

STAGE DE PRÉ-RENTRÉE (SPR)

Matière : Biologie cellulaire

Cours du jour : Cycle cellulaire

Date du cours : 25/08/21



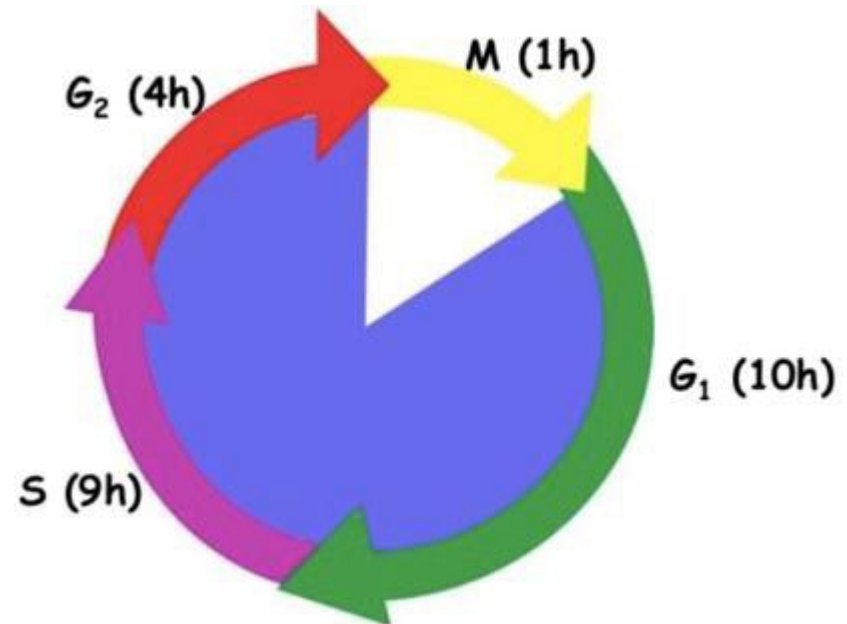
Un diapo du
Tutorat Santé PSA



I/ Notions élémentaires

- Le cycle cellulaire est un processus fondamental par lequel une cellule-mère donne deux cellules-filles identiques entre elles et à la cellule dont elles dérivent. Il s'agit de la succession de plusieurs étapes : Interphase (G1+S+G2) puis mitose.

- Ce cycle intervient dans l'homéostasie générale (ce qui permet à l'organisme de fonctionner correctement)
- Durée des phases : G0/G1 étapes les plus longues et la mitose la plus courte
- Interphase : 22-23h et mitose 1h



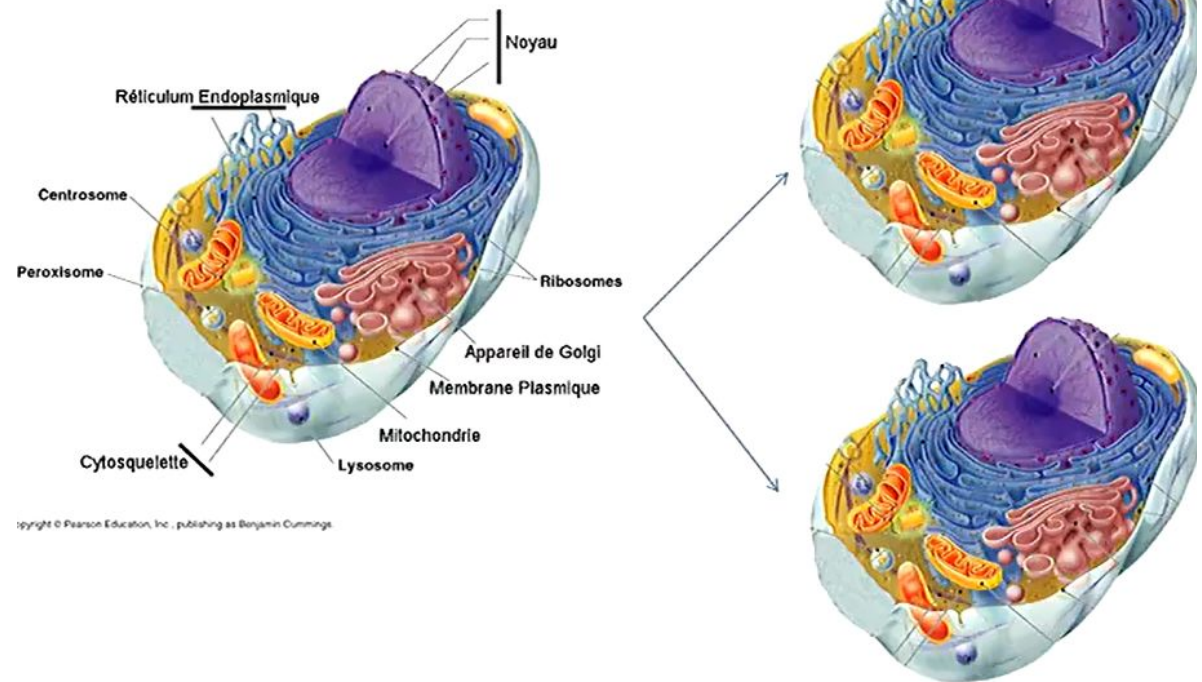
Formation d'un organe

- Les mécanismes de la division cellulaire constituent une série d'événements très organisés et contrôlés (pour obtenir deux cellules filles identiques à la cellule mère).
- La prolifération cellulaire permet in fine de constituer un organe

La taille d'un organe dépend notamment :

- De la taille des cellules
- Du nombre de cellules

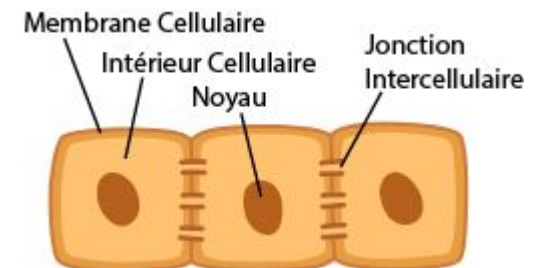
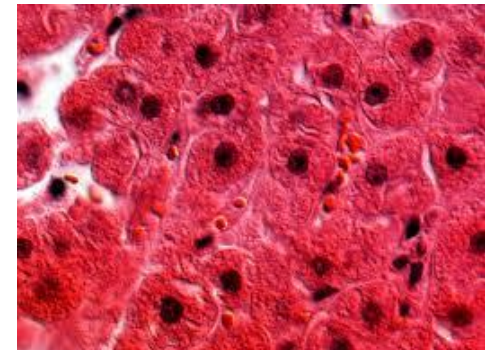
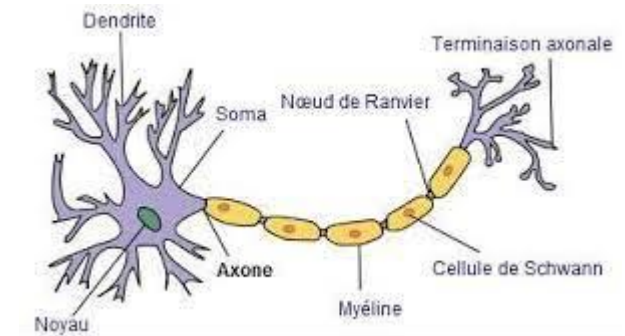
Série d'événements organisés et contrôlés => 2 cellules = à la cellule mère



Division cellulaire

Toutes les cellules d'un tissu ne se divisent pas, ainsi un tissu peut être composé :

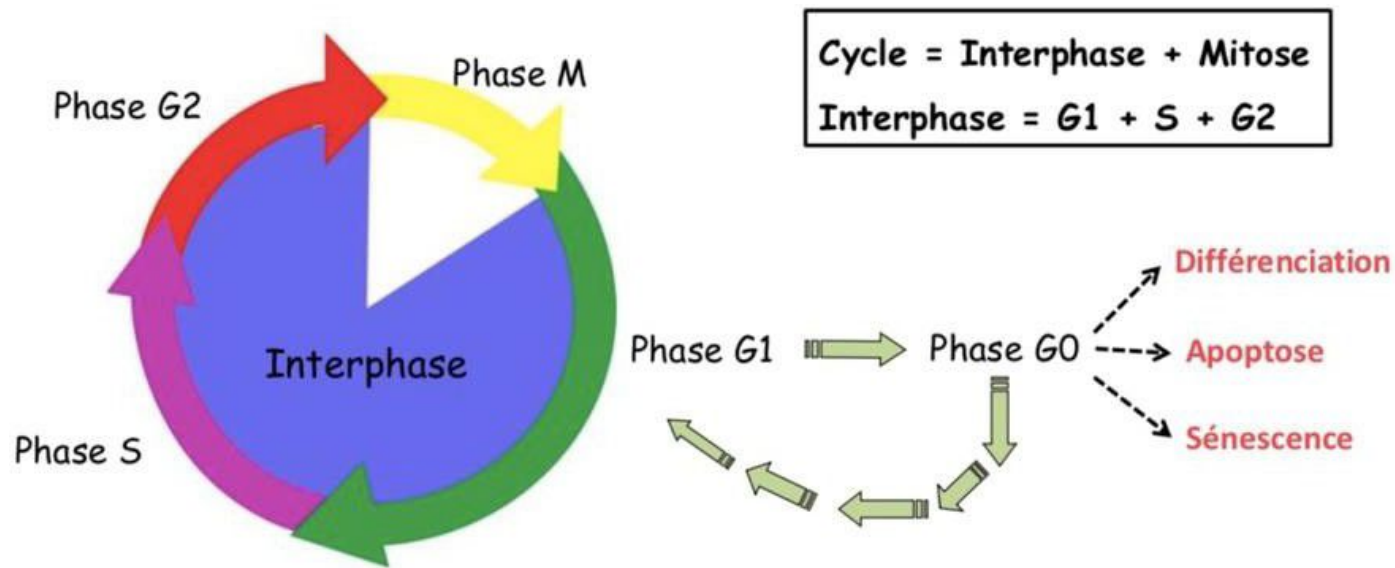
- De cellules qui ne se divisent pas (ex : *cellules en G0 ou cellules différenciées – neurones*)
- De cellules qui se divisent peu (ex : *cellules hépatiques – dédifférenciation*)
- De cellules qui se divisent beaucoup (ex : *cellules épithéliales ou cellules souches*)



Sortie du cycle

La cellule peut entrer dans le cycle en phase G1 mais aussi en **sortir en passant par l'étape G0** durant laquelle elle peut :

- se différencier (acquérir son phénotype mature pour fonctionner)
- se mettre en apoptose
- se préparer pour la sénescence
- revenir dans le cycle.



G = Gap = intervalle ; S = synthèse ; M = mitose ; G0 = état quiescent mais actif, durée variable

Points de contrôle

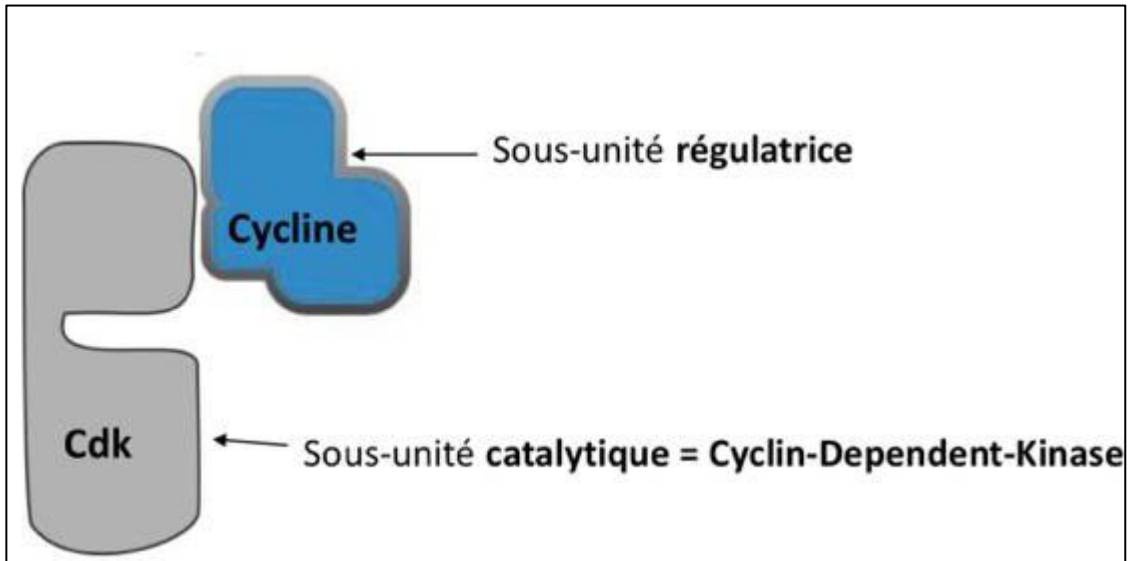
Point de contrôle de G1 (ou point de restriction)	La cellule doit avoir une taille adaptée
Point de contrôle d'entrée en mitose	La cellule vérifie que l'ADN est correctement répliqué et est en bon état. Il n'a pas lieu à un moment précis du cycle cellulaire, mais lorsque l'ADN est accessible (=ADN non condensé).
Point de contrôle du fuseau	Tous les chromosomes de la cellule doivent être attachés correctement. Ce contrôle a lieu à un moment très précis du cycle cellulaire.

Points obligatoires :

- point de contrôle de G1 (point de restriction)
- point de contrôle du fuseau



II/ Complexes Cdk/cycline



- Le cycle cellulaire va mettre en jeu des complexes de protéines appelés moteurs du cycle cellulaire : ce sont les **Cdk** (cyclin dependant kinase).

- La Cdk est une **kinase** (elle phosphoryle d'autres protéines = ajoute un phosphate). Elle est également phosphorylable par d'autres kinases et déphosphorylable par des phosphatases.

- La protéine Cdk **possède l'activité** : elle phosphoryle des protéines cibles. Elle est toujours présente dans la cellule.

- La Cdk se lie à une protéine Cycline qui **régule son activité**. C'est la production de la Cycline dans la cellule qui détermine l'activité de la Cdk.

