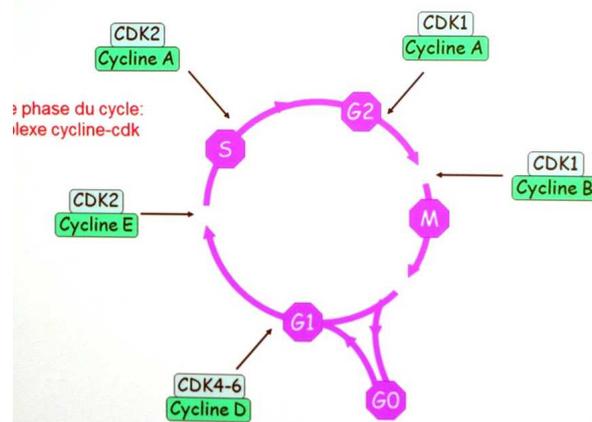
**Ceci aboutit à la liaison d'une U sur la lys de la protéine cible grâce à l'U-Ligase**

Puis les U se conjuguent sur la lys48 de l'U pour former un motif **Poly-U**



Le peptide est dégradé, l'U est recyclée

#### Les complexes cycline/cdk



**A chaque phase il y a un couple CDK cycline particulier.**

Phase	CDK	Cycline
<b>G1</b>	4-6	D
<b>Transition G1/S</b>	2	E
<b>S</b>	2	A
<b>G2</b>	1	A
<b>Mitose</b>	1	B

### 1) G1 :

- La plus longue et la plus variable. Elle définit la longueur du cycle.
- La cellule **grossit** le centriole se **duplique**.
- 2 points de contrôle
  - o **point de restriction** : protéine Rb
  - o **point de contrôle des lésions de l'ADN** : p53 réagit si l'ADN est endommagé

### 2) Phase S :

- Duplication de l'ADN (seulement en phase S chez eucaryotes)
- Durée estimée en multipliant la durée du cycle par le pourcentage de cellules qui dupliquent leur ADN à un instant t.
- Réplication démarre sur environ  $10^4$  points d'origine de réplication (ORI → 150/chromosome) la région entre 2 ORI est nommée **replicon**.

L'hétérochromatine se réplique plus tard que l'euchromatine.

Les complexes de préreplication ????????????

### 3) G2 :

- Point de contrôle des lésions de l'ADN (une fois répliqué, vérification de son intégrité)

### 4) Mitose :

- Phase la plus courte (environ une heure) Prophase, anaphase, métaphase, télophase
- Contrôle de transition ana/télo,
  - « point de contrôle du fuseau » ou « spindle checkpoint »
    - o **Prophase** : début de la condensation des chromosomes et séparation des centrosomes.
    - o **Métaphase** : attachement des chromosomes au fuseau.
    - o **Anaphase** : séparation des chromatides sœurs
    - o **Télophase** : Formation d'une membrane nucléaire autour de la chromatine.
    - o **Cytokinèse**

## COMMENT UNE CELLULE SORT DE G0 l'état de quiescence ?

### → Grâce à des facteurs de croissance extracellulaires.

→ Besoin de **signaux extracellulaires** et de **facteurs de croissance extracellulaires**.

→ Liaison à des récepteurs spécifiques → cascades d'activation intracellulaires.

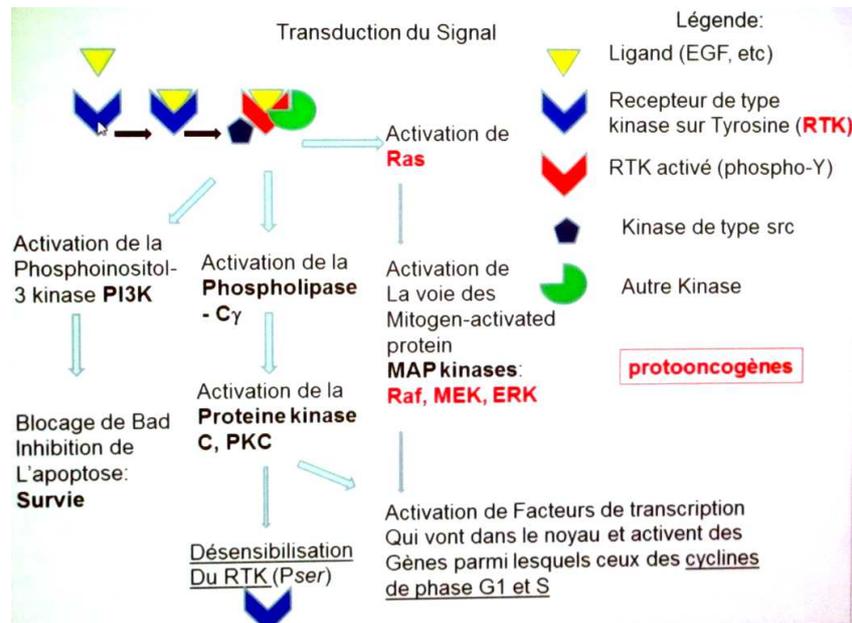
Ex : voie de la phospho-inositol 3 kinase / ATK

PI3K active la protéine ribosomique S6K

Cette voie active la synthèse protéique et l'initiation de la traduction.

Prépare les cellules à l'action des mitogènes en particulier en cativant la synthèse de myc, oncogène central dans la progression du cycle)

Certains GF sont aussi des mitogènes (distinction f de croissance et protéine f de prolifération n'est pas absolue)



### → Grâce à des signaux de prolifération déclenchés par des mitogènes.

→ Déclenchent la division cellulaire en activant des cascades spécifiques

Exemple :

Ras est une petite GTPase qui fonctionne sous forme de Ras-GTP

La voie MAPK aboutit à des FT qui stimulent le gène Myc

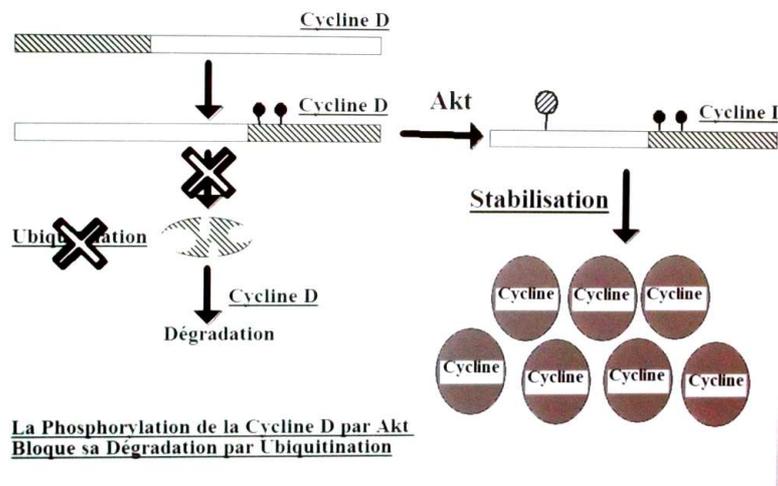
Myc : **1** Active la transcription d'un gène cycline G1

**2** Active le gène d'une sous unité SCF qui dégrade la P. inhibitrice CKI p27

**2+1** phosphorylent et inactivent Rb qui augmente l'activité de E2F

**3** Myc active E2F → La phase S est activée.

## La Kinase Akt Bloque la Dégradation De la Cycline D1 dans le Noyau



### → Grâce à des l'arrêt de production de facteurs inhibiteurs.

Ce sont des facteurs qui diffusent la différenciation mais parfois l'apoptose ou qui inhibent le métabolisme (ex myostatine)

### → Grâce à la perte de cellules voisines

Qui rentrent en compétition pour les nutriments ou les facteurs de croissance extracellulaires. C'est l'inhibition de contact.

