

LE CYCLE CELLULAIRE ET SA RÉGULATION

1. Introduction.

Division cellulaire: tout type cellulaire.

-bactérie: division rapide, cycle court.

-homme: cellule œuf → plus de 10^{13} cellules!

Cycle cellulaire est contrôlé et coordonné.

Croissance cellulaire et réplication de l'ADN:

-eucaryote: unicellulaire (kinases).

-eucaryote: évolué → kinases + facteurs de croissances.

Anomalies → cellules tumorales.

2. Les phases du cycle cellulaire.

2.1 Les cellules eucaryotes.

Quatre phases: G1, S, G2, M.

Cycle de 24h mais variable (entre 8h et plusieurs années).

Interphase: G1, S, G2: 95% du temps.

G pour gap car il ne se passe pas grand chose d'important.

2.2 Les cellules embryonnaires.

Alternance de phase M et S.

Œuf: taille importante.

Œuf de xénope: 1mm de diamètre.

7h > 4000 cellules.

2.3 Les cellules adultes.

Cellule en G0 (neurones).

Division cellulaire sous l'influence des signaux EC:

Hors cycle de G1:

Schéma 1

Le point R est le point de restriction (sous dépendance des facteurs de croissance).

3. Analyse du cycle cellulaire.

3.1 Rappels sur le cycle.

Ex: cycle "type" de 24h, mais durée variable selon la cellule.

En fait de 8h à plusieurs années.

Phase/Nom/Quantité d'ADN/Durée:

G1/Gap1/2n/9-11h (environ 50% durée totale).

S/Synthèse/2n → 4n/8h.

G2/Gap2/4n/4h.

M/Mitose/4n/1h.

Schéma 2

L'hydroxy-urée est une drogue qui bloque la synthèse d'ADN → bloque en G1.

La vinblastine et la vincristine sont des drogues isolées de la pervenche, ce sont des alcaloïdes qui se fixe sur la β -tubuline; c'est un poison des faisceaux.

3.2 Durée du cycle et des différentes phases.

Durée totale= temps de doublement de la population cellulaire.

Le temps de doublement dépend:

- durée des différentes phases.
- du % des cellules en cycle.

Durée de la phase S:

- incubation des cellules avec thymidine tritiée (15min).
 - fixation des cellules (révélation: émulsion photo).
 - comptage des noyaux avec grains d'argent.
 - déterminer la fraction de cellules marquées.
 - cette fraction x durée totale= durée de la phase S.
- Phase S= $(4/12) \times 24 = 8h$.

Durée de la phase M:

- cellules avec chromosomes condensés.
- déterminer la fraction de ces cellules= index mitotique.
- ex: une cellule sur 12. durée totale= 24h.
- durée de M= $(1/12) \times 24 = 2h$.

Durée de la phase G1:

- cellules en fin de mitose: rondes, peu adhérentes.
- ajouter de la thymidine tritiée.
- temps nécessaire à l'incorporation: durée de G1.

Durée de la phase G2:

Durée totale - (G1 + S + M).

Cellules en G0:

- suicide à la thymidine.
- incubation longue (< 24h et forte dose de thymidine tritiée).
- les cellules en cycle meurent.
- les cellules en G0 survivent.

3.3 Mesure du contenu en ADN.

- Différentes phases du cycle.
- Agent intercalant de l'ADN:

- iodure de propidium.
- fluorescent.

-Intensité de fluorescence → quantité d'ADN.

-en G0 et G1: 2n ADN.

-en S: entre 2n et 4n ADN.

-G2 et M: 4n ADN.

Cytomètre de flux:

- mesure fluorescence cellule par cellule.
- graphe nombre de cellules en fonction intensité de fluorescence:

Schéma 3

Aire sous la courbe:

- nombre de cellules.
- durée de la phase.

Proportion de cellules= durée de la phase.

3.4 Application à la pathologie.

Degré d'aneuploïde.

- nombre atypique des chromosomes.
- indice de malignité= dans certains cancers (vessie).

Schéma 4

Valeur pronostic pour certains cancer.

-% de cellules en cycle → évolutivité.

Adaptation des traitements.

4. Régulation du cycle cellulaire.

Signaux positifs et négatifs.

Signaux extra-cellulaire: environnementaux.

Signaux intra-cellulaire.

Il existe plusieurs points de contrôle (x4):

→ ordonner la croissance, la réplication, ADN, la synthèse.

-En phase G1: le point R.

-Transition G1-S.

-Transition G2-M.

4.1 Signaux environnementaux.

Contrôle du point R et transition G2-M.

4.1.1 Passage du point R.

Appelé point S: "start", chez certaines levures.

Passage dépend des conditions environnementales.

Tous les besoins doivent être assuré.
Point de non retour.

- a. Les éléments nutritifs.
- b. La taille de la cellule.
- c. Matrice extra-cellulaire.

d. Les facteurs de croissances excitateurs:
PDGF, cellules mésenchymateuses.
EGF.
FGF, fibroblast growth factor.
NGF, axones.
IL2, LT.
IL3, EPO, TPO,....

Action locale, faible concentration.
RTK ou RCTK → MAP kinases → cyclines D.
Régulation densité cellulaire → inhibition de contact.
PDGF → fibroblastes quand lésion.
Absence de signaux → G0.

d. Les facteurs de croissance inhibiteurs:
TGF bêta (transforming growth factor).
Inhibe la croissance → arrêt en G1.

Induit l'expression d'inhibiteur de CDK.
CKI inhibe complexe cycline CDK.
p16, p21, p27.