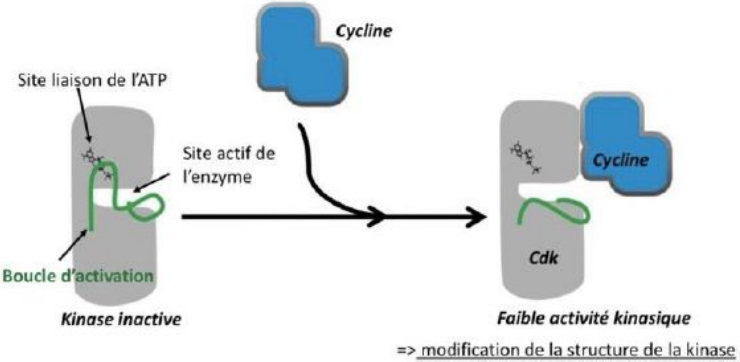
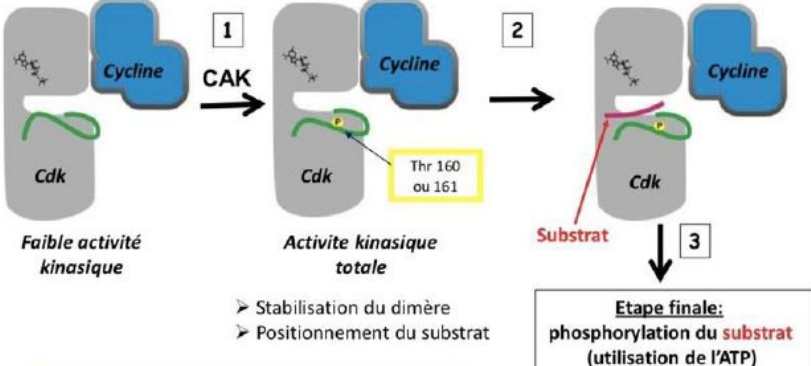
Si elle est absente, la Cdk ne phosphoryle rien.

Les cyclines sont synthétisées en fonction de la phase du cycle dans laquelle la cellule veut s'engager. Elles ne sont donc pas toujours présentes dans la cellule.



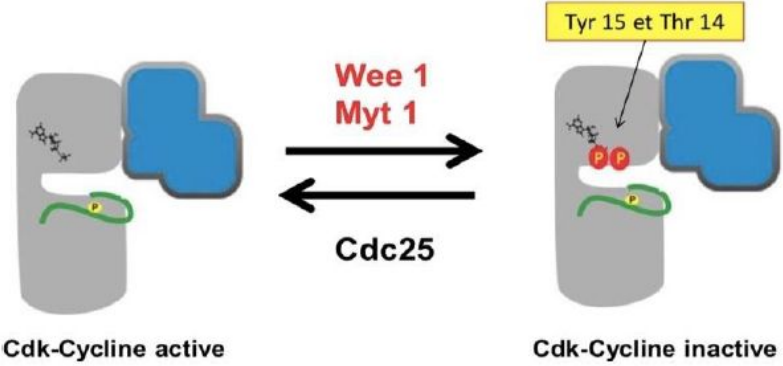
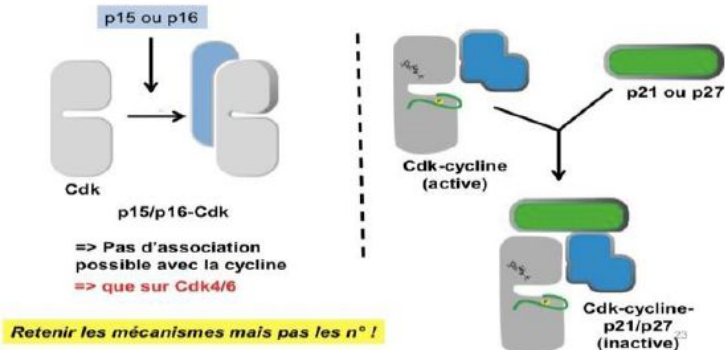
Activité de la Cdk régulée

La Cdk et la cycline forment donc un « couple » en s'associant et sont **régulés** à tout moment du cycle.

L'activité de la Cdk dépend de :		
Son association avec une cycline	 <i>Kinase inactive</i> <i>Faible activité kinasique</i> => <u>modification de la structure de la kinase</u>	La Cdk liée à la Cycline peut phosphoryler mais l'activité est <u>faible</u> dû à un encombrement stérique
Une <u>phosphorylation</u> <u>activatrice</u> par la CAK	 <i>Faible activité kinasique</i> <i>Activité kinasique totale</i> ➤ Stabilisation du dimère ➤ Positionnement du substrat Etape finale: phosphorylation du substrat (utilisation de l'ATP)	Le complexe fonctionne bien

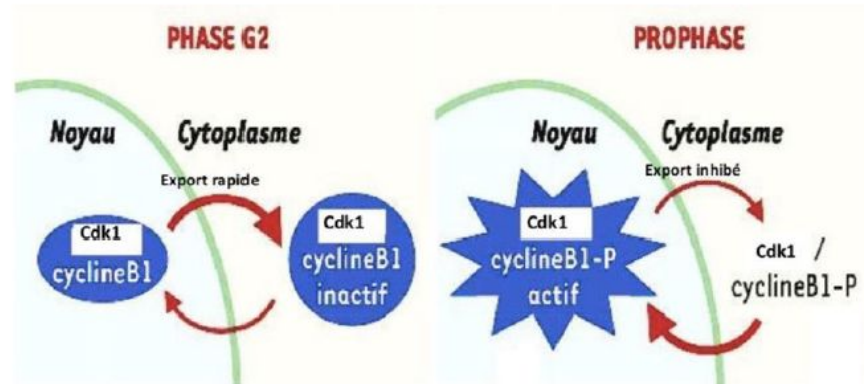


Activité de la Cdk régulée

Une phosphorylation inhibitrice par Wee1 ou Myt1	 Cdk-Cycline active Cdk-Cycline inactive	Le complexe est inactivé
Une dé-phosphorylation activatrice par la Cdc25		Le complexe est réactivé par la Cdc25
La présence/absence d'inhibiteurs	 Retenir les mécanismes mais pas les n° !	Il existe 2 catégories d'inhibiteurs : - Ceux qui se fixent sur la <u>Cdk seule</u> (<i>p15/p16</i>) - Ceux qui se fixent sur le <u>complexe</u> (<i>p21/p27</i>)

Activité de la Cdk régulée

La localisation subcellulaire



En fin d'interphase, la Cdk et la cycline sont situées dans des compartiments différents. L'activité est quasiment nulle.

Au début de la **prophase**, elles se retrouvent dans le même compartiment. L'activité est au **maximum**.

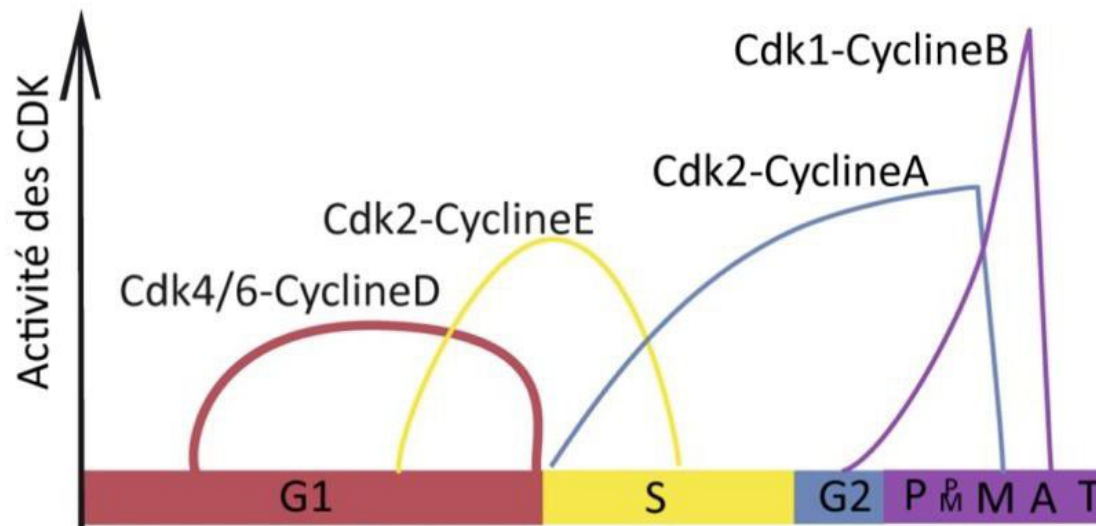
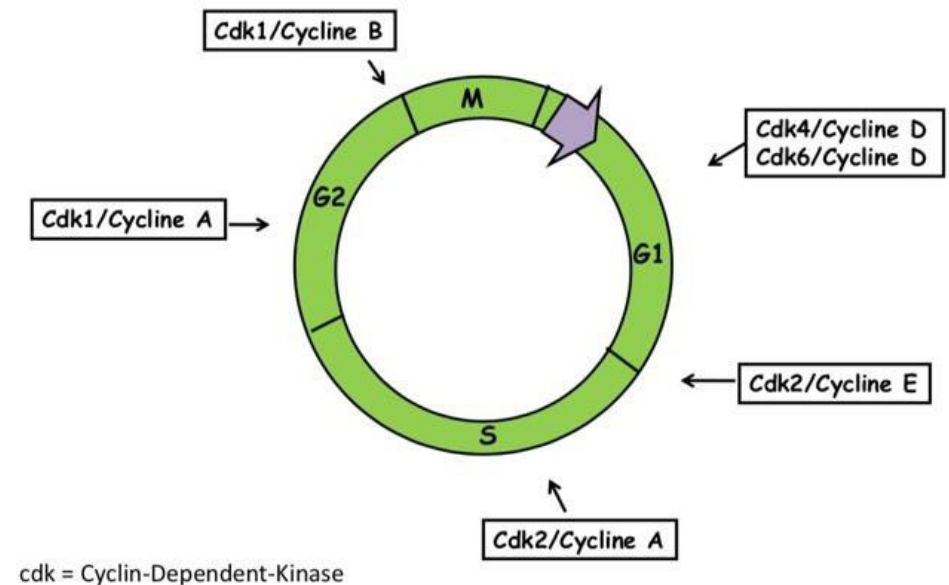


Durée d'activation de la Cdk

- La durée d'activation des Cdk **dépend de la synthèse et de la protéolyse** (=destruction) des cyclines.

- L'activation d'un complexe Cdk/Cycline a pour effet de phosphoryler des protéines cibles (substrat).

A chaque niveau du cycle, un ou plusieurs complexes Cdk/cycline est retrouvé dans la cellule et détermine l'étape du cycle.



Remarque : Ces deux schémas sont à bien connaître ++

III/ Les phases du cycle

1) Phase G1

La phase G1 est une phase :

- De **croissance** : la cellule va augmenter en taille (croissance cellulaire), va constituer des réserves (synthèse d'ARN et de protéines). Lorsqu'elle rentre dans le cycle et commence la mitose, elle ne peut fonctionner que sur ses réserves.
- De **décision** : car il y a le point de contrôle de G1 (ou point de restriction). L'état de l'ADN et la taille de la cellule sont vérifiés. Par exemple, **plus une cellule est grande** (donc plus elle aura de réserve), **plus G1 sera rapide**.
- De **préparation** pour rentrer dans le cycle



2 phases en G1

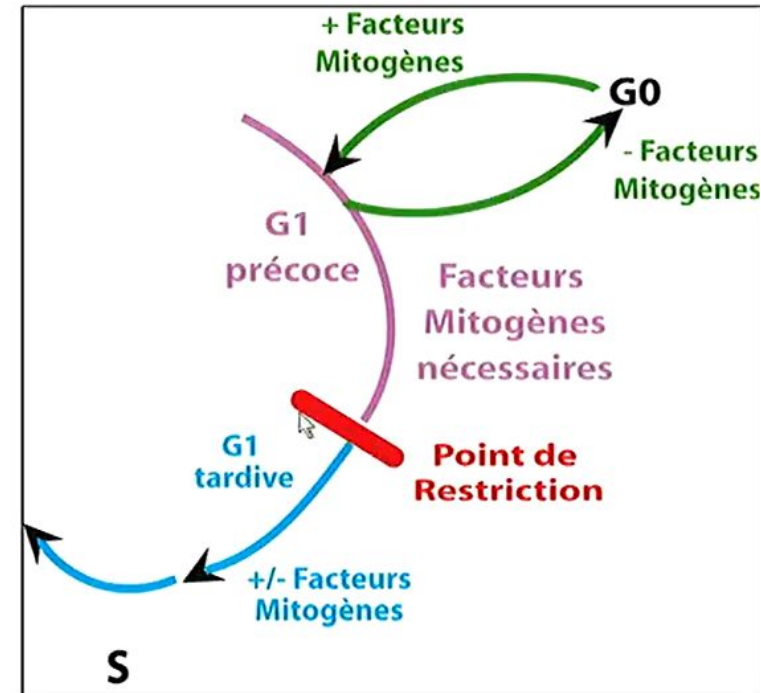


2 phases : une phase précoce et une tardive.
Entre les deux, il y a le point de restriction.

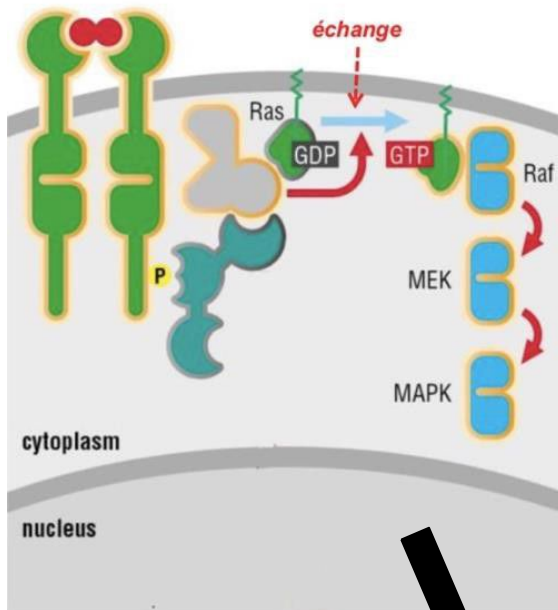
Lors de la phase précoce, la cellule est **dépendante de son environnement** (elle dépend du contact avec les autres cellules) et **des facteurs mitogènes** (= *protéines présentes dans le milieu extra-cellulaire qui fait en sorte que la cellule rentre ou non dans le cycle*).

S'il y a assez de facteurs mitogènes, le cycle continue. Dans le cas contraire, la cellule sort de G1 et va en G0.

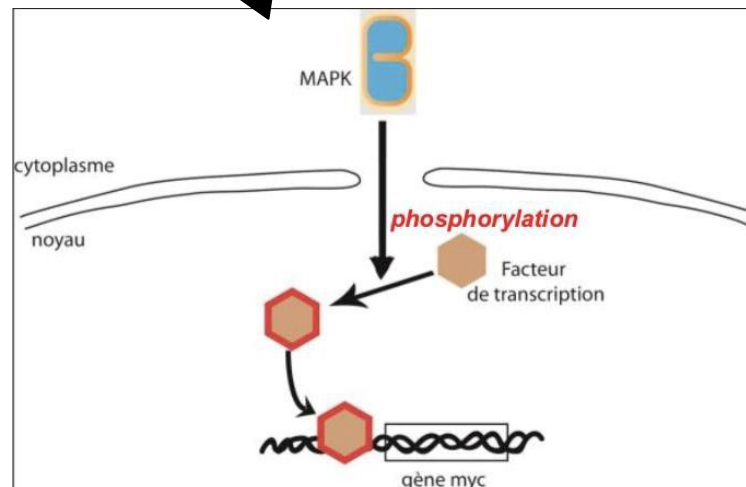
Phase Tardive : une fois que le point de restriction sera passé, la cellule sera **totalemt indépendante des facteurs externes** (de son environnement et des facteurs mitogènes), et **ne peut pas revenir en arrière**. Tout le reste du cycle cellulaire dépend donc de ce qu'il y a à l'intérieur de la cellule.