### → Par régulation de leur ancrage à la MEC.

Composée de lamine ou de fibronectines, l'adhésion met en jeu des intégrines qui activent des kinases FAK qui activent le cycle.

Les cellules étalées poussent

Les cellules détachées s'arrondissent et restent bloquées en G1

### Une fois que la cellule est entrée en cycle,

- elle doit le terminer, donc aller jusqu'à la division.
- **Si anomalie** : Blocage transitoire en G1 ou S.
- **Au-delà de S** : anomalie grave → **senescence** ou **apoptose**
- Plusieurs checkpoints.

## LES POINTS DE CONTROLE EN G1 :

### Le point de restriction Rb

Au début de G1, E2F fixé à protéine Rb (rétinoblastome) qui réprime la transcription.

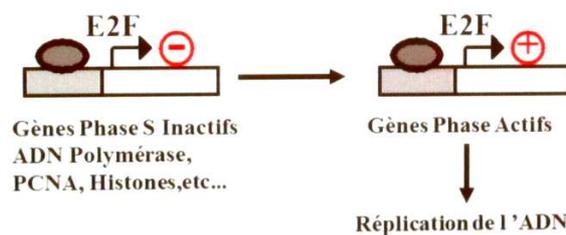
Jusqu'au point de restriction, Rb bloque E2F et la transcription des gènes du passage en phase S est bloquée. Au point de restriction, Rb est phosphorylé (et donc inactivé) par les CDK et se détache de E2F : la transcription est active.

- **1 : la synthèse des gènes de phase S**
  - o E2F est propre FT ainsi que celui des cyclines G1/S et S(A) qui vont à leur tour inactiver Rb

**Rb doit être inactivé pour que le cycle avance.**
- **2 : Les complexes G1 et S-CDK phosphorylent et inactivent ??**

### E2F Déclenche la Phase S du Cycle Cellulaire

G0	G1	G1	G1/S	S
E2F Inactif	E2F Inactif	E2F Inactif	<b>E2F Actif</b>	
Rb Actif	Rb Actif	Rb Actif	Rb Inactif	



→ **E2F Déclenche la Phase S**

Le gène Rb est un suppresseur de tumeur : son inactivation héréditaire donne des cancers (rétinoblastome, ostéosarcomes)

Si les cellules sont privées d'EGF et/ou de nutriments elles se bloquent en fin de G1 : **c'est le point de restriction.**

→ Si un facteur de croissance EGF ou son récepteur EGF-R ou encore une molécule du signal (Ras) (Myc) est anormalement actif (oncogène) il active le complexe G1-CDK, d'où Rb-P et passage en phase S.

→ Si Rb ou un autre gène suppresseur (une Ink : p16) est mutée inactive, le complexe G1-CDK n'est pas activé : passage en S même dans des conditions défavorables.

### Le contrôle de l'ADN par p53

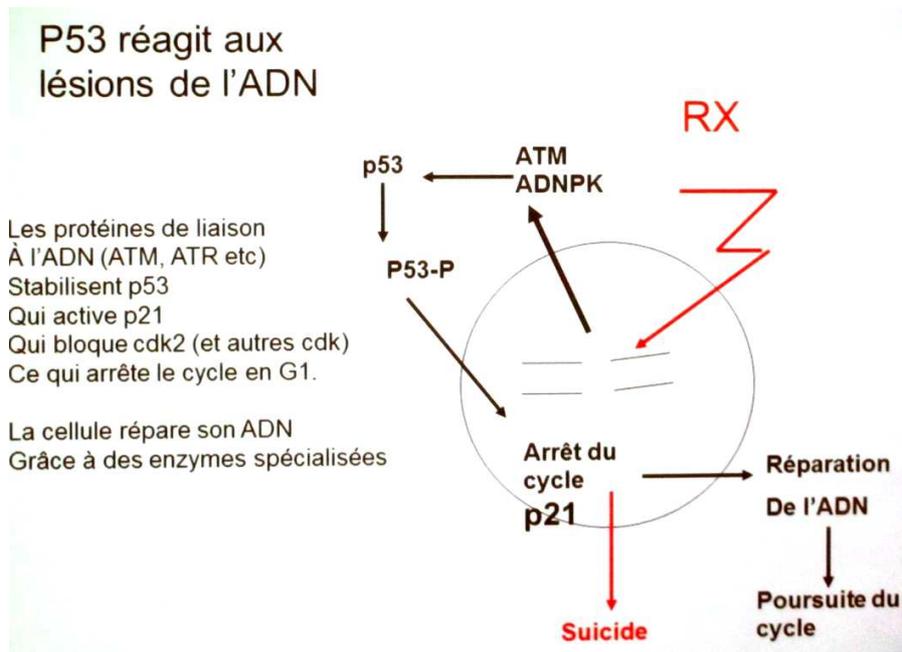
## Mutation de P53

- Risque cancer : P53 est un gène suppresseur de tumeurs.

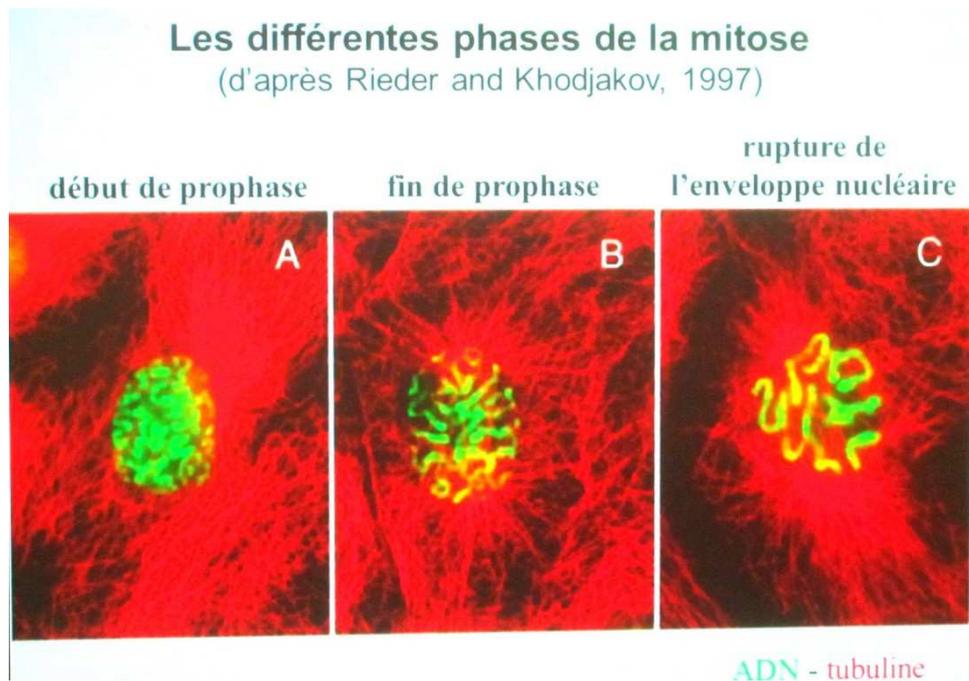
## Perte de p53

- Pas grave dans une cellule normale
- Grave si l'ADN est endommagé (irradiation par exemple) et si la cellule est anormalement activée (oncogènes) → prolifération avec ADN endommagé → cancers