4.1.2 Passage G2-M.
Certaines levures arrêtent le cycle:
-si taille insuffisante.
-si faible disponibilité en nutriments.

Ovocytes de vertébrés:
-bloque en G2 < 10ans.
-passage en M si stimulus hormonal.

4.2 Signaux internes.
Mis en évidence en 1970 par des expériences de fusion cellulaire.
-fusion d'une cellule S et d'une cellule G1 → noyau de la cellule G1 se met à dupliquer son ADN grâce à SPF.

-fusion G1 et G2 → pas de duplication de l'ADN, donc le facteur SPF n'est plus présent dans les cellules en G2; c'est un facteur rapidement éliminé.

-fusion G2 et S → G2 ne se reduplique pas, donc une fois répliqué, SPF n'a plus d'action sur G2.

-MPF, toutes les cellules y sont sensible, ce facteur est nécessaire au démarrage de la mitose.

Au cours du cycle cellulaire:

-enchaînement d'événements séquentiels.

-chaque étape dépend de la précédente.

-apparition/disparition des molécules spécifiques.

4.3 Les régulateurs de la progressions du cycle cellulaire.

Cyclines.

CDK.

4.3.1 Les cyclines.

-Cyclines D, E, A, B.

-Cycle de synthèse et de régulation.

-La 1e: cycline D → facteurs de croissances.

-Protéines régulatrices sans actions enzymatiques.

4.3.2 Les CDK.

-Sérine.

-Conservées au cours de l'évolution.

-Expression constante, degré de phosphorylation variable.

-Phase G1: Cycline D-CDK4 ou 6:

A un rôle dans le passage du point R (car la cycline D sous contrôle de facteurs de croissances).

-Fin de la phase G1: Cycline E-CDK2:

La cycline E a un début d'expression juste avant R puis s'associe à CDK2 → transition G1-S puis CDK2 s'associe à la cycline A pour la phase S.

-Phase S: Cycline A-CDK2:

Ce complexe est SPF.

-Phase G2: Cycline A-CDK1:

Rq: CDK1= CDC2.

-Phase M: Cycline B-CDK1:

Ce complexe est MPF.

4.3.3 Régulation des CDK (au moins quatre mécanismes).

-Association avec une cycline.

-Une activation par phosphorylation du résidu thréonine 160.

-Une inhibition par la phosphorylation du résidu 14thréonine et 15tyrosine.
La CDC25 élimine les résidus phosphorylés → complexe de nouveau actif.
-CKI en venant s'associer au complexe actif → inactivation.

Il y a deux familles de CKF:

-CIPKIP (telle que p21).
-INK4 (telle que p16).

4.4 Contrôle du cycle cellulaire.

4.4.1 Passage de R.

-Sous contrôle de cycline D.
-Nécessite FC → complexes cycline D-CDK4 ou 6.
La cellule passe R.
Cycline D dégradée.
-Si on enlève FC: la cellule passe en G0.
-Anomalie de transduction signal:
+++ cycline D → cancer (sein).
Mutation CKI, comme p16.

4.4.2 Transition G1-S.

Forme hypophosphorylée de p105 Rb:
-induction de la cycline E puis A.
-rôle des protéines p105 Rb et E2F.
p105 Rb mutée dans un certains nombre de cancers.

4.4.3 Transition G2-M.

Augmentation de la cycline B.
Cycline A-CDK1 active CyB-CDK1: MAF.
Phosphorylation de protéines impliquées dans la mitose:
-histones: H1, condensation chromatines.
-lamines: enveloppe nucléaire.
-tau: dépoléarisation microtubule.
Fragmentation Golgi et RE.

Si diminution de cycline B → arrêt en phase G2.

4.4.4 Progression dans la mitose.

Activation d'un système protéolytique → dégradation CyB.
CDK1 déphosphorylé.

5. Contrôle de qualité du cycle cellulaire.

5.1 Arrêt en G1.

Lésions de l'ADN, irradiation UV.

Action assurée par p53.

-phosphorylée.

-acétylée.

-activation de p21 (CKI) → Inhibition de CyE, A-CDK2.

Si lésions trop importantes → apoptose.

-augmentation Bax.

-diminution Bcl2.

p53= gardien du génome.

-mutée > 50% des cancers.

-protéines anti-oncogènes= suppresseur de tumeur.

E6 dégrade p53, E7 dégrade p105 Rb.

5.2 Arrêt en G2.

ADN mal répliqué, endommagé → arrêt fin de G2.

5.3 Arrêt en M.

Mauvais alignement des chromosomes.

Arrêt en métaphase.

G1 → S: stop si mauvais état de l'ADN.

Fin de G2: stop si ADN mal ou incomplètement dupliqué.

Fin de M: stop si chromosomes mal alignés.

6. Contrôle à long terme de la croissance et de la division cellulaire.

6.1 Cellules normales.

Programme intrinsèque: nombre de divisions limité.

30 à 50 cycles puis:

-arrêt du cycle: télomères (se raccourcissent à chaque division, horloge biologique).

-sénescence.

-mort cellulaire.

6.2 Cellules cancéreuses.

Division non contrôlée.

Non soumises à inhibition de contact.

Indépendances d'ancrages: faible adhérence:

-au substrat (intégrines).

-aux cellules voisines.

Indépendance FC.

Pas de sénescence.

Cellules immortelles.

Cellules tumorales:

-injection à l'animal:

- colonisation d'autres tissus.
- nombreuses mutations.

Anomalies des régulations du cycle.

CyD augmente.

CDK4 augmente.

CKI diminue.

pRb diminue.

p53 mutée.