Facteurs mitogènes



Les facteurs mitogènes (ligands) agissent via des récepteurs membranaires. La fixation des ligands permet la dimérisation du récepteur et entraîne une cascade de phosphorylations intracellulaires qui permettent l'expression de protéine(s) modifiant le comportement de la cellule. C'est la voie de **transduction** (voie de signalisation intracellulaire qui va activer et exprimer des protéines).



Cette cascade de signalisation active, entre autres, une kinase, **MAPK** (*mitogen activated protein kinase*). Après son activation, elle rentre dans le noyau et phosphoryle des protéines appelées des **facteurs de transcription** (protéines capables de régler la transcription, donc l'activation ou l'inhibition de gène). Après phosphorylation, ces facteurs de transcription peuvent interagir avec l'ADN. Cette interaction de l'ADN se trouve en avant d'un gène appelé Myc.

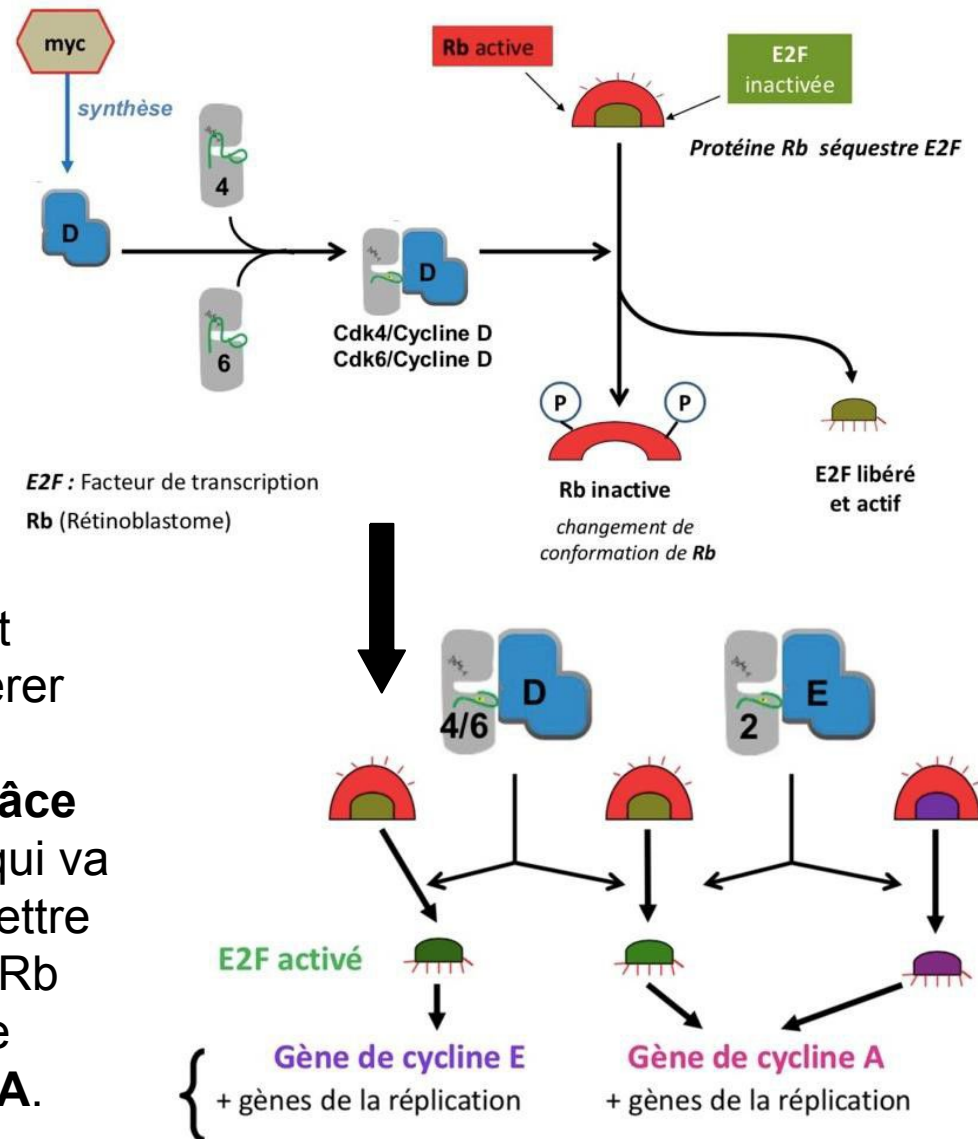
Suite de la cascade...

Le gène **Myc** est un **facteur de transcription** qui permet l'activation de l'expression de gènes (ex : Cycline D, E2F, ...) ainsi que l'inactivation de l'expression d'autres gènes (ex : p15). Myc permet donc la synthèse de la Cycline D qui s'associe avec les Cdk 4 et 6. Les complexes Cdk4/Cycline D et Cdk6/Cycline D phosphorylent la protéine **Rb** (rétinoblastome), ce qui l'inactive.

Or, la protéine Rb sous sa forme active séquestre le facteur de transcription E2F.

La phosphorylation de Rb permet donc de l'inactiver et ainsi de libérer E2F, qui devient actif.

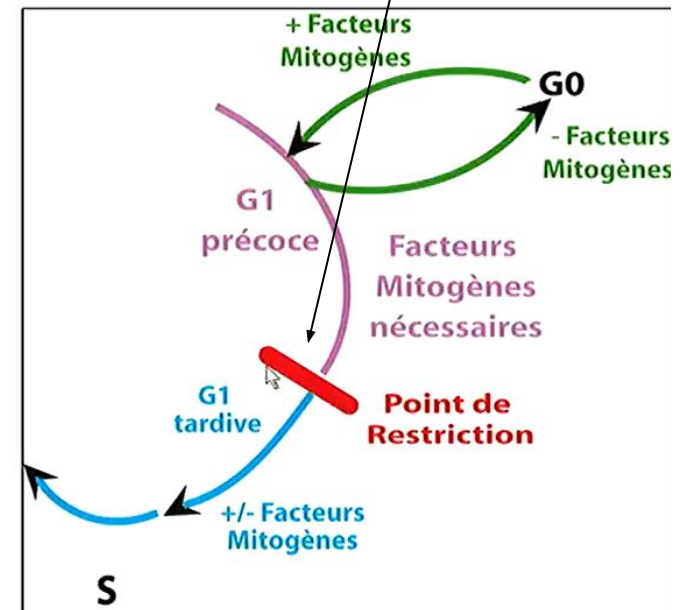
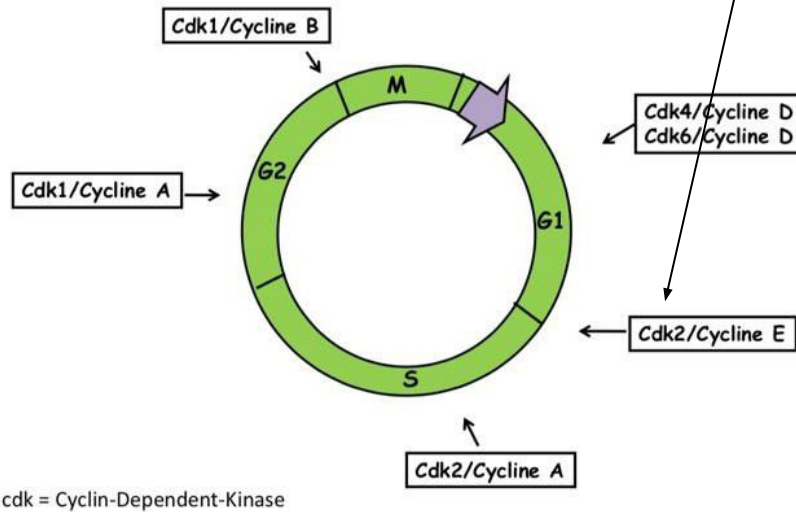
E2F permet le passage en S grâce à la **synthèse de la Cycline E**, qui va s'associer avec la Cdk 2 et permettre à son tour la phosphorylation de Rb pour libérer E2F qui lancera cette fois-ci la synthèse de la **Cycline A**.



Petit résumé...

Si la protéine Rb n'est pas phosphorylée, la cellule reste en G1 : **c'est la phosphorylation de Rb qui permet le passage du point de restriction et la préparation de la réplication (en phase S).**

C'est l'accumulation de cycline E et de Cdk 2 qui permet de passer à la cellule de passer de la phase G1 à S.



Sorties du cycle

- De G1 à G0 : Si une cellule est en contact avec d'autres cellules (*par exemple s'il y a un tapis de cellules dans une boîte de Pétri*), il y aura apparition d'un signal dit « **inhibition de contact** » qui va entraîner la synthèse des **CKI** (*cyclin-dependent kinase inhibitor protein*), ce qui inhibe la synthèse des Cdk/cycline et stoppe le cycle cellulaire. On passe ainsi de G1 à G0 (pour rappel avant le passage du point de restriction).
- De G0 à G1 : Pour retourner dans le cycle, la cellule doit se « débarasser » des CKI. S'il y a assez de **facteurs mitogènes** dans l'environnement d'une cellule en G0 pour augmenter la production de cycline E, la cellule pourra avoir davantage de Cdk 2 active. La CKI sera donc phosphorylée et détruite.

Remarque : C'est donc une balance entre les facteurs mitogènes et de différenciation qui détermine la poursuite ou non du cycle cellulaire.

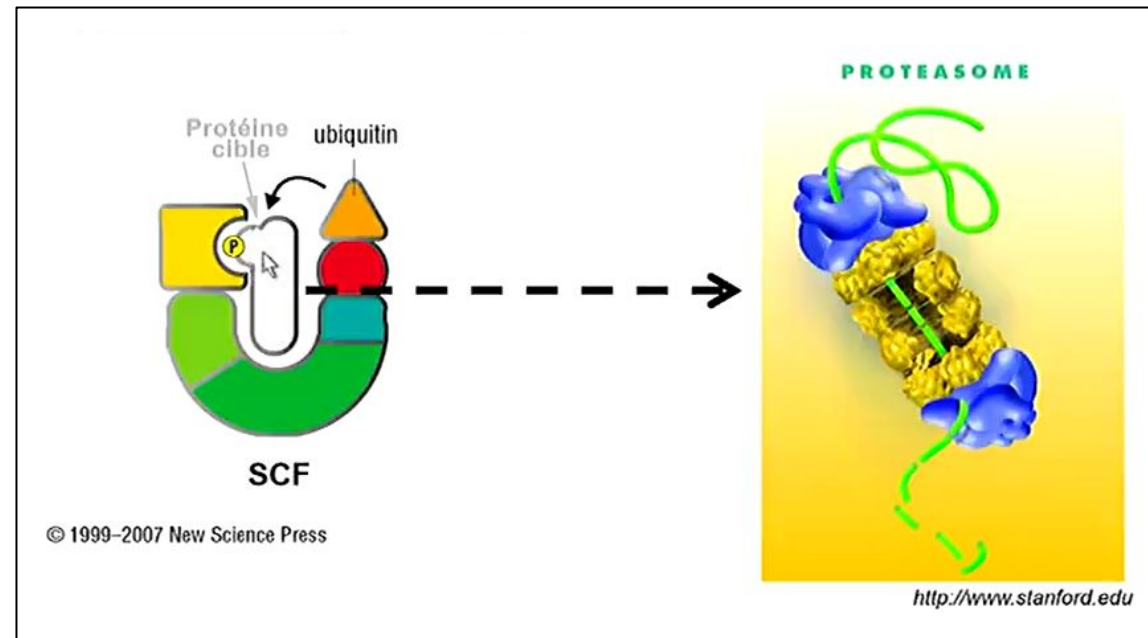


Destruction des CKI

Pour retourner dans le cycle (passage de G0 à G1), il faut donc détruire les CKI. Cela se fait de la façon suivante :

La CKI phosphorylée est reconnue par un complexe protéique nommée SCF. Ce SCF peut rajouter une ubiquitine à la CKI (ubiquitination).

La CKI avec cette ubiquitine est reconnue par le **protéasome** (= un complexe protéique qui peut entraîner la protéolyse (découpe) d'une protéine).



SCF = complexe protéique qui comprend différentes sous-unités, reconnaît des protéines les protéines phosphorylées et les lyse (découpage).

Autres événements en G1

Il existe d'autres événements ayant lieu en G1 :

- La croissance de la cellule
 - La mise en place de cohésine sur l'ADN
 - La première séparation des centrosomes
 - La vérification de l'ADN
- } Se poursuit en phase S

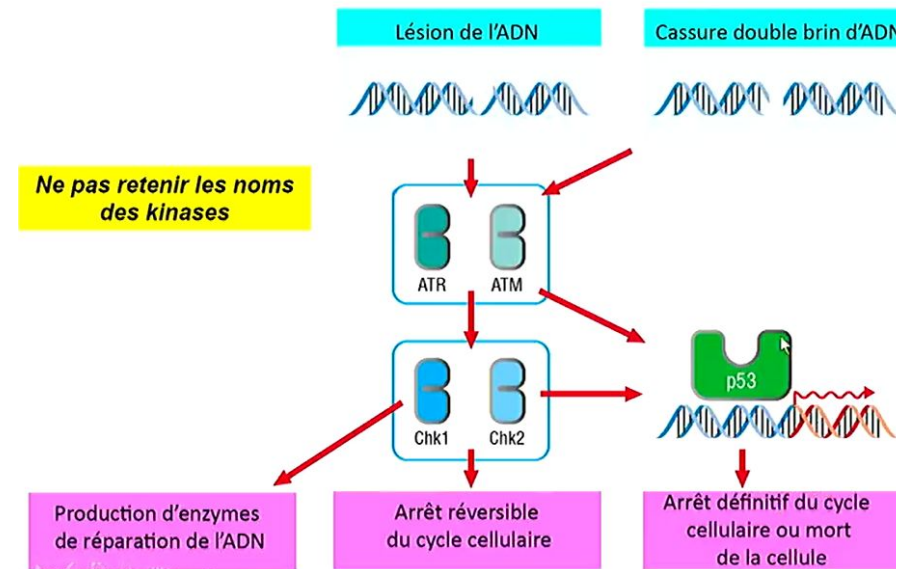


Vérification de l'ADN

Avant l'entrée en S, l'ADN est vérifié (il doit être en bon état : pas de lésion, cassure).