P53 est un intégrateur moléculaire qui possède des sites de phosphorylation potentiels en fonction des signaux de danger, d'où un système « code barre » sur p53

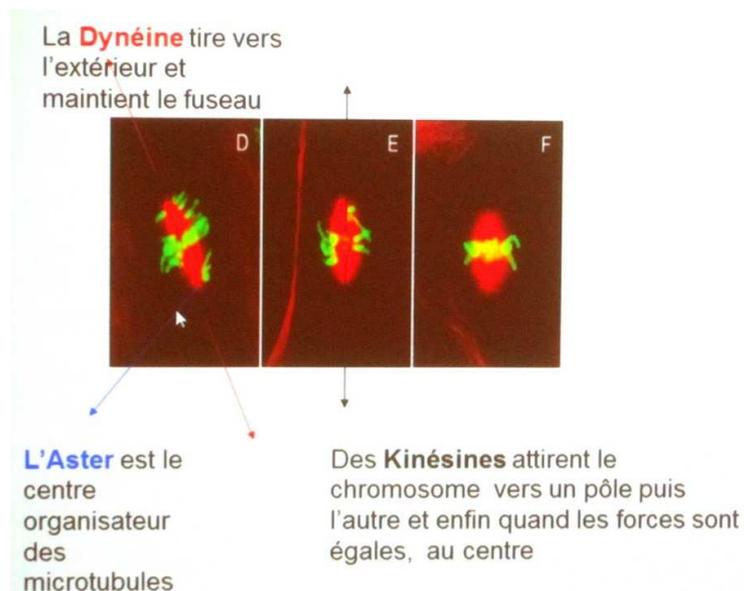


## LA MITOSE EST CARACTERISEE EN MISCROSCOPIE OPTIQUE



### En prophase :

- Un pentamère de **condensine** est phosphorylé par **CDk-1-Cycline-B**, et rentre dans le noyau où il provoque un superenroulement de l'hélice ADN.
- Phosphorylation des histones
  - o H1 par CDK1-Cycline-B
  - o H3 par aurora
- Microtubules forment un fuseau à partir du centrosome et le tout forme l'Aster. Chaque aster devient un pôle du fuseau mitotique.
- Dissolution des organites → phosphorylation de leurs protéines par CDK-Cyline.

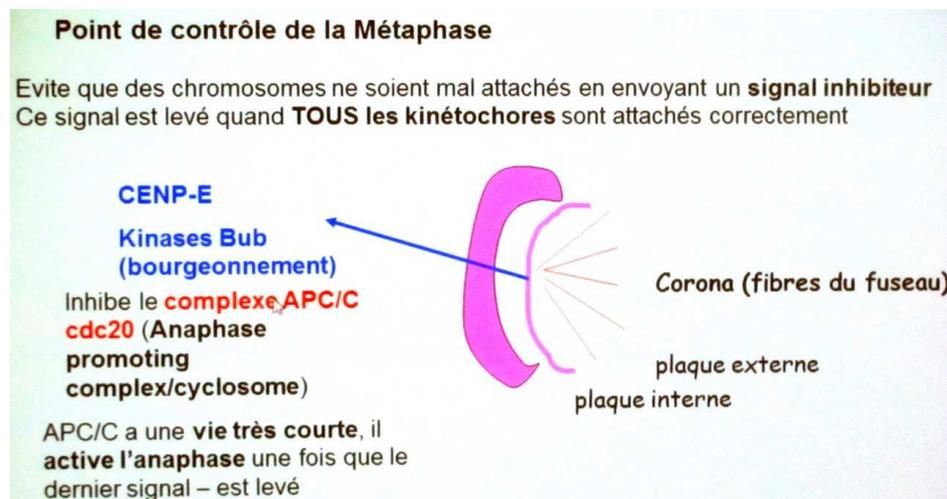


### En début de prométaphase :

- 1 : **L'enveloppe nucléaire se désassemble**, il reste un réseau de lamine B  
Les lamines A et C ainsi que les pores sont dispersés en complexes solubles.
- 2 : Les microtubules s'allongent à partir des pôles et vont capturer les chromosomes et les attacher sur des structures spécialisées = **kinétochores**.

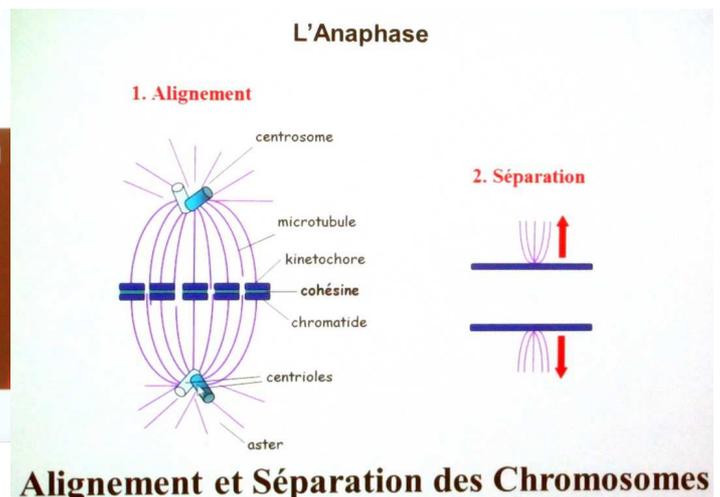
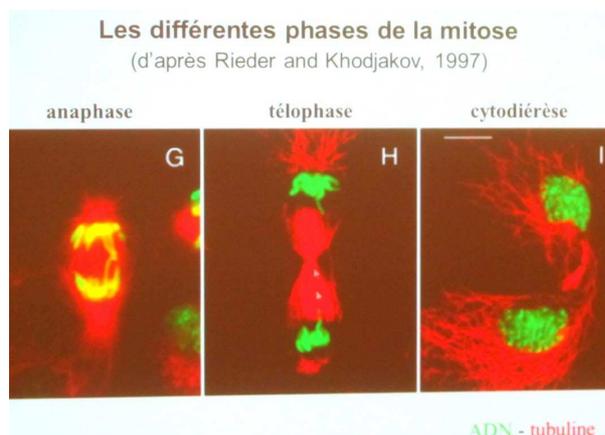
### En fin de prométaphase :

- 1 : le chromosome glisse le long d'un microtubule en direction du pôle
- 2 : le microtubule du pôle opposé est capturé par le kinétochore
- 3 : le chromosome attaché aux deux pôles peut migrer vers le centre.



**Retenir** qu'il existe des protéines de centromères associées à des kinases qui vont inhiber en permanence un complexe appelé APC/C Une fois que tous les chromosomes sont attachés il se désactive.

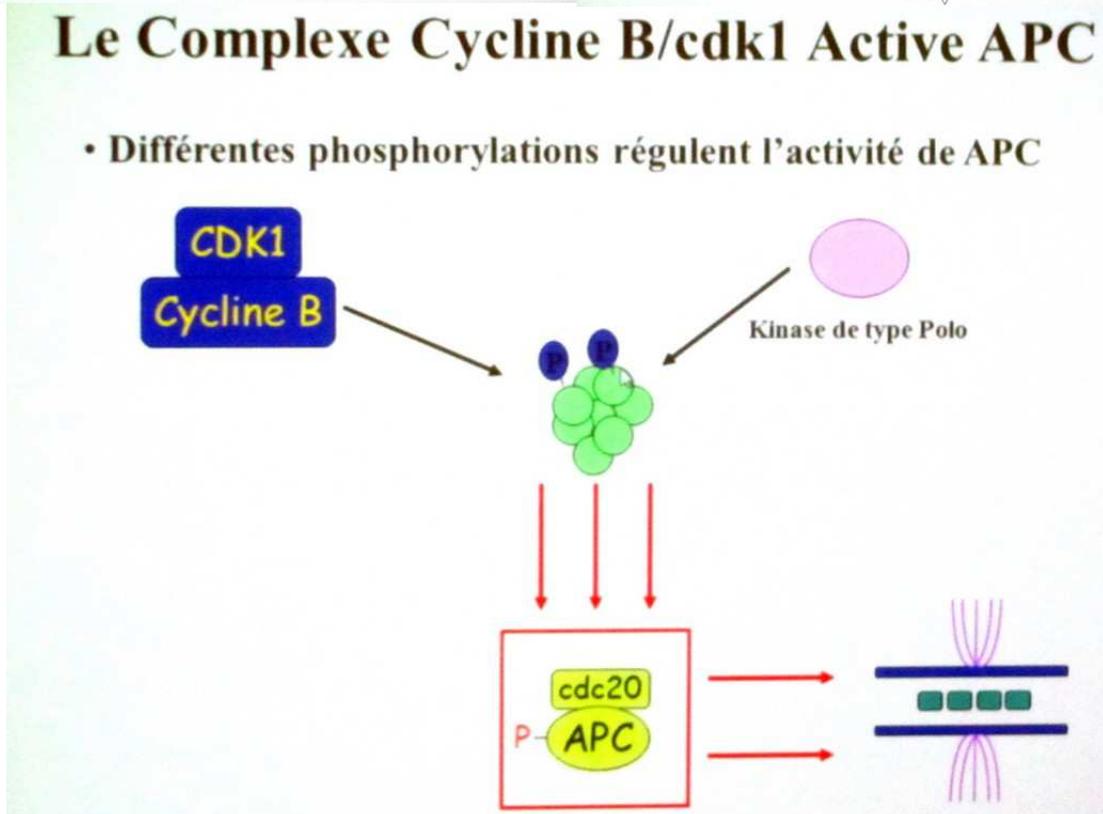
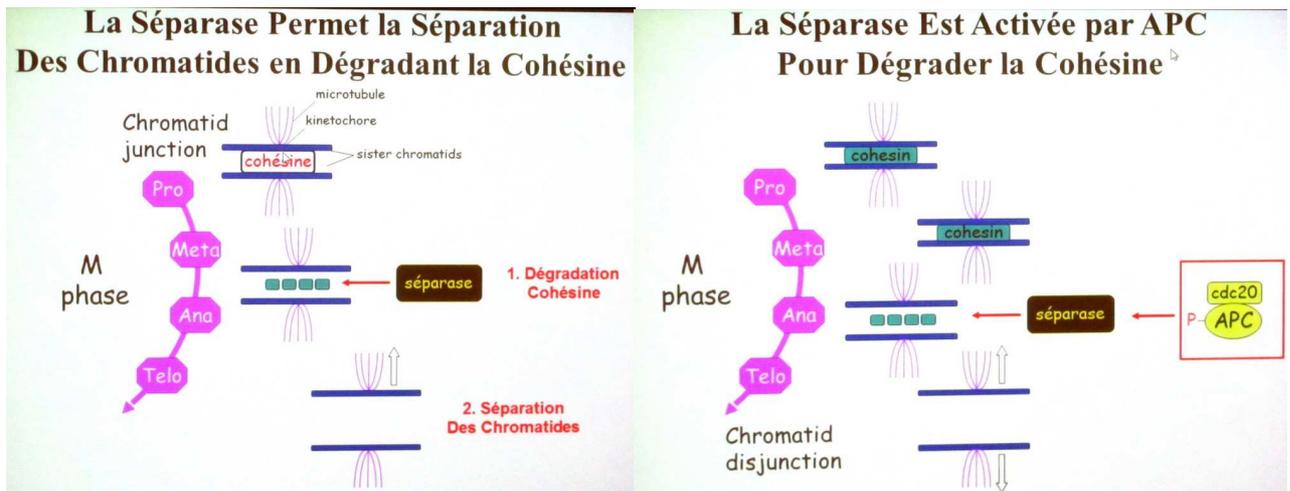
**Anaphase** : chromosomes reliés par la protéine **cohésine** → dégradée par **séparase** (permet la migration)



La transition anaphase métaphase est lié à la destruction des cyclines A en prométaphase d'où chute de CDK1 puis clivage de cycline B et sécurine par le APC/C

**La séparation des chromatides sœurs est réglée par le chromosome et non par le fuseau.**

- 1) APC/C ubiquitine la sécurine (inhibiteur de la séparase)
- 2) La séparase est activée
- 3) Elle clive une sous unité de la cohésine (qui en possède 4 dont on se fout)



## LA MIGRATION VERS LES POLES EST DUE :

- 1) Au désassemblage directionnel des microtubules (consomme du GTP)
- 2) A l'allongement du fuseau par les kinésines.

## La télophase :

### L'enveloppe nucléaire se réassemble

- Les sous unités de la lamine B sont recyclées et les P clivés et les COOH latéraux subissent une méthyl estérification.
- 2 La lamine se lie à la surface des chromosomes et aux vésicules en formation
- 3 les pores se reforment
- Les autres sous unités (lamine A) de lamines sont importées
- La membrane n'est reformée qu'au milieu de la phase G1 du cycle suivant !
- Si on bloque l'import de lamines, les chromosomes restent concentrés et la division cellulaire est impossible

## LA CYTOKINESE

= processus de division en 2 des cellules filles, par **création d'un sillon de clivage** qui suit l'équateur de la cellule, formé d'actine et de myosine de type II.

Est déclenchée par un signal émis par le fuseau, de nature inconnue.

Ce sillon se contracte grâce à un mécanisme qui consomme du GTP et une concentration locale élevée de  $Ca^{++}$

De nombreuses protéines participent à la nouvelle membrane : Septines

Le pont intercellulaire est rompu par des kinésines spécifiques.

CDK1-cycline B phosphoryle (et active) une phosphatase de la myosine

La myosine est inactivée (déphosphorylée)

En télophase, la chute d'activité de CDK1/B permet l'activation de la myosine et le début de la contraction du sillon.