Si l'ADN est endommagé, plusieurs processus sont mis en place :

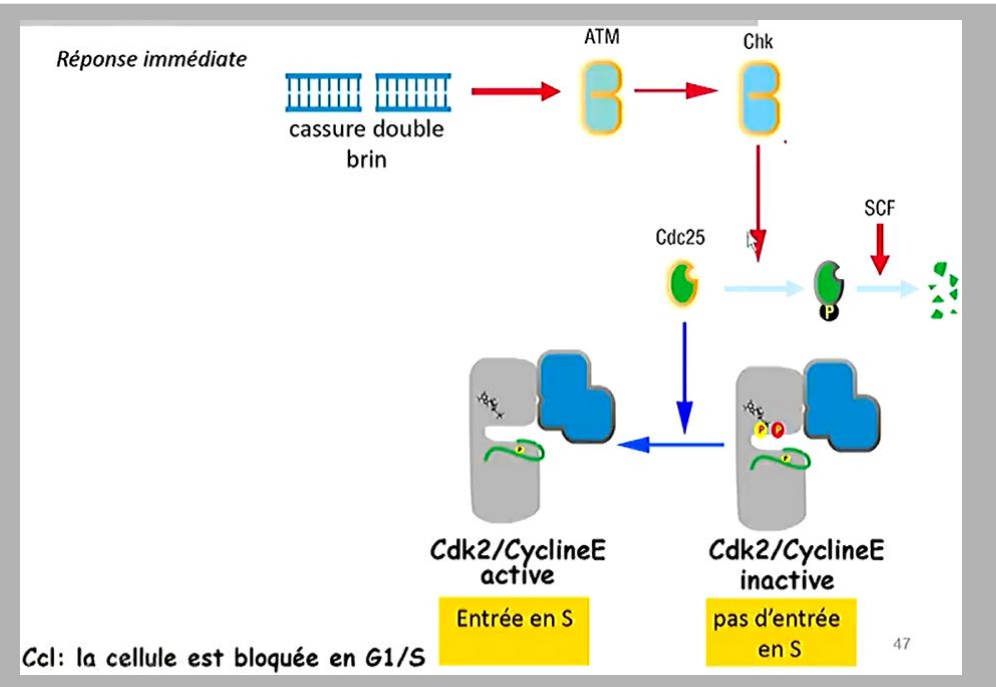
- production d'enzymes de réparation de l'ADN
- arrêt du cycle cellulaire le temps de la réparation de la lésion ou cassure
- Si ce n'est pas réparable, on a un arrêt définitif du cycle et une mort de la cellule



Blocage de l'entrée en S

Pour bloquer l'entrée de la cellule en phase S, la cellule met en place deux réponses :

Réponse immédiate : la Chk phosphoryle la Cdc 25 qui est reconnue par le SCF. On a vu précédemment que le SCF rajoute une ubiquitine qui sera reconnue par le protéasome donc la Cdc 25 est détruite. Or, on sait que la Cdc 25 permet une déphosphorylation activatrice. Le complexe Cdk 2/ cycline E est donc inactif et la cellule et l'entrée en phase S est retardée.

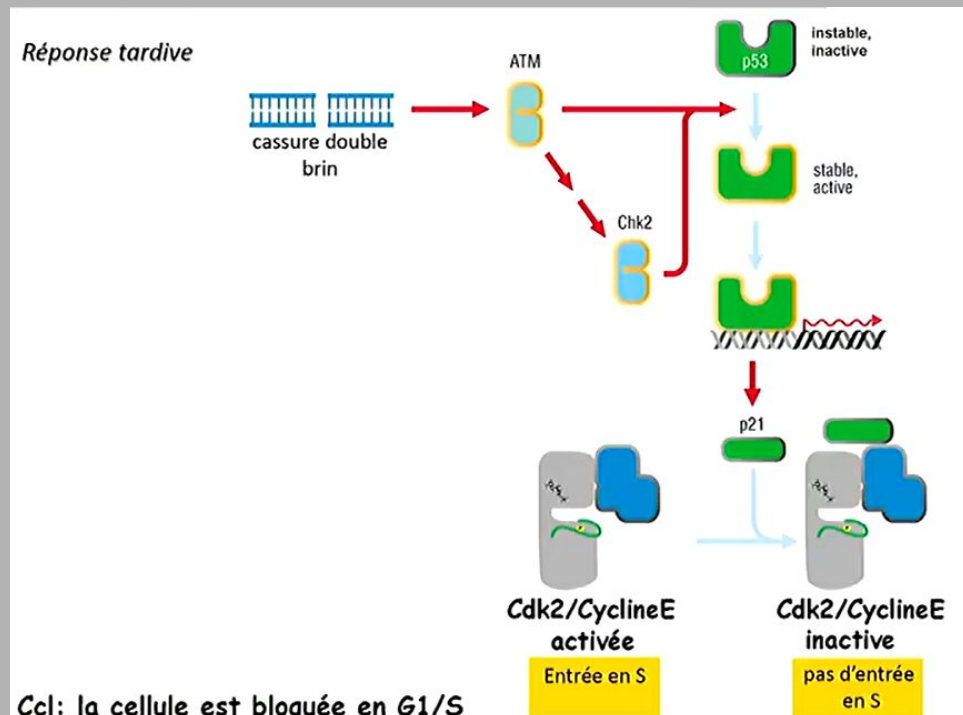


Remarque : les réponses immédiate et tardive **débutent simultanément** mais la réponse tardive est plus lente à se mettre en place car elle passe par la synthèse de kinases (CKI) d'où son nom.

Blocage de l'entrée en S

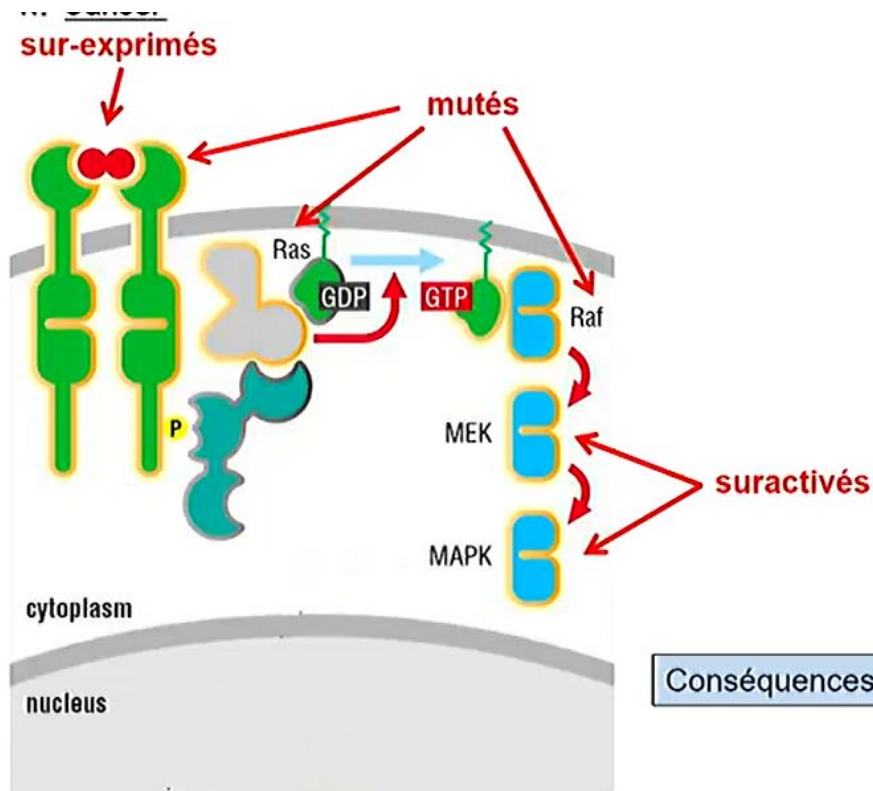
22

Réponse tardive : l'ATM phosphoryle le facteur de transcription p53 pour l'activer. Ce facteur active la synthèse de la CKI p21 qui bloque le complexe Cdk2/ cycline E et empêche l'entrée en phase S.



Remarque : les réponses immédiate et tardive **débutent simultanément** mais la réponse tardive est plus lente à se mettre en place car elle passe par la synthèse de kinases (CKI) d'où son nom.

Cas du cancer



Cancer = conséquences d'un dysfonctionnement ou d'une absence de régulation (ici de la voie de transduction).
→ dans ce cas la cellule poursuit le cycle même en présence d'anomalies

2) Phase S

Les principaux événements de la phase S sont la :

- réplication de l'ADN et transcription active-
- mise en place de la cohésine (débute en G1, poursuivi en phase S)
- duplication du centrosome (des centrioles)

Pendant cette phase, il y a phosphorylation de la cycline E puis destruction par le protéasome. La cdk2 s'associe donc avec la cycline A.

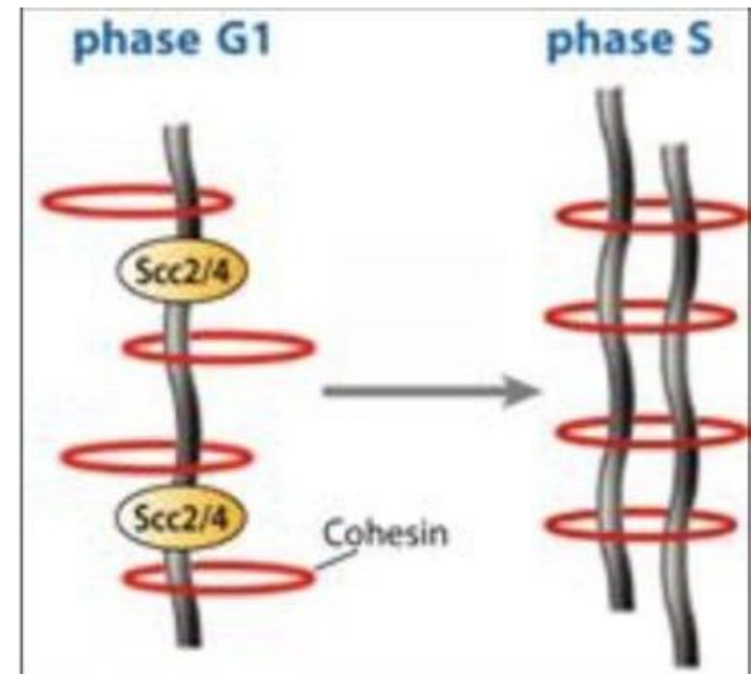
En fin de G1, il y a eu mise en place de complexes d'initiation qui donnent les origines de réplication. La phosphorylation par la Cdk2/Cycline A forme des complexes de pré-amorçage et amorçage qui crée des boucles/fourches de réplication. Enfin, il y a une élongation de l'ADN, qui aboutit à une réplication complète !



Cohésine

La **cohésine** est un complexe protéique à 4 sous-unités qui forme un anneau autour des brins d'ADN. Elle comporte une activité ATPasique, qui lui permet de s'ouvrir et se fermer. Elle **commence à être mise en place en G1** autour des chromatides soeur, puis est **maintenue en S**.

Elle permet de maintenir les deux brins ensemble lorsqu'il y aura duplication de l'ADN.



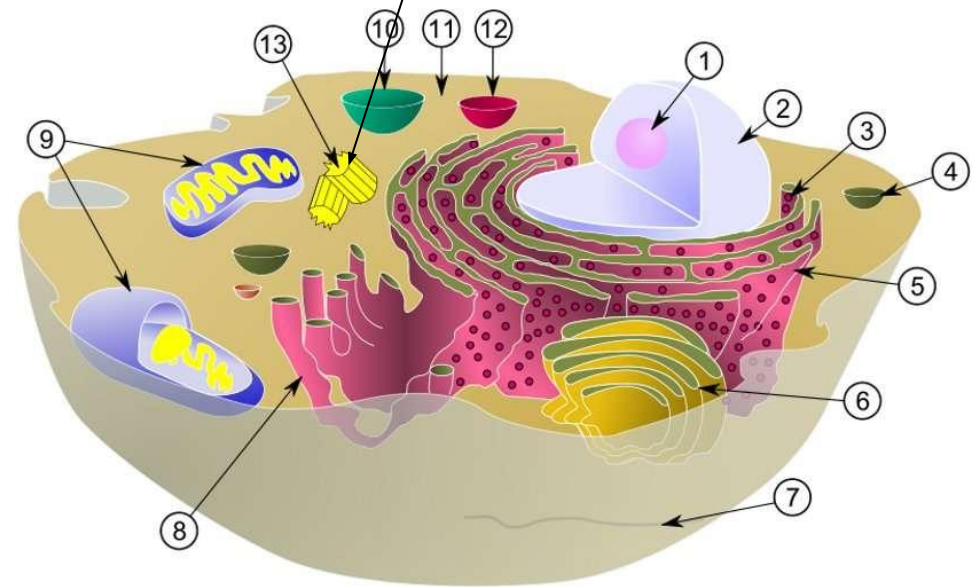
3) Cycle centriolaire

Le **centrosome** est composé de 2 centrioles et de matériel péricentriolaire. Il est localisé à proximité du noyau et de l'appareil de Golgi. C'est dans le centrosome que s'insèrent tous les microtubules par leur extrémité moins. Les MTs s'ancrent grâce au complexe **γ -TURC** composé de tubuline α et β mais aussi de tubuline γ .

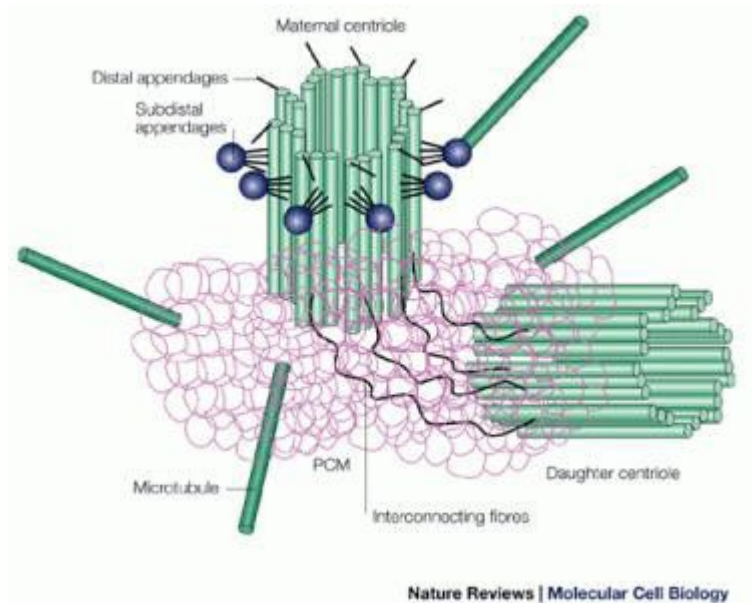
En interphase, le centrosome permet la nucléation des MTs et organise la forme et polarité de la cellule.

En mitose, après sa duplication (en phase S), il forme les deux pôles du fuseau mitotique et assure l'assemblage du fuseau.

Centrosome avec les 2 centrioles



Duplication du centrosome



La duplication du centrosome est **semi-conservative** et **synchronisée** avec celle de l'ADN mais **indépendante**.

En G1, les centrioles mère et fils sont perpendiculaires et la **NPM (nucléophosmine)** maintient la cohésion entre eux.

Remarque : Les centrioles sont composés MT non dépolymérisables par des drogues

La duplication du centrosome et la réplication de l'ADN sont semi-conservatives, synchronisés mais indépendants.

Ces événements sont contrôlés par la Cdk2/cycline A.

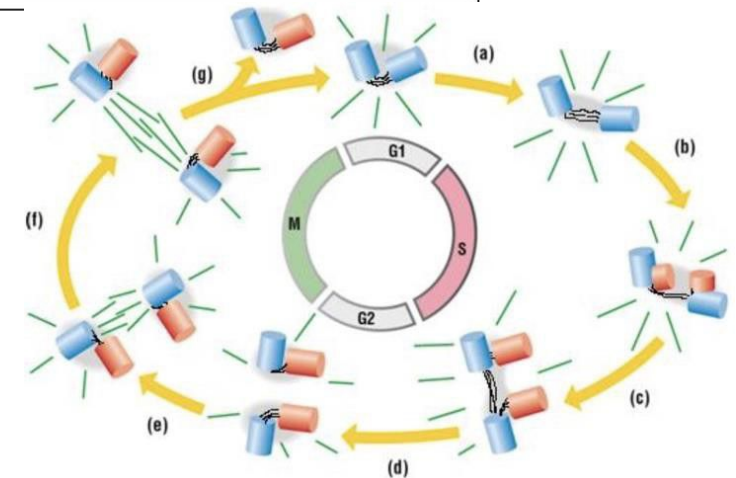
Centriole : Petite structure dense au milieu du centrosome, qui se dédouble avant la mitose.



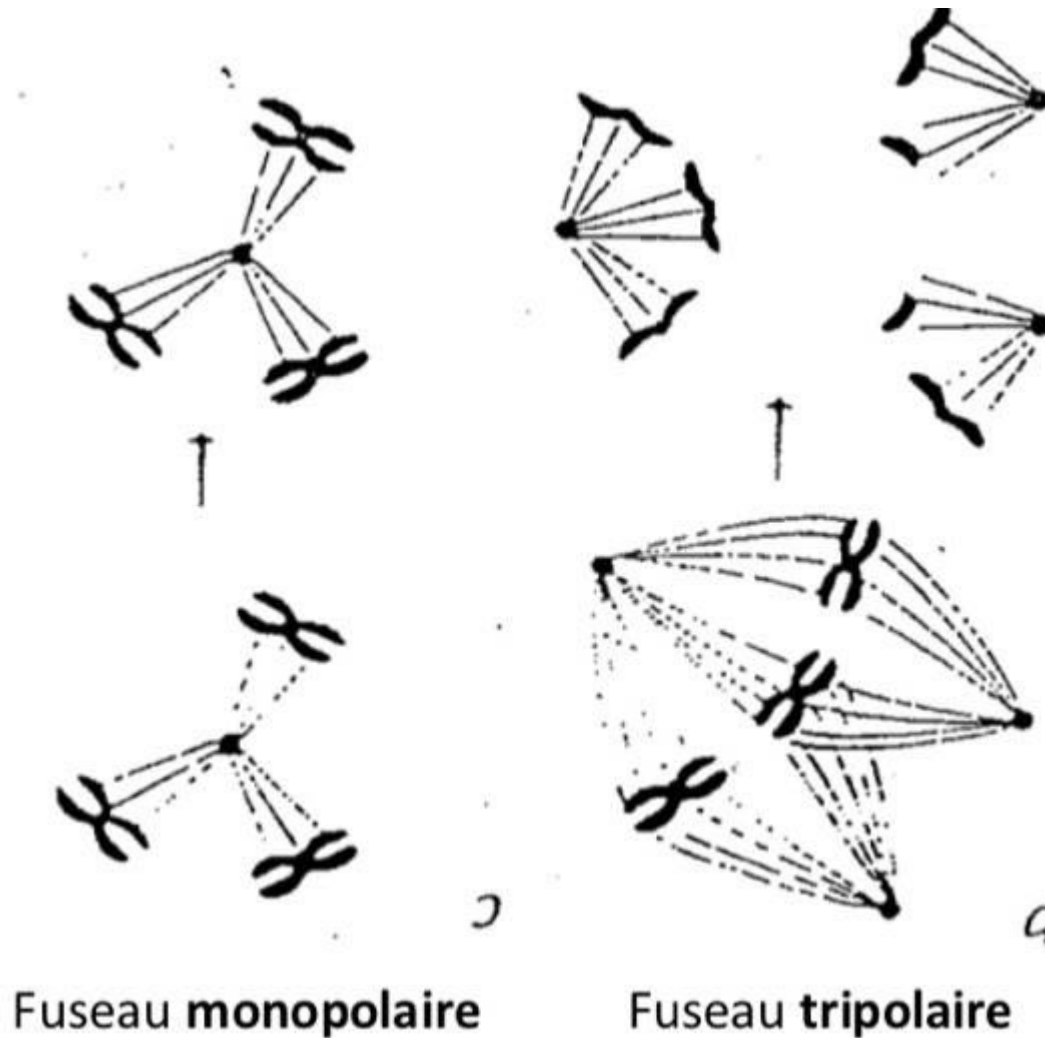
Différentes étapes

28

En G1	Les centrioles mère et fils sont perpendiculaires et la protéine NPM (<i>nucléophosmine</i>) maintient la cohésion entre eux.
En fin de G1	La 1ère séparation a lieu : les centrioles s'écartent légèrement grâce à la phosphorylation de la NMP par la Cdk2/cycline E qui entraîne sa destruction (ubiquitination par le SCF puis protéolyse).
En S	Formation de pro-centrioles perpendiculaires par rapport aux centrioles d'origines, qui s'allongent ensuite grâce à l'action de la Cdk2/cycline E et la Cdk 2/cycline A . Il y a duplication du centriole.
En fin de G2	2ème séparation : le lien fibreux reliant les deux centrosomes se rompt grâce aux kinases Plk, Aurora A et Cdk1/Cycline B . Nucléation importante (= réorganisation totale) des microtubules
En M	3ème séparation : éloignement des deux centrosomes par allongement du fuseau toujours grâce aux kinases Plk, Aurora A et Cdk1/Cycline B .
En fin de M	Les centrosomes sont distribués dans chaque cellule fille.



Anomalies du fuseau



4) Phase G2

Les principaux événements de G2 sont :

- Le début de la condensation de la chromatine
- La vérification de l'état de l'ADN
- La préparation de l'activation de la Cdk1/Cycline B (MPF)
- La séparation des centrosomes dupliqués par rupture du lien fibreux

La vérification de l'ADN se fait selon les mêmes mécanismes qu'en G1 (réponse immédiate puis retardée). Cette fois c'est le complexe Cdk1/cycline B qui est inactivé pour empêcher l'entrée en mitose (blocage en G2/M).



Activation Cdk1/cycline B

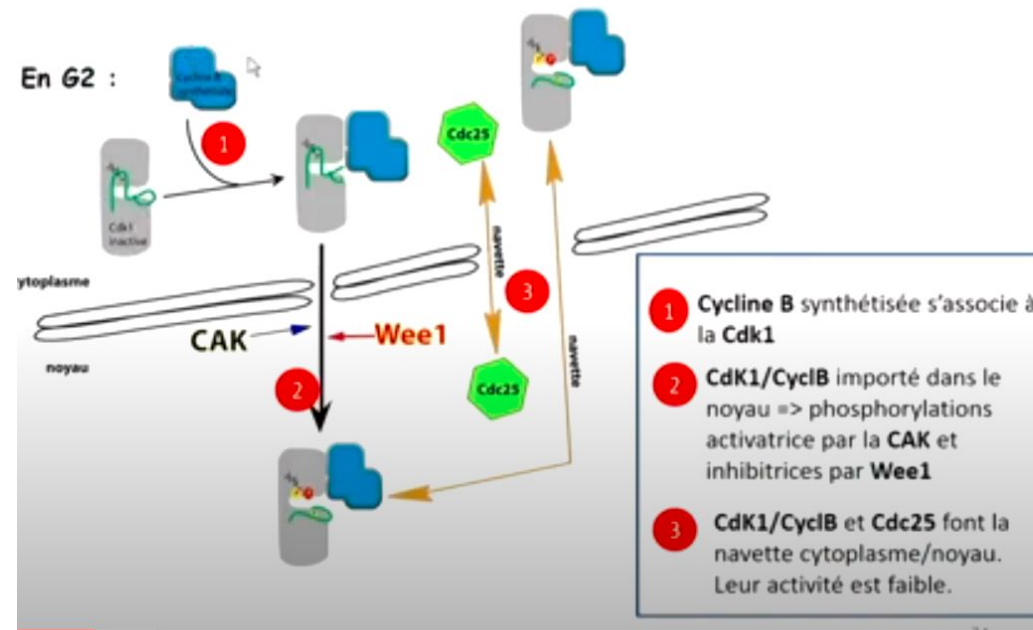
La Cycline B synthétisée en G2 s'associe avec la Cdk1

Le complexe Cdk1/Cycline B importé dans le noyau subit une phosphorylation activatrice par la **CAK** puis inhibitrice par **Wee1**. La Cdk1/cycline B est donc inactive car inhibée par Wee1.

La **Cdk1/Cycline B** et **Cdc25** font la navette noyau-cytoplasme sans se rencontrer → activité faible car pas d'activation de la cdk1/cycline B.

Le complexe Cdk1/cycline B est le moteur qui va réguler toute la mitose.

Attention : ici on est en **G2** donc on parle de la préparation de l'activation de la Cdk1/cycline B (actif pendant la mitose)

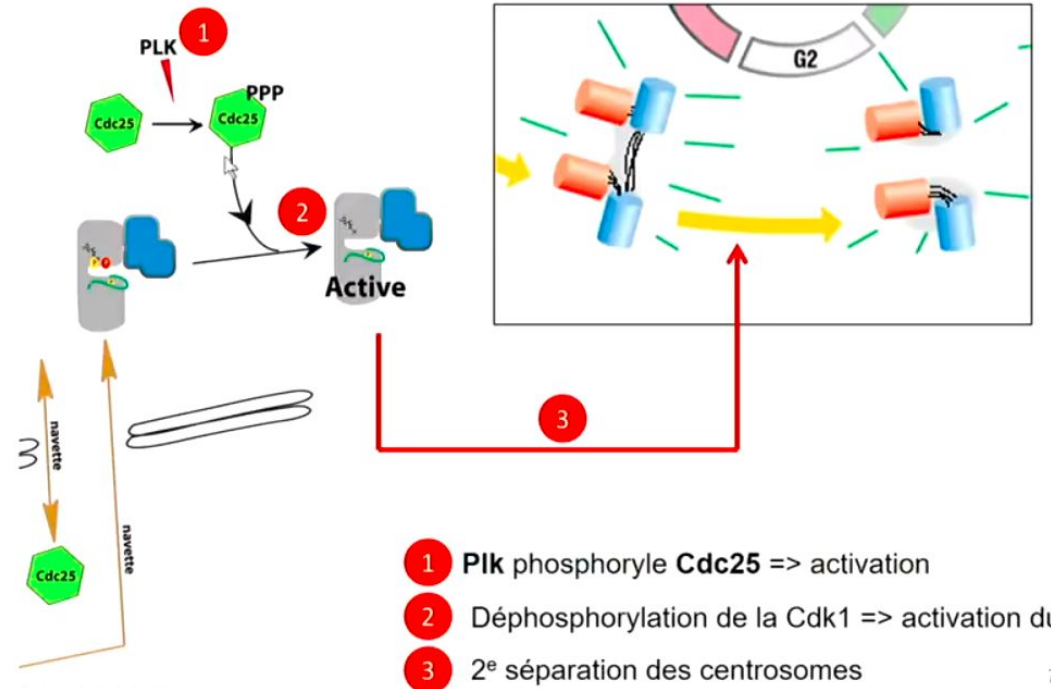


Séparation des centrosomes

Plk phosphoryle Cdc25 ce qui l'active.

La Cdk1 est déphosphorylée ce qui active le MPF.

Le lien fibreux se rompt et on aboutit à la 2ème séparation du centrosome.



Remarque : l'action de phosphorylation dépend de l'acteur (Cdc 25 est activée par phosphorylation par le Plk ≠ détruite par le protéasome après phosphorylation par la Chk).



IV/ Techniques d'études

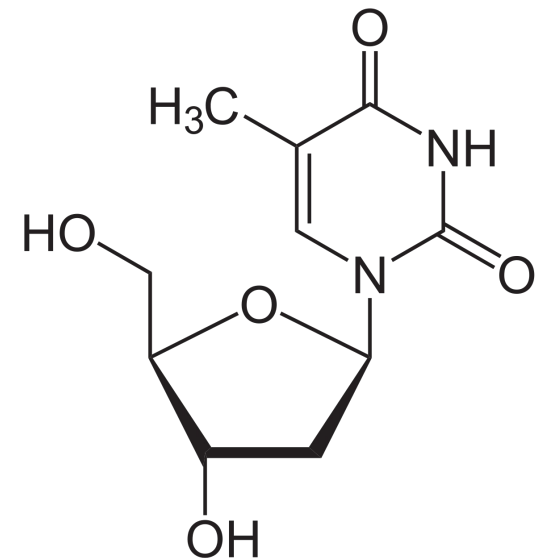
1) Marquage de l'ADN pendant la réplication

a) Marquage à la thymidine tritiée (radioactive) ou Thymidine-³H

La thymidine est une des bases de l'ADN (cf biochimie). En la marquant radioactivement, elle va être incorporée au cours de la réplication et on pourra ensuite le visualiser.

La technique de visualisation se nomme l'autoradiographie : on voit des cellules qui ont incorporé la thymidine marquée donc qui se sont répliquées pendant la phase S.

Pour vous donner une idée d'à quoi ressemble la thymidine, vous reverrez ça en biochimie :)



Autoradiographie et pulse chase

	Autoradiographie	Pulse Chase
Différences	Dans l'autoradiographie, la cellule est tuée après avoir subi les rayonnements. On a donc une image fixe de la cellule, elle est morte, comme les cellules fixées lors de la microscopie. On ne peut donc pas étudier le mouvement des organites ou des protéines dans la cellule, mais juste leur position et leur répartition à un instant donné.	Pour le pulse-chase, on envoie pendant un très court instant un isotope radioactif ou un rayonnement, ainsi, les protéines produites durant ce laps de temps seront radioactives et seront visible en microscopie : c'est le "pulse" une pulsation de radioactivité pendant un court instant. La cellule reste vivante, on peut donc faire de la vidéomicroscopie, et étudier le déplacement du groupe de protéines radioactives dans le temps (les autres protéines créées ne se verront pas dans les images car non radioactives). Un petit amas radioactif est observable sur les images : c'est le "chase", on "chasse" ou suit, le groupe de cellules marqués dans la cellule.
A quoi ça sert ?	Permet d'avoir une image normale comme si on utilisait la fluorescence ou l'immunohistochimie. C'est une technique pour marquer un élément d'intérêt dans la cellule (l'ADN par exemple).	Permet d'avoir des informations sur le chemin que prend une protéine d'intérêt dans la cellule, de sa création dans le noyau jusqu'à son utilisation ou sa sécrétion.



b) Marquage au BrDU

Le BrDU est un analogue de la thymidine mais qui n'existe pas physiologiquement dans les cellules : il est ajouté exprès pour notre expérience.