### Une fois la mitose terminée, la cellule peut ...

- **Cycler** à nouveau (si les besoins ne sont pas encore satisfaits)
- **Sortir du cycle** (entrer en quiescence)
- **Entrer en sénescence**, jusqu'à apoptose si elle a atteint la limite de hayflick (nb limite de divisions)
- **Si p53 est inactivé, une cellule continue à cycler malgré des télomères courts, d'où une accumulation d'anomalies chromosomiques et une instabilité génétique supplémentaire. →→→ CANCER on t'a dit.**

## LA MORT CELLULAIRE PROGRAMMEE APOPTOSE

Processus cellulaire **actif** qui peut se produire en réponse à

- 1) Des signaux issus du développement (embryon)
- 2) Des signaux issus de l'environnement (ex : privation de nourriture) : p53
- 3) Des lésions décelées par les enzymes de surveillance de l'ADN et/ou p53

C'est un processus **physiologique** (pas pathologique, donc voulue, c'est une « mort utile »)  
Différent de la **nécrose** qui est un processus **passif** (exemple : engelure, broyage...)

**Apoptose et nécrose se distinguent au niveau cytologique et histologique.**

### La nécrose ischémique : cas typique de l'infarctus du myocarde ou du cerveau (AVC)

- 1) Caillot dans l'artère nourricière.
- 2) Interruption arrivée O<sub>2</sub> et GR.
- 3) Les cellules souffrent et les pompes ne fonctionnent plus
- 4) La MP devient perméable et l'eau s'engouffre dans le cytosole
- 5) Les enzymes sortent de leurs compartiments et attaquent les autres protéines : la cellule **s'autodigère** (!!)
- 6) Une réaction inflammatoire se produit qui attire les cellules phagocytaires (macrophages) qui nettoient le foyer inflammatoire.
- 7) Le tissu mort est remplacé par un tissu cicatriciel (fibroblaste collagène)

→ Injection d'eau distillée, choc thermique, écrasement.....

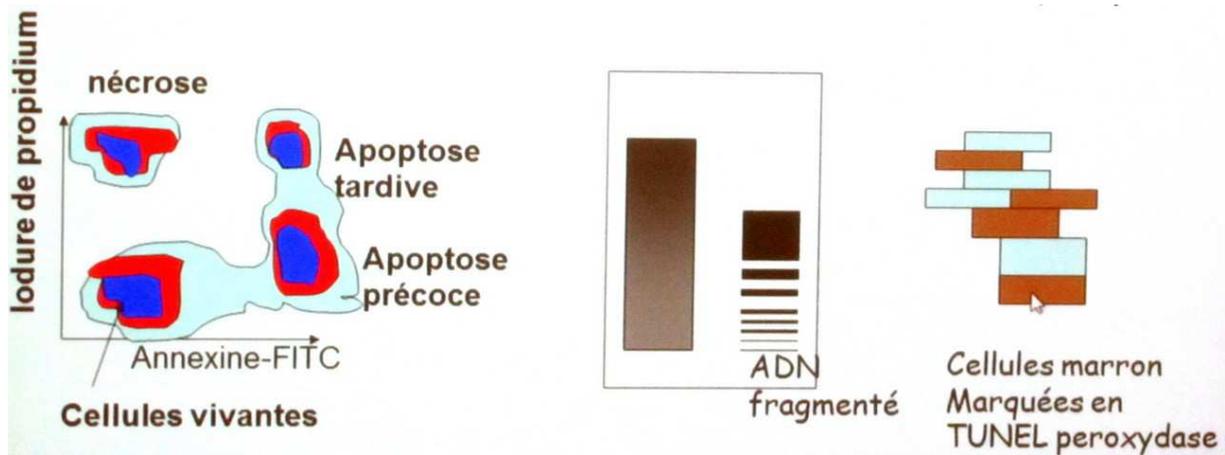
**Apoptose et nécrose peuvent s'associer : l'apoptose peut suivre la nécrose dans un accident ischémique. En médecine on tente de limiter le foyer apoptique.**

### L'apoptose : non inflammatoire, progressive, et physiologique !

- 1) Pas de phénomène inflammatoire (donc passait inaperçue par les techniques histologiques classiques)
- 2) Les cellules diminuent de volume (aspect rabougri) par perte d'eau, de K<sup>+</sup>, et de Cl<sup>-</sup>
- 3) La MP présente des renflements et des anomalies : **externalisation de phosphosérine**
- 4) La **mitochondrie** est l'organe majeur de l'apoptose (perte de potentiel membranaire, de cytochrome C, et sortie de Ca<sup>++</sup>)
- 5) **Le noyau et l'ADN se fragmentent**
- 6) Digestion par des cellules phagocytaires qui ont reconnu les cellules apoptiques grâce à des molécules de surface.

Ces propriétés sont à la base des techniques de mise en évidence de ces cellules.

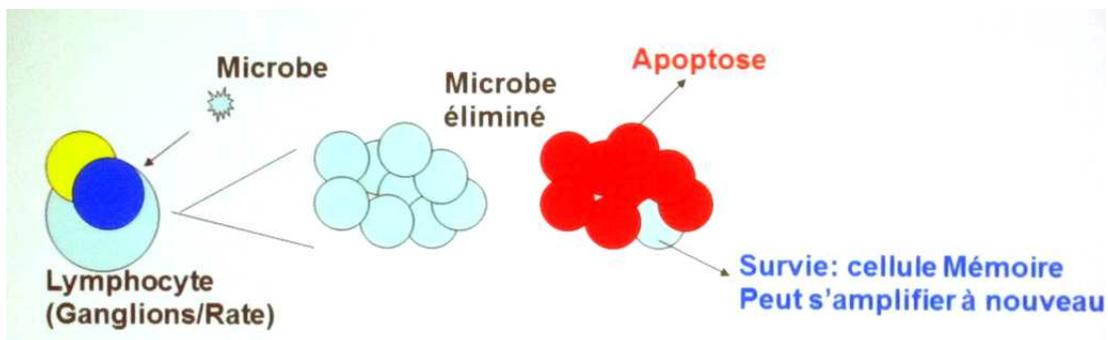
- 1) Marquage de la phosphosérine par annexine ou anticorps
- 2) Mise en évidence de la fragmentation de l'ADN : L'ADN extrait de C.A est mis à migrer en électrophorèse sur gel d'agarose, après coloration on voit des bandes d'adn de longueur régulière.
- 3) Marquage de l'ADN sur coupes de tissus par TUNEL (les cassures d'ADN son marquées en 3' TdT-UTP\_biotin Nick End Labeling.  
Puis streptavidine-peroxydase.



## ROLE DE L'APOPTOSE

Éliminer les cellules ...

- **INUTILES LORS DU DEVELOPPEMENT** de l'embryon :
  - o palmures des mains/ des pieds, canaux de muller chez les mâles.
- En **EXCES** : Certains neurones des ganglions
- **POTENTIELLEMENT DANGEREUSES** :
  - o L'organisme fabrique des lymphocytes capables de reconnaître tous les antigènes y compris ceux du **soi**. Ces cellules doivent être éliminées. Ce processus tue les cellules qui reconnaissent le soi (90%) et sauve celles qui reconnaissent le **« non soi »** il a lieu dans le thymus (Lymphocytes T) c'est le processus de tolérance centrale des immunologistes. Donc y'a beaucoup d'apoptose dans le thymus
- **LES CELLULES DEVENUES INUTILES** : lymphocytes T cytotoxiques (anti virus) et plasmocytes issus des lymphocytes B) qui fabriquent des anticorps.

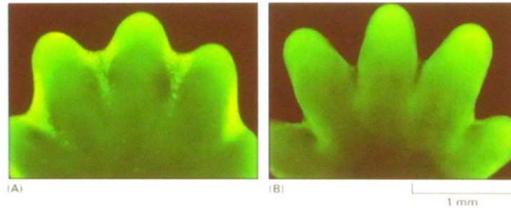


Ce phénomène de contraction des cellules évite à l'organisme d'être débordé chaque fois qu'il rencontre un nouvel agent pathogène.

- **LES CELLULES INFECTÉES PAR UN VIRUS : SIDA** (ici, la MCP n'est pas désirée)
- **LES CELLULES PRIVÉES D'HORMONES DE CROISSANCE** (cf cours cycle) :  
Les cellules épithéliales de glandes mammaires croissent en période de grossesse et lactation et involuent en dehors de ces périodes. La différenciation de la glande mammaire ne se différencie définitivement que lors de la première grossesse.
- **LES CELLULES ENDOMMAGÉES PAR UN DEROULEMENT ANORMAL DU CYCLE** (protection)  
Par chimiothérapie ou radiothérapie.

Les doigts de la patte d'une souris sont sculptés au stade embryonnaire par apoptose des cellules (fluorescentes) interdigitales.

Les doigts de la patte d'une souris sont « sculptés » au stade Embryonnaire par apoptose des cellules (Fluorescentes) interdigitales



D'après « Molecular Biology of the Cell » (Alberts.....)

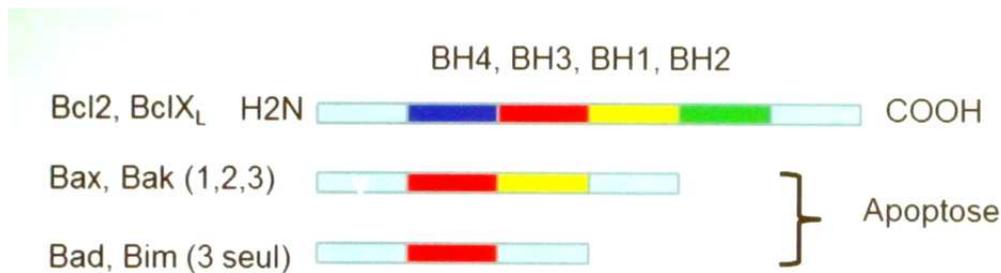
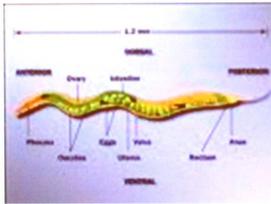


Ce ver a l'avantage d'avoir un nombre de cellules connu (1090) 131 subissent une mort cellulaire programmée :

- à des temps et positions précis
- découverte des gènes CED grâce à plusieurs mutants :  
CED 3 et CED 4 déclenchent l'apoptose  
CED 9 est anti-apoptotique (protecteur)

Tous ont des équivalents chez les mammifères :

- o CED9 = Bcl2
- o CED4 = Apaf-1
- o CED3 = Casp 9



Bcl2 est le « chef » d'une famille de gènes homo ou hétérodimères. Augmentent ou bloquent la sortie du cytochrome C.

- Un stimulus de prolifération ou de survie augmente l'expression de Bcl2
- Un stimulus d'apoptose augmente l'expression de Bax, Bad etc.

Les gènes de la famille Bcl2 sont composés de modules BH1 à BH4 pour Bcl2 Homology, conservés dans les différents membres.

En plus des **gènes régulateurs** (famille Bcl2) il existe des **gènes effecteurs** qui codent pour des protéines dites **CASPASES** qui exécutent l'apoptose.

**Il existe deux groupes de caspases :**

- **INITIATRICES** : sous forme de pro-enzymes, elle-même activées par des facteurs d'assemblage
- **EFFECTRICES** : activées par les caspases initiatrices activées : cascade.

Les caspases interagissent entre elles grâce à 3 types de modules :

- 1) **Domaine de mort (DD : death domain)**
- 2) **Domaine effecteur de mort (DED Death effector domain)**
- 3) **Domaine de recrutement (CARD caspase recruitment domain)**
- 4) ????????????

## MISE EN JEU : VOIES D'ACTIVATION :

### Voie extrinsèque (du récepteur de mort) : exemple du lymphocyte.

- 1) **Les cellules destinées à mourir** après activation/multiplication ou bien infection par un virus, **vont exprimer la molécule Fas** (dit APO ou CD95) à leur surface. CD95 est transmembranaire et possède un DD dans sa partie intra cytoplasmique
- 2) **Le lymphocyte exprime en surface le ligand du Fas**
- 3) L'interaction entre ces deux cellules va activer CD95 sur la cellule cible et rapprocher les domaines DD qui se lient à un adaptateur FADD et à une procaspase casp8.

CASP8 est activée et déclenche la cascade de caspases effectrices d'où protéolyse.

### Voie intrinsèque, déclenchée par des anomalies du métabolisme.

- 1) Les **signaux d'apoptose intracellulaire** (agressions non réparables) → Activation de protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl2 (Bad Bax Bim)
- 2) Ces protéines **ouvrent un canal dans la mitochondrie**, qui libère le cytochrome C.
- 3) **Le Cytochrome-C** active une molécule d'assemblage **Apaf-1** qui recrute et active la cascade des caspases.

Normalement il existe un équilibre à la membrane mitochondriale entre les cellules pro-apoptotiques et anti-apoptotiques, les cellules destinées à survivre (les lymphocytes B qui reconnaissent un microbe donné) augmentent la transcription de Bcl2, les membres des 2 familles se neutralisent mutuellement, par interactions entre les domaines BH.

Certains virus se maintiennent dans la cellule grâce à des **inhibiteurs des caspases : les IAP**  
Ces molécules identifiées chez les baculovirus possèdent des domaines BIR pour baculovirus IAP Repeat.

On a découvert des IAP et des anti-IAP dans les cellules de mammifères.  
Les IAP bloquent les caspases.  
Ceci prévient une activation accidentelle de procaspases dans les cellules.

## APOPTOSE ET MALADIES

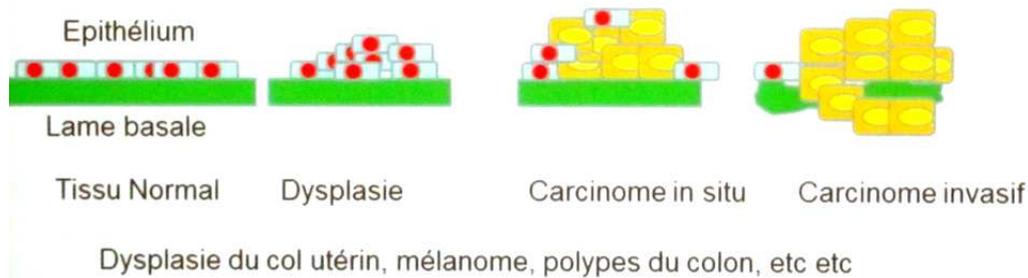
- 1) la surexpression ou des mutations activatrices de molécules anti-apoptotiques (Bcl2) favorise les **cancers**.
- 2) ... Ainsi que certaines **maladies auto-immunes** : les cellules autoimmunes ne sont pas éliminées et détruisent les tissus.
- 3) **Certains cancers se défendent contre le système immunitaire** en exprimant Fas-ligand à leur surface et tuent ainsi les lymphocytes CD95+
- 4) **Excès d'apoptose dans les maladies dégénératives** : myopathies, Alzheimer.