Il permet de visualiser par immunohistochimie ou immunofluorescence les cellules qui ont incorporé le BrDU.

Ce principe fonctionne par le biais d'anticorps Ac : on utilise un anticorps anti-BrDU qui va donc reconnaître le BrDU comme un antigène.

Cette technique consiste à diriger des anticorps liés à un fluorochrome contre une molécule donnée qui n'est pas naturellement fluorescente, afin de la repérer aisément.

Attention ! Le BrDU n'est pas un intercalant de l'ADN ! (cf après)



Thymidine



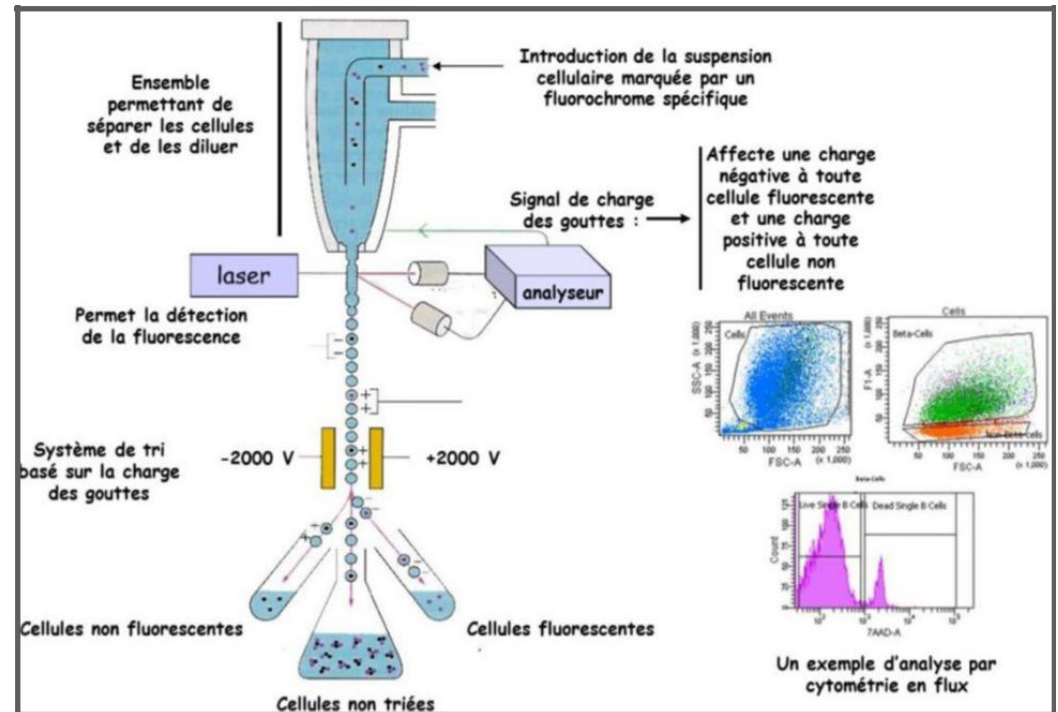
5'-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)



2) Cytométrie en flux

Cette technique repose sur l'utilisation d'un ou plusieurs laser(s) pour détecter les molécules fluorescentes (*protéines directement fluorescentes ou anticorps couplés à un fluorochrome*) se situant à la surface ou à l'intérieur d'une cellule, avec l'aide d'un analyseur qui affecte une charge différente aux cellules fluorescentes et aux cellules non fluorescentes pour les trier grâce à un champ électrique. Les cellules sont alors séparées selon leur fluorescence.

Cela permet de compter, mesurer et trier les cellules.



Remarque : Pour observer l'intérieur d'une cellule, elle doit être au préalable perméabilisée, c'est-à-dire qu'on troue la cellule donc cette dernière meurt. Si on observe une protéine en extracellulaire alors il n'y a pas besoin de la perméabiliser, la cellule sera donc probablement vivante. Avec la cytométrie en flux, les cellules peuvent donc être mortes ou vivantes.

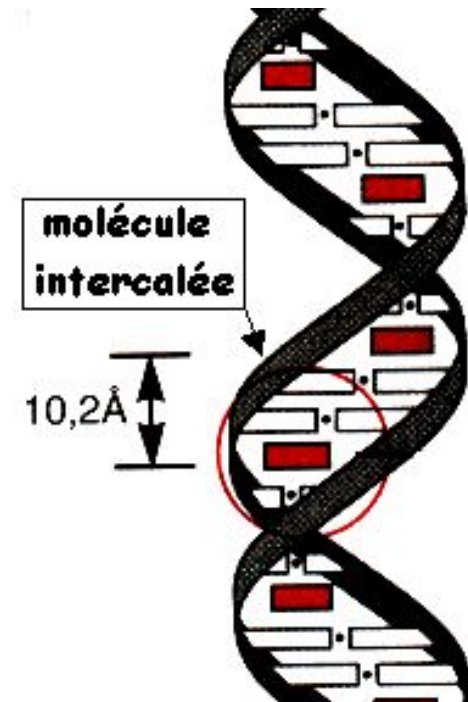
Intercalant de l'ADN

Pour marquer les cellules par fluorescence, on peut aussi utiliser un intercalant de l'ADN.

L'intercalant de l'ADN interagit avec l'ADN et permet de le marquer. Il est caractérisé par sa capacité de fluorescence.

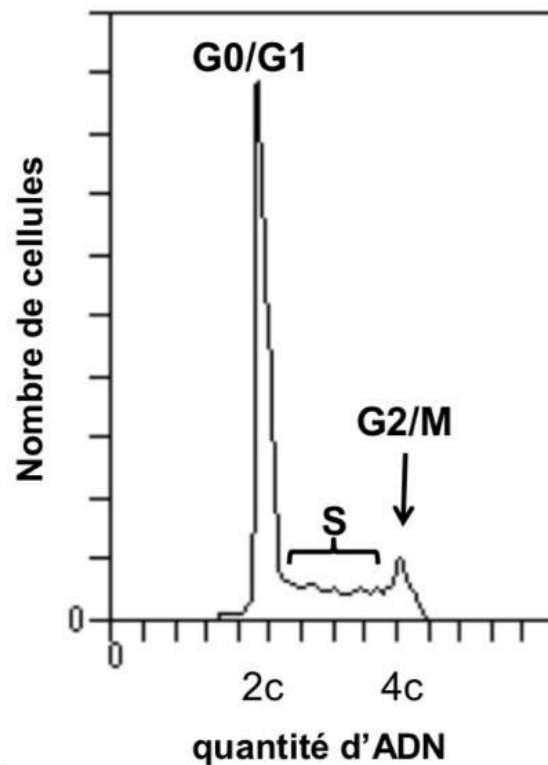
Ex : Hoechst, bromure d'éthidium (cf biochimie)

La cytométrie en flux permet donc de mesurer la quantité d'ADN dans une cellule à n'importe quelle phase du cycle.



3) Mesure quantité d'ADN

Lorsqu'on étudie les cellules du cycle cellulaire avec un graphique du nombre de cellules en fonction de la quantité d'ADN, on remarque que la population est **asynchrone** (les cellules sont présentes dans toutes les phases du cycle).



On retrouve ce qui est dit dans le cours, la majorité des cellules sont en G0/G1 car ce sont les étapes les plus longues. Il y a le moins de cellules en mitose, qui est l'étape la plus courte.

Avec ce graphique, on ne peut pas différencier les phases G0/G1 et G2/M. *Pourquoi ?*

Parce qu'on marque une quantité d'ADN et elle ne varie que lors de la phase S donc identique en G0/G1 avec 2c quantité d'ADN et en G2. M avec 4c quantité d'ADN.

Pour la phase S, on voit qu'on a une augmentation progressive de la quantité d'ADN au fur et à mesure que la réplication se fait, d'où l'absence de pic mais une ligne horizontale (car les cellules se répliquent à la même vitesse).

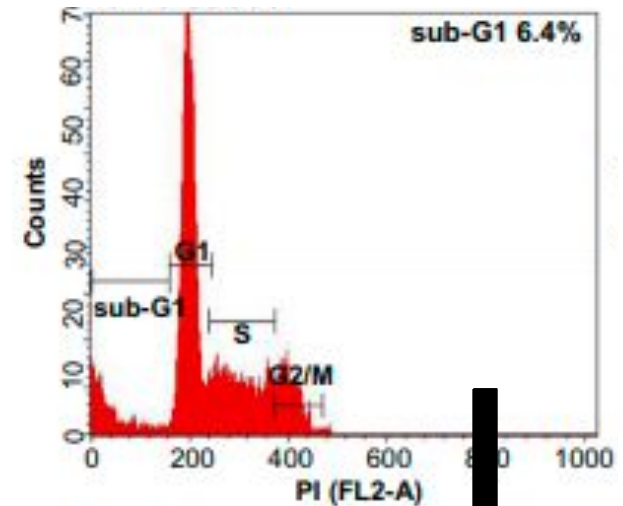
Pour différencier les phases G0/G1 ou G2/M, il faut utiliser des Ac dirigés contre des protéines spécifiques présentes uniquement dans une phase.

Population synchrone

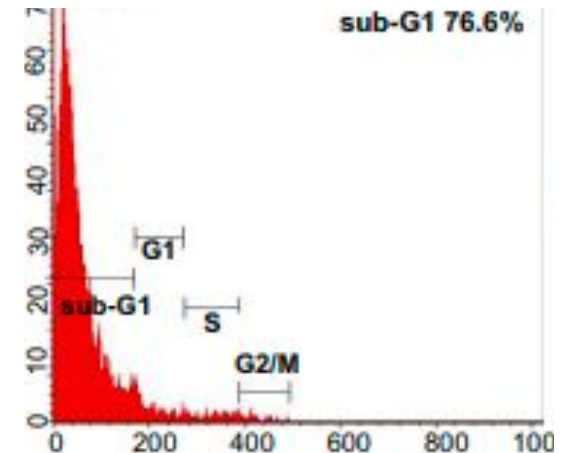
Asynchrone

Si on a une population synchrone, cad des cellules qui fonctionnent exactement de la même phase au même moment (dans la même phase): elle a été obtenue artificiellement grâce à des outils pour synchroniser les cellules ou il y a une anomalie dans toutes les cellules.

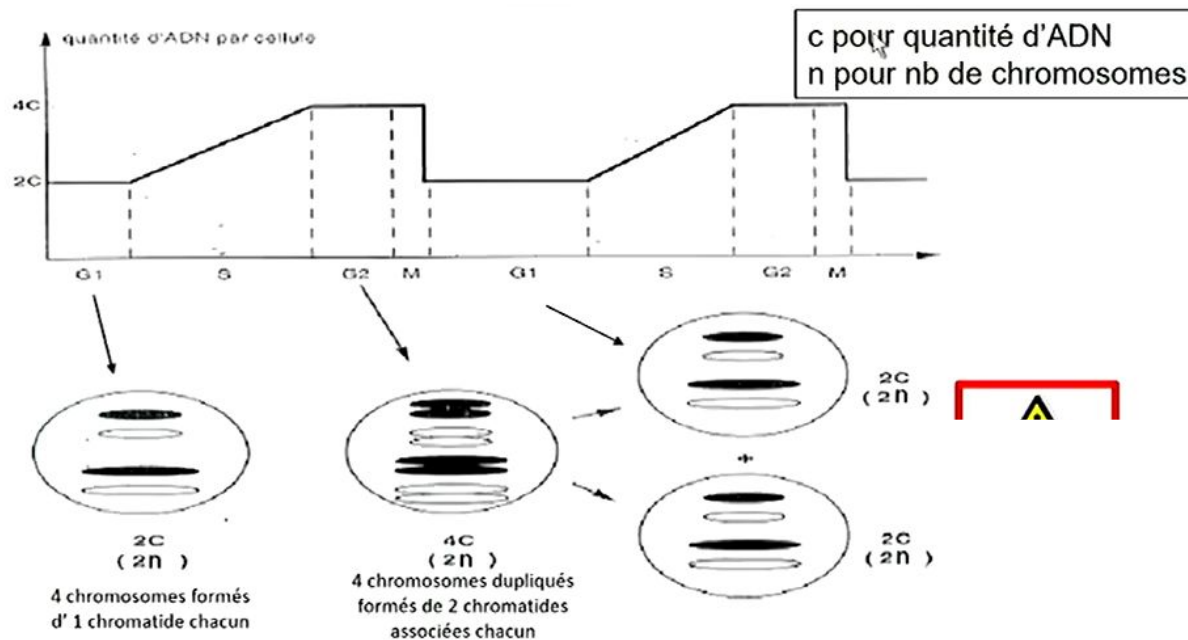
Par exemple, si les cellules sont bloquées en G0, on aura un pic encore plus important tout à gauche à 2c quantité d'ADN et un pic à 4c plus grand si les cellules sont bloquées en mitose.



Presque synchrone



Quantité d'ADN en fonction du temps



G1	1 cellule à 2 paires de chromosomes (K) = $2n = 4K$ formés d' <u>1 chromatide</u> = 2 bras chacun ; <u>2c quantité d'ADN</u>
S	Augmentation progressive de la quantité d'ADN pour arriver à <u>4c quantité d'ADN</u> en fin de S
G2	1 cellule à 4K dupliqués formés de <u>2 chromatides</u> chacun
Après M	2 cellules filles identiques contenant chacune 4K à <u>1 chromatide</u> Retour à <u>2c quantité d'ADN</u> en fin de mitose



Noyau : correction des QCM



QCM 1

◆ **Question 1** : Parmi les propositions suivantes concernant **la chromatine et l'étalement moléculaire**, laquelle(lesquelles) est(sont) exacte(s) ?

- A. Le nucléotide est le constituant de base de la chromatine.
- B. Le détergent utilisé lors de l'étalement moléculaire rompt l'enveloppe nucléaire.
- C. Lorsque l'on utilise la technique de l'étalement moléculaire, on applique une forte force ionique afin de séparer l'ADN des histones.
- D. Un chromosome en G2 est formé à partir de deux fibres de chromatine.
- E. La fibre nucléosomique correspond à l'euchromatine et la fibre de 30nm à l'hétérochromatine.

QCM 1

❖ **Question 1** : Parmi les propositions suivantes concernant **la chromatine et l'étalement moléculaire**, laquelle(lesquelles) est(sont) exacte(s) ?

- A. Le nucléotide est le constituant de base de la chromatine.