## APOPTOSE ET TRAITEMENTS

- 1) Promouvoir l'apoptose dans les cancers et les maladies auto-immunes.
- 2) Bloquer l'apoptose dans les maladies dégénératives.

### Quelques Réflexions sur Mécanismes Moléculaires De l'Oncogénèse

**OBSERVATION 1 : une tumeur en apparence bénigne peut s'aggraver au fil des années.**



**OBSERVATION 2** : On peut rendre des cellules tumorales par transfert d'ADN de cellules cancéreuses : **le cancer est codé dans le génome.**

**NOTION 3** (épidémiologie) : il existe une **prédisposition génétique pour certains cancers** (sein, colon) voire pour de multiples cancers. On sait maintenant que ces maladies sont dues à des mutations de gènes suppresseurs de tumeur (p53, ATM, Rb...) ou de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN BRCA 1-2, etc etc.)

Ces cancers surviennent à un âge plus jeune que les mêmes cancers sporadiques (qui surviennent spontanément et isolément) (40 ans vs 65 ans dans le colon ou le sein)

**NOTION 4** (épidémiologie) : il existe des **cancers professionnels** (vessie : colorants, Plèvre/poumons : amiante, Poumon, thyroïde, sarcomes : Radiations etc etc) :  
Notion d'**agents mutagènes**.

**OBSERVATION 5** : On peut inclure des cancers dans chez l'animal grâce à l'action séquentielle d'un **agent initiateur** **et** d'un **agent promoteur**.

**L'agent initiateur** induit une lésion permanente de l'adn sur un ou plusieurs gènes.

→ radiations, mutagènes chimiques (goudrons, colorants...)

**L'agent promoteur** fait proliférer la cellule (ester de phorbol, œstrogènes)

**La combinaison des deux agents induit un cancer en quelques mois ou années.**

**Un cancer est du a une accumulation d'événements génétiques nefastes**

### **OBSERVATION 6 : LES CANCERS AUGMENTENT AVEC LE VIEILLISSEMENT**

Accumulation d'événements génétiques dus à l'environnement : infections, pollution ou simplement le hasard !

## OBSERVATION 7 : LA MAJORITE DES CANCERS TOUCHENT DES TISSUS OU CELLULES QUI SE MULTIPLIENT ET SE RENOUVELLENT FREQUEMMENT :

- Épithélium : carcinomes
- Globules blancs : lymphomes / leucémies.
- Une cellule qui prolifère a plus de chances de se transformer qu'une cellule quiescente (muscle, neurone...)

### Des cancérigènes majeurs sont les agents infectieux :

- **Bactéries** (ex helicobacter pylori responsable de l'ulcère et du cancer gastrique)
- **Parasites** (le ver schistosoma haematobium provoque le cancer de la vessie)
- **Virus** :
  - o Epstein Barr **EBV** est responsable de cancers du nasopharynx et de lymphomes
  - o Le papillomavirus (**HPV**) serotype 16 cause le cancer du col de l'utérus.
  - o **Hépatite B et C** → cause majeure du cancer du **foie**
- **Les radiations ionisantes**



### Ces agents cancérigènes agissent

- o Comme des mutagènes directs : En cassant ou modifiant les bases de l'ADN : Cas des RX et de certains carcinogènes chimiques
- o En activant la transcription de certains gènes en se fixant sur leurs promoteurs : Cas des protéines virales ou d'agents chimiques
- o En s'insérant à l'intérieur d'un gène ce qui perturbent leur fonctionnement : virus

Le cancer touche ou touchera 30% des individus au cours de leur vie. Il est donc perçu comme un évènement fréquent. Or la biologie nous enseigne que **c'est un évènement très rare**. En effet un cancer résulte de l'expansion clonale d'une seule cellule Ceci est démontré depuis longtemps au moyen de techniques anciennes.

Exemple : toutes les cellules d'une tumeur expriment le même isoforme d'un enzyme donné, ou bien toutes ont le même chromosome X activé ou non.)

Or chaque jour  $>10^{11}$  cellules se divisent et meurent chez un humain soit plus de  $25 \cdot 10^{15}$  en une vie dont une seule va acquérir un avantage sélectif sur les autres !

→ On peut prévenir les cancers...

- En diminuant les agents mutagènes
- En éradiquant les tumeurs précancéreuses
- En vaccinant contre certains agents infectieux.

Mais on n'éliminera qu'une partie des cancers :

Les cancers augmentent inévitablement avec l'âge. Le cancer est un problème arithmétique :  $>10^{16}$  cellules / vie →  $10^{25}$  bases copiées.

**Le système de réplication de l'ADN: 1 erreur sur 1 milliard de bases,**

→ mais néanmoins  $10^{16}$  erreurs au cours d'une vie

→  $0,33 \cdot 10^{10}$  mutation par gène (seule la première base du triplet est mutagène)

Donc chaque AA a en théorie une chance de muter. **Une mutation n'est que rarement oncogénique** (tous les gènes et, pour un gène donné, les AA d'une protéine ne sont pas d'égale importance.)

Tout bien calculé, l'incidence des cancers devrait être proche de 100%

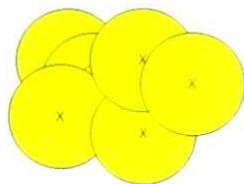
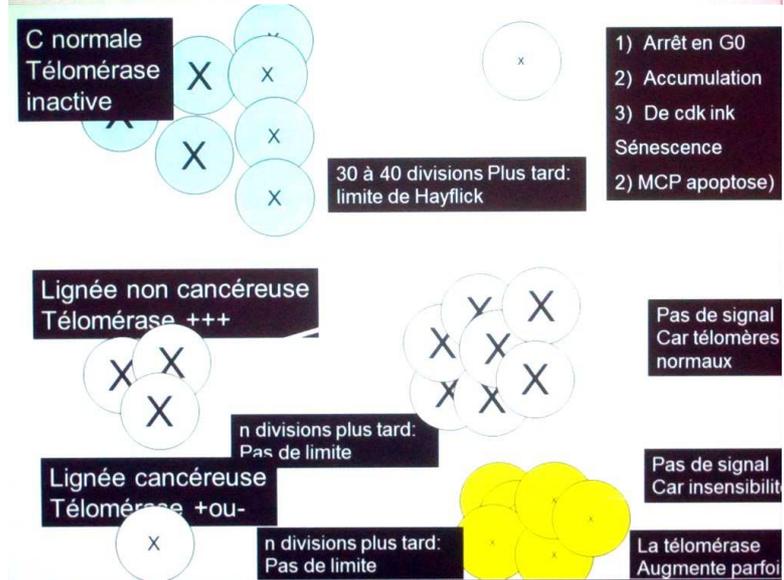
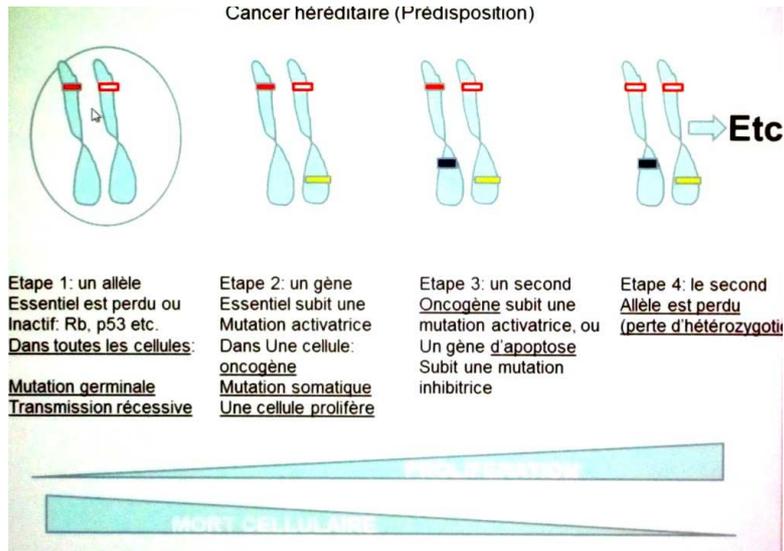
**Pourquoi les cancers ne se produisent ils donc pas plus souvent ?**