Faux, c'est le nucléosome.

- B. Le détergent utilisé lors de l'étalement moléculaire rompt l'enveloppe nucléaire.

Vrai, sinon la chromatine resterait au sein du noyau et ne pourrait pas être étalée.

- C. Lorsque l'on utilise la technique de l'étalement moléculaire, on applique une forte force ionique afin de séparer l'ADN des histones.

Faux, au contraire on maintient les liaisons ADN-histones

- D. Un chromosome en G2 est formé à partir de deux fibres de chromatine.

Vrai, chacune formant une chromatide.

- E. La fibre nucléosomique correspond à l'euchromatine et la fibre de 30nm à l'hétérochromatine.

Faux, AUCUNE correspondance entre les fibres de 11/30 nm et euchromatine/hétérochromatine.

Réponse : BD

QCM 2

❖ **Question 2** : Parmi les propositions suivantes concernant **le nucléole**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ? Hors programme.

- A. La transcription se déroule à la frontière entre composant fibrillaire dense et composant granulaire.
- B. La grande sous unité ribosomique contient uniquement l'ARNr 5,8S, 28S, 5S.
- C. La synthèse de la grande sous unité ribosomique fait intervenir les trois ARN polymérases.
- D. Les sous-unités 60S et 40S s'associent après l'arrivée des protéines ribosomiques dans le nucléole.
- E. Les unités géniques de l'ARN 47S représentent l'hétérochromatine nucléolaire.

QCM 2

❖ **Question 2** : Parmi les propositions suivantes concernant **le nucléole**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ? Hors programme.

- A. La transcription se déroule à la frontière entre composant fibrillaire dense et composant granulaire.

Faux, entre centre fibrillaire et composant fibrillaire dense.

- B. La grande sous unité ribosomique contient uniquement l'ARNr 5,8S, 28S, 5S.

Faux, elle contient aussi de très nombreuses protéines associées.

- C. La synthèse de la grande sous unité ribosomique fait intervenir les trois ARN polymérases.

Vrai, pour les différents ARNr et les protéines associées.

- D. Les sous-unités 60S et 40S s'associent après l'arrivée des protéines ribosomiques dans le nucléole.

Faux, les sous-unités s'associent dans le cytoplasme.

- E. Les unités géniques de l'ARN 47S représentent l'hétérochromatine nucléolaire.

Faux, l'euchromatine, car ce sont des régions de l'ADN qui sont transcrites.

Réponse : C

QCM 3

❖ **Question 3** : Parmi les propositions suivantes concernant **le nucléole**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Au début de l'interphase, le noyau possède autant de nucléoles que des organisateurs nucléolaires.
- B. Les gènes des ARNr 47S correspondent aux constriction secondaires visibles sur 5 paires de chromosomes différentes chez l'homme.
- C. Le nucléole correspond à une accumulation transitoire d'ADN, d'histones, d'ARN polymérase et d'ARN entre autres.
- D. Le nombre d'organiseurs nucléolaires double lors de la mitose.
- E. On trouve des protéines dans le nucléole.

QCM 3

❖ **Question 3** : Parmi les propositions suivantes concernant **le nucléole**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Au début de l'interphase, le noyau possède autant de nucléoles que des organisateurs nucléolaires.

Vrai, il y en a 10 au total.

- B. Les gènes des ARNr 47S correspondent aux constriction secondaires visibles sur 5 paires de chromosomes différentes chez l'homme.

Vrai, il s'agit des chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22.

- C. Le nucléole correspond à une accumulation transitoire d'ADN, d'histones, d'ARN polymérase et d'ARN entre autres.

Vrai, car c'est un site de stockage et de transcription.

- D. Le nombre d'organiseurs nucléolaires double lors de la mitose.

Faux, lors de la réplication.

- E. On trouve des protéines dans le nucléole.

Vrai, les ARN polymérase par exemple.

Réponse : ABCE

QCM 4

❖ **Question 4** : Parmi les propositions suivantes concernant **le noyau**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La cellule procaryote ne contient ni noyau, ni ADN.
- B. L'enveloppe nucléaire est une double membrane.
- C. Dans un cycle cellulaire l'ordre des phases est invariable.
- D. Les cellules en G1 possèdent des chromosomes bien visibles.
- E. Le noyau contient tout l'ADN de la cellule.

QCM 4

❖ **Question 4** : Parmi les propositions suivantes concernant **le noyau**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. La cellule procaryote ne contient ni noyau, ni ADN.

Faux, elle contient de l'ADN (équivalent à celui mitochondrial).

- B. L'enveloppe nucléaire est une double membrane.

Vrai, « une double bicouche lipidique » (1 membrane = 1 bicouche lipidique).

- C. Dans un cycle cellulaire l'ordre des phases est invariable.

Vrai

- D. Les cellules en G1 possèdent des chromosomes bien visibles.

Faux, les cellules en G1 possèdent un noyau interphasique, les chromosomes ne sont alors pas visibles. Les chromosomes sont visibles uniquement lors de la mitose.

- E. Le noyau contient tout l'ADN de la cellule.

Faux, la quasi-totalité, il y en a aussi dans les mitochondries!

Réponses : BC

QCM 5

❖ **Question 5** : Parmi les propositions suivantes concernant **le noyau**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Tous les acides nucléiques sont synthétisés dans le noyau.
- B. Les protéines participant à la chromatine sont synthétisées dans le noyau.
- C. L'enveloppe nucléaire comporte un espace intermembranaire.
- D. Parmi les transports nucléo-cytoplasmiques on trouve l'importation d'ions.
- E. Le canal central étant plus large, les grosses molécules y passent de manière passive.

QCM 5

❖ **Question 5** : Parmi les propositions suivantes concernant **le noyau**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. Tous les acides nucléiques sont synthétisés dans le noyau.

Faux, il y a aussi certains acides nucléiques mitochondriaux synthétisés dans la mitochondrie.

- B. Les protéines participant à la chromatine sont synthétisées dans le noyau.

Faux, TOUTES les protéines sont synthétisées dans le cytoplasme.

- C. L'enveloppe nucléaire comporte un espace intermembranaire.

Vrai, en communication avec le REG.

- D. Parmi les transports nucléo-cytoplasmiques on trouve l'importation d'ions.

Vrai, par les canaux latéraux car ce sont de petites molécules.

- E. Le canal central étant plus large, les grosses molécules y passent de manière passive.

Faux, ce passage nécessite de l'énergie.

Réponses : CD

QCM 6

❖ **Question 6** : Parmi les propositions suivantes concernant **la chromatine**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. L'hétérochromatine est 10 fois plus condensée que l'euchromatine.
- B. L'hétérochromatine forme des boucles entre les zones d'euchromatine.
- C. La chromatine est formée de protéines non histone entre autres.
- D. L'euchromatine, au contraire de l'hétérochromatine, est dite « active »
- E. L'hétérochromatine se trouve surtout en périphérie du noyau.

QCM 6

❖ **Question 6** : Parmi les propositions suivantes concernant **la chromatine**, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

- A. L'hétérochromatine est 10 fois plus condensée que l'euchromatine.

Faux, on se base sur l'observation, on ne peut pas la chiffrer.

- B. L'hétérochromatine forme des boucles entre les zones d'euchromatine.

Faux, c'est l'inverse (l'hétérochromatine est trop condensée pour former des boucles).

- C. La chromatine est formée de protéines non histone entre autres.

Vrai, mais d'histones aussi attention.

- D. L'euchromatine, au contraire de l'hétérochromatine, est dite « active »

Vrai, elle est décondensée donc accessible aux polymérases.

- E. L'hétérochromatine se trouve surtout en périphérie du noyau.

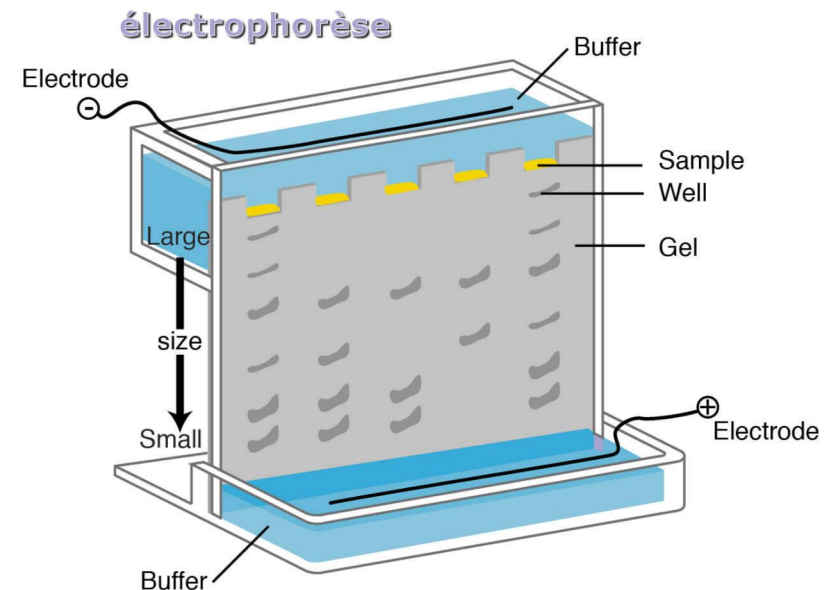
Vrai.

Réponses : CDE

Analyser un document (à faire ensemble)

Technique du western blot

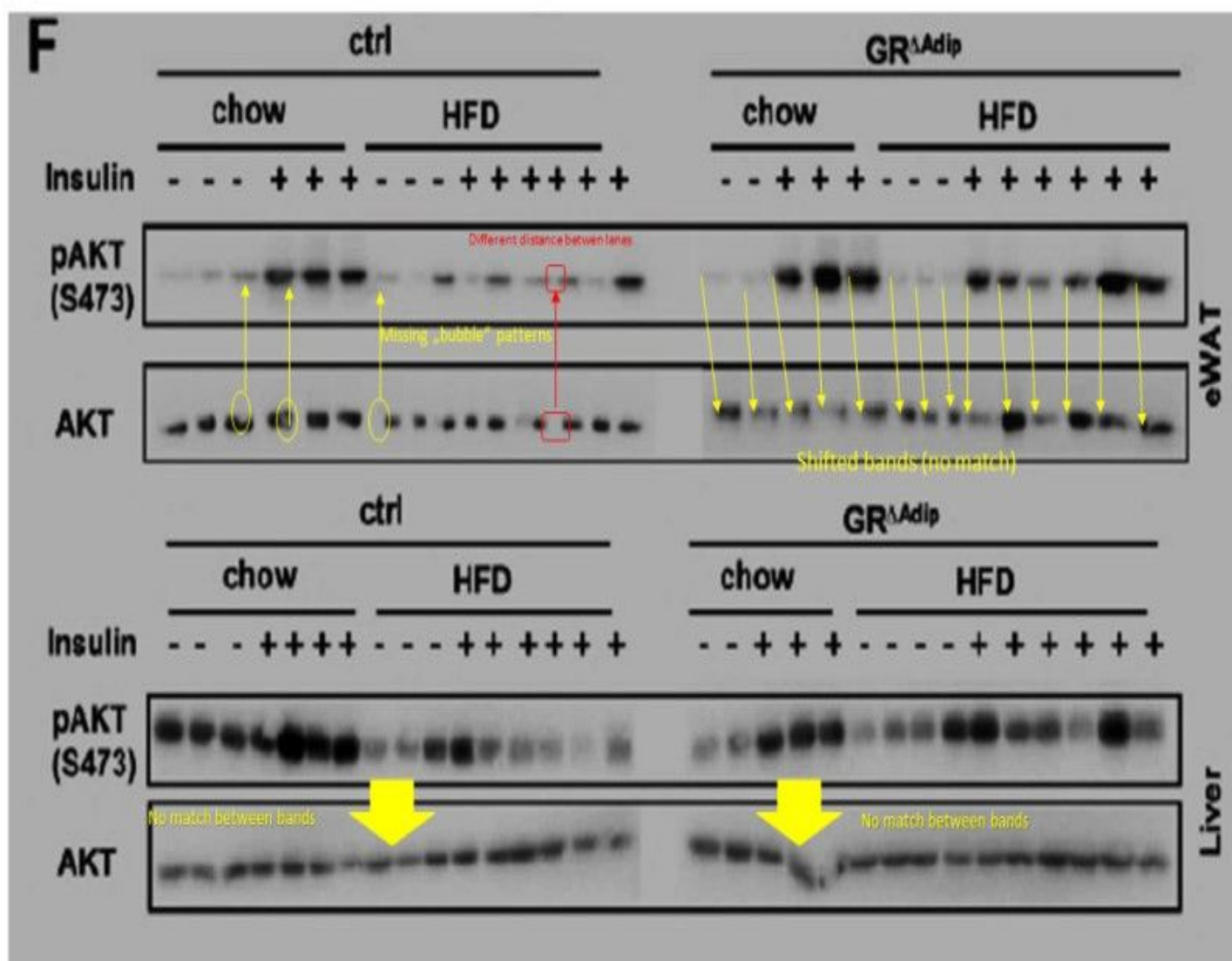
- ❖ C'est une technique de biologie moléculaire permettant la **détection et l'identification** de protéines spécifiques dans un échantillon biologique
- ❖ On isole l'échantillon biologique (par exemple du sérum), puis on sépare les protéines par électrophorèse
- ❖ Puis on utilise des **anticorps spécifiques** de la protéine recherchée et couplés à un marqueur pour détecter la protéine sur le gel



Le western blot

S Fig 4F. Lack of loading controls. Probably resized blots.

Diabetes. 2017 Feb;66(2):272-286



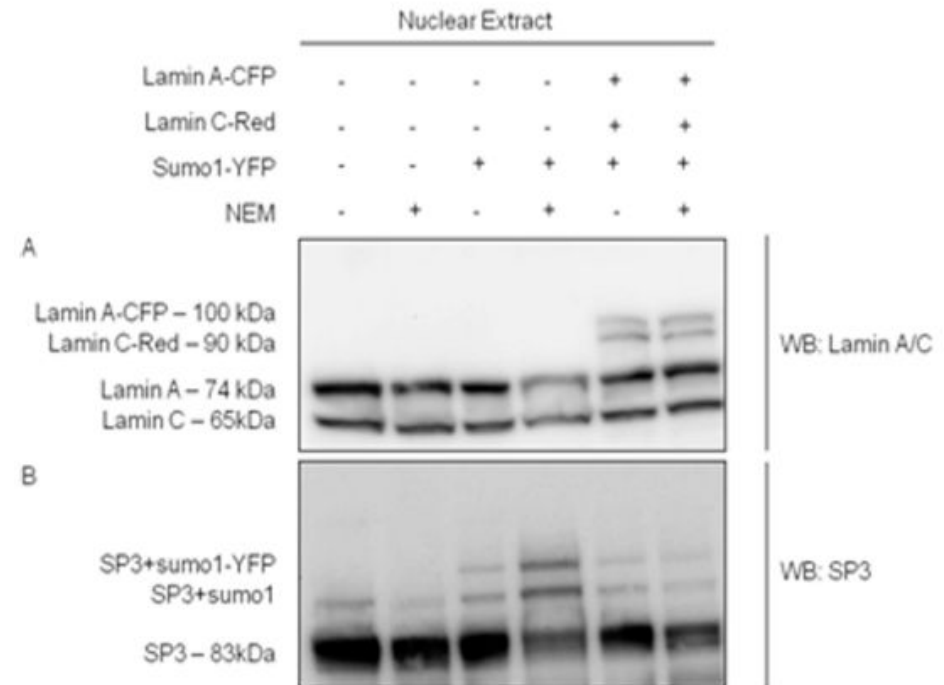
Document

Les lamines de type A et C sont des protéines de filaments intermédiaires nucléaires dans lesquelles des mutations ont été impliquées dans de multiples phénotypes de maladies communément appelés laminopathies. Quelques études ont impliqué la sumoylation dans la régulation des lamines de type A.