1) Car il existe des **systèmes de réparation de l'ADN** (non abordés dans ce cours). Dans la maladie **xeroderma pigmentosum**, l'ADN est mal réparé d'où une forte Incidence de cancers (héréditaires).

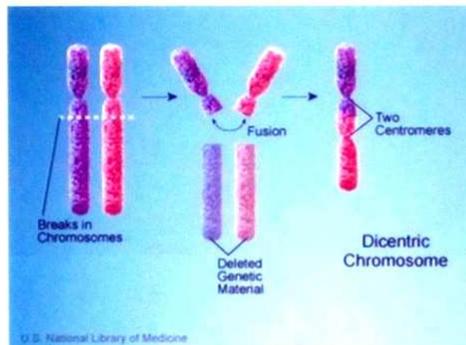
2) Car il existe les **points de contrôle du cycle** mentionnés plus haut ainsi que le **signal d'attrition des télomères**, couplés à la Réparation de l'ADN et au mécanismes actifs **d'apoptose**.

3) Car il existe un **contrôle immunologique**: les cellules cancéreuses sont reconnues Par certains lymphocytes tueurs.

Quelques exemples schématiques:



Les télomères courts favorisent la fusion anormale de chromosomes: activation anormale de certains gènes possible



**Exemple 1**

Parfois on a déterminé précisément le point de départ: exemple dans la leucémie myéloïde chronique, la fusion anormale de 2 gènes Bcr et Abelson (chr. Philadelphie) Résume la maladie. L'introduction du gène chimère dans des cellules les rend Anormales. Ce gène code pour une **protéine kinase sur tyrosine**. Le blocage de cette Protéine par une petite molécule rend les cellules à nouveau normales sans les tuer !

## Exemple 2

Le gène anti-apoptique BCL-2 (chr18) se juxtapose au gène de chaîne lourde des anticorps (immunoglobulines) IgH (chr14) dans les lymphocytes B.

L'enhancer de IgH active l'expression de Bcl2 : les cellules résistent à la MCP !

Autre mécanisme de la translocation / cassures chromosomiques : Les anomalies de contrôle du fuseau. Anomalies de la sécurine, du complexe APC/C : Aneuploïdie (anomalies de ségrégation des chromosomes)

Le Gardien du génome est la protéine p53 codée par le « gène suppresseur De tumeur » TP53.

Si l'ADN est endommagé, ou bien si un oncogène est activé,

Une stabilisation de p53 se produit (phosphorylations activatrices sur ser) .

La protéine p53 est un facteur de transcription de très courte durée de vie

Qui fait la navette entre le cytosol et le noyau. P53 est ubiquitinylé par une UL: MDM2.

- 1) Des protéines spécialisées vérifient l'ADN. En cas de dommage, elles inhibent MDM2 et activent ATM qui à son tour phosphoryle p53.  
ATM est un gène suppresseur (Ataxie Téléangiectasie).
- 2) L'activation d'oncogènes déclenche celle de la protéine ARF, (autre facteur suppresseur de tumeur) qui en retour bloque MDM2 dans le nucléole et la détourne de p53.

.....mais des virus peuvent interférer avec ces protéines!

- 1) La protéine E6 du « human papilloma virus » se lie à p53 et le dégrade.
- 2) La protéine E7 du HPV se lie à Rb. Cette protéine présente une séquence De 17 aa similaire à celles de protéines d'adénovirus ou de SV40, autres virus oncogènes.

Autre mécanisme d'oncogénèse: l'insertion Par un rétrovirus d'un oncogène viral (vOnc) , dans le génome.



Le virus s'insère Dans le génome À proximité d'un Proto oncogène	Le virus « vole » Le proto-O et L'intègre dans son Propre génome	Le virus se multiplie Et le proto-Onc Mute (activation) et Deviens un oncogène. Viral v-onc	Le virus intègre V-onc dans le génome Cellulaire: c-onc. Prolifération cellulaire!
---	---	---	---

Mais la majorité des mutations n'est pas due aux rétrovirus.

La majorité des oncogènes mutent secondairement à l'initiation de la transformation maligne : Ras est activé dans 40% des cancers.

Ras est activé par une mutation sur un seul aa: gly12-val.

## Conclusions

**Le cancer résulte de l'accumulation de plusieurs mutations somatiques  
(cas de la majorité des cancers dits sporadiques)  
Associées à une mutation germinale (cancers familiaux)**

Le gène muté doit appartenir à une catégorie précise:

- 1) Gène impliqué dans la prolifération, ce sont les récepteurs aux facteurs de croissance et de prolifération: Kinases sur tyrosine (**EGFR**) ou sur ser/thr (**MAPK**) ou facteurs d'échange GTP/GDP (**Ras**). Un gène devient **spontanément actif** et échappe à la régulation par les signaux naturels. Il se comporte comme un **gène dominant**. On parle d'**Oncogène car leur introduction dans une cellule « force » le cycle**.
- 2) Les gènes impliqués dans l'apoptose (**Caspases, famille Bcl2**)
- 3) Les gènes de réparation de l'ADN
- 4) Des gènes de contrôle du cycle cellulaire: Ils se comportent en gènes récessifs car **les 2 allèles doivent être inactivés**. Leur **perte de fonction (inactivation)** favorise le cancer, on parle de **gènes suppresseurs de tumeurs**.
- 5) Les cancers comme certains virus neutralisent le système Immunitaire. Ce vaste sujet sort du cadre du cours.

**Plusieurs gènes doivent être mutés** (>3 oncogènes/apoptose) + 1 gène sup pour faire un cancer. Le moyen d'accélérer le processus cancéreux est la **perte germinale d'un gène Suppresseur**. Celle-ci « ouvre la porte » à des anomalies supplémentaires: La Prolifération de cellules favorise la mutation d'oncogènes d'où prolifération et raccourcissement des télomères, passage de la « limite de Hayflick ». Ce raccourcissement favorise des **aberrations des chromosomes**. Une cellule cancéreuse est prise dans un **Cercle vicieux** générateur d'Instabilité Génétique.