La sumoylation est une modification post-traductionnelle des protéines, qui régulent un large éventail de processus cellulaires grâce à la fixation de petits modificateurs liés à l'ubiquitine (sumo) à divers substrats.

Ici, nous avons montré que les mutants de laminopathie entraînent une mauvaise localisation de sumo1.

Les lamines LaminA-CFP et LaminC-Red constituent les lamines mutantes.



Quelles sont les informations importantes ?

Document

Les **lames de type A et C** sont des protéines de filaments intermédiaires nucléaires dans lesquelles des **mutations** ont été impliquées dans de multiples phénotypes de maladies communément appelés **laminopathies**. Quelques études ont impliqué la **sumoylation** dans la régulation des lames de type A. La sumoylation est une modification post-traductionnelle des protéines qui régule un large éventail de processus cellulaires grâce à la fixation de petits modificateurs liés à l'ubiquitine (**sumo**) à divers substrats. Ici, **nous avons montré que les mutants de laminopathie entraînent une mauvaise localisation de sumo1**. Les lames LaminA-CFP et LaminC-Red constituent les lames mutantes.

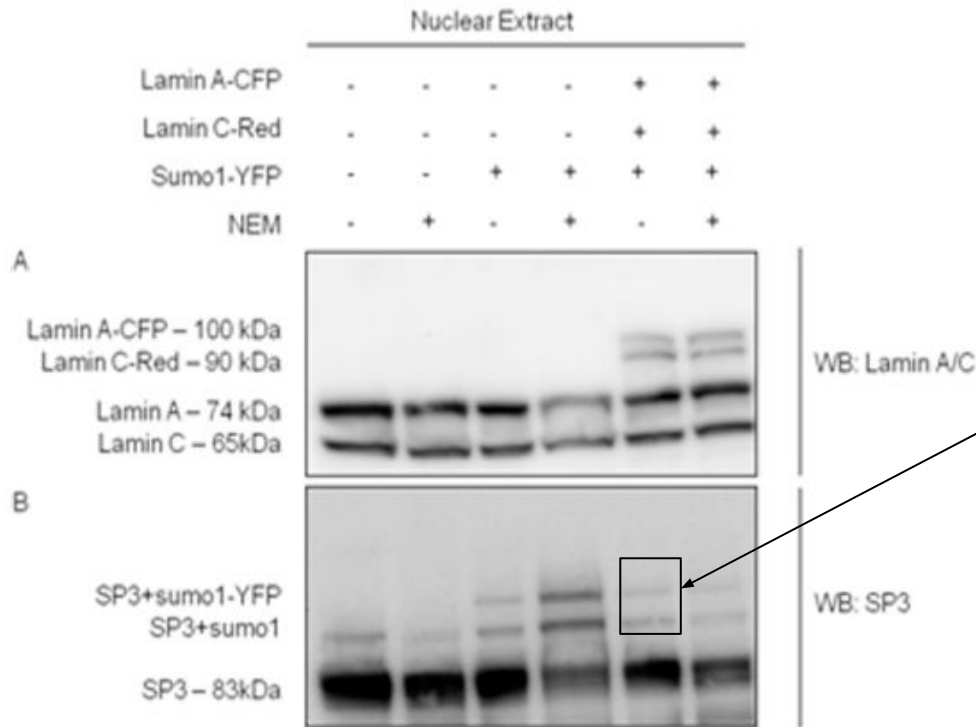
Quelles sont les informations importantes ?

La technique en elle-même et ses détails ne sont pas essentiels car vous n'avez pas à la connaître. Cependant il arrive souvent qu'il s'agisse de techniques que vous devez apprendre, dans ce cas-là cela pourra faire l'objet de questions et ça vous permet aussi de comprendre le document si ce n'est pas détaillé.

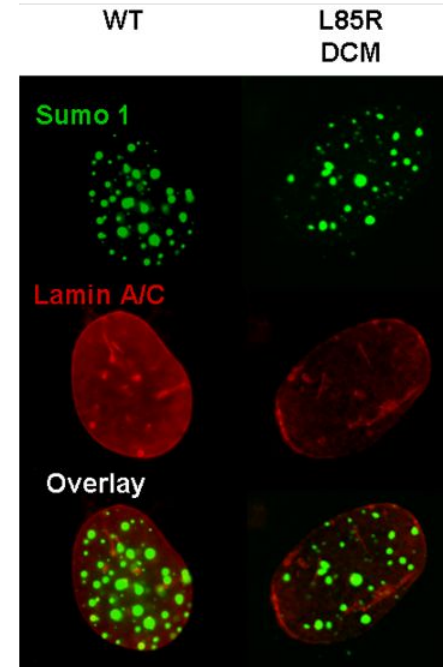
Ici on nous dit ce qui a été montré par le document mais en général ce sera à vous de trouver ce qu'on peut en déduire. On va donc ici chercher à comprendre comment le document le montre.

Cette phrase est cruciale ! Pour réaliser notre expérience il faut comparer un témoin et un mutant causant des laminopathies, ce qui nous permet d'interpréter les résultats.

Document



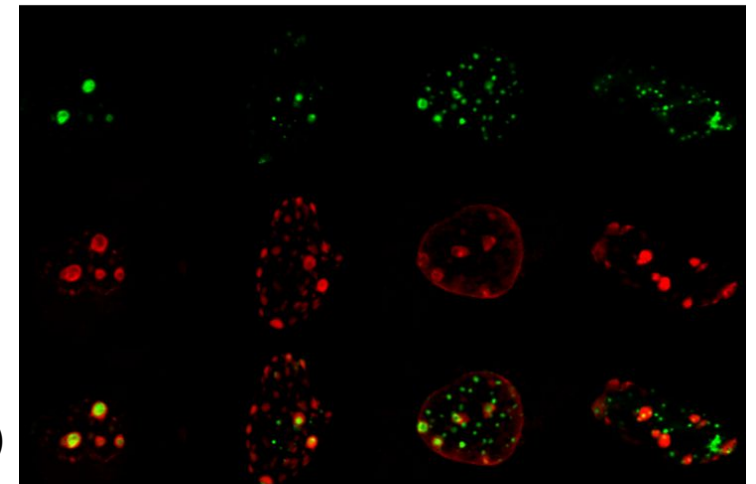
Ces deux bandes sont considérées comme significatives. YFP constitue une protéine fluorescente ajoutée pour l'expérience. Les bandes SP3+sumo1+YFP et SP3+sumo1 se superposent donc.



Sumo 1

Lamin A-CFP/ C-Red

Overlay (superposition)



En quoi les documents montrent-t-ils que les mutants de laminopathie entraînent une mauvaise localisation de sumo1 ?

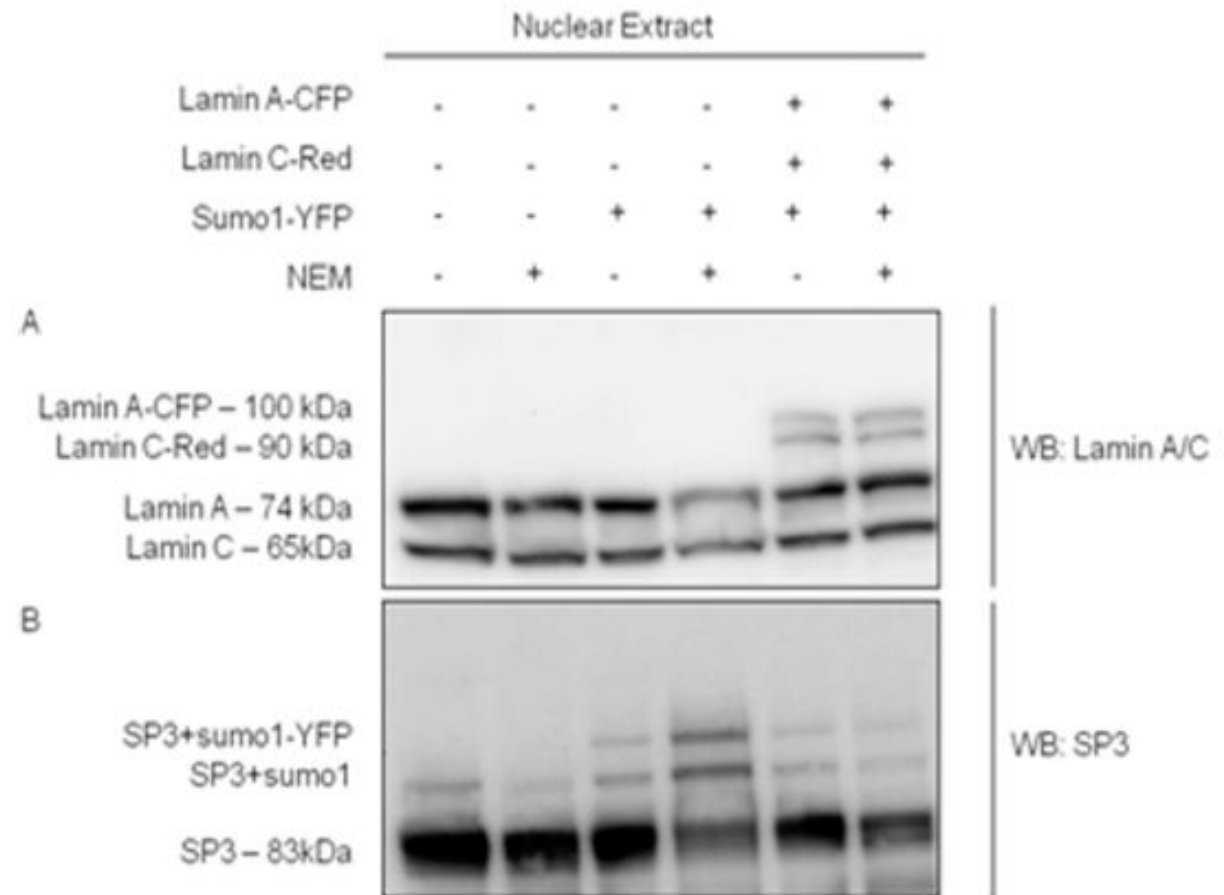
Document

En quoi les documents montrent-t-ils que les mutants de laminopathie entraînent une mauvaise localisation de sumo1 ?

Document 1 :

Lorsqu'on est en présence du témoin (cad – pour Lamin A-CFP et Lamin C-Red) ont une grosse bande noire pour SP3 à 83kDa et pour SP3+sumo1.

Lorsqu'on retrouve un marqueur positif dans l'extrait nucléaire pour Lamin A-CFP et Lamin C-Red, on voit une bande moins importante pour SP3 et plus importante pour SP3+sumo1 et SP3+sumo1+YFP.

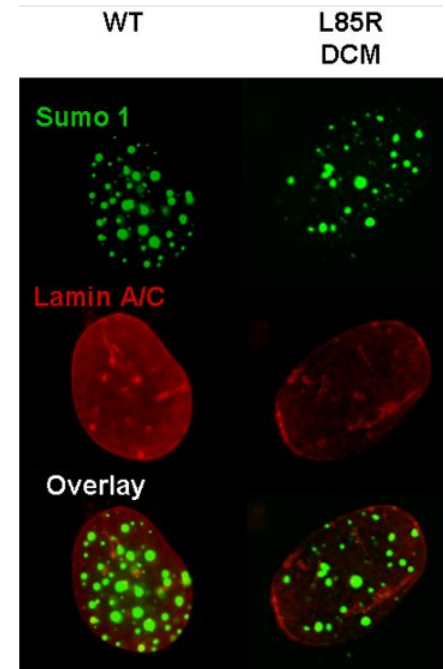


Document

En quoi les documents montrent-t-ils que les mutants de laminopathie entraînent une mauvaise localisation de sumo1 ?

Document 2 :

Sur la superposition de Sumo1 et de LaminA/C on voit que les lamines sont répandues partout autour mais que Sumo1 ne colocalise pas vraiment. On n'a donc pas de réelle interaction entre Sumo1 et les lamines.

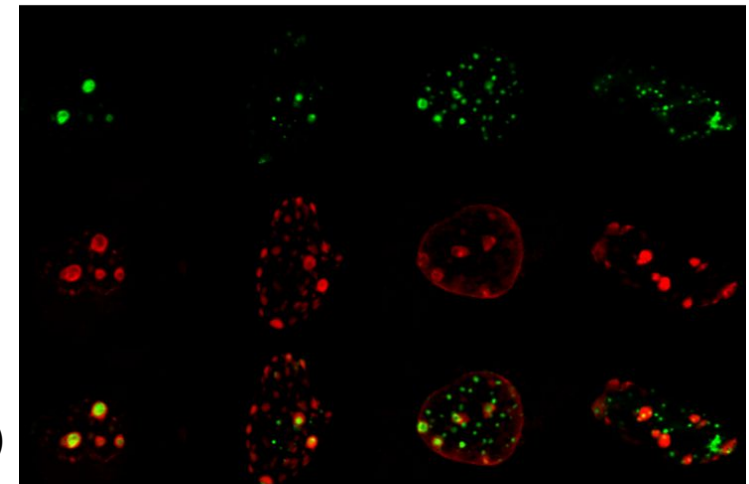


Ici, on voit que les lamines Lamin A-CFP et Lamin C-Red sont uniquement à certains points et colocalisent bien mieux avec Sumo1.

Sumo 1

Lamin A-CFP/ C-Red

Overlay (superposition)



Conclusion du document

En quoi les documents montrent-t-ils que les mutants de laminopathie entraînent une mauvaise localisation de sumo1 ?

Pour répondre à la question, on a montré dans le 1^{er} document une plus grande association de SP3 avec sumo1 en présence des lamines Lamin A-CFP et Lamin C-Red.

Le second document montre une très forte colocalisation avec les lamines Lamin A-CFP et Lamin C-Red contrairement au témoin.

On a donc une mauvaise localisation de Sumo1 qui s'associe aux lamines en cas de mutation et qui peut suggérer qu'elle est responsable des laminopathies.