Cours : Biologie Cellulaire n°3
Jeudi 29 Novembre à 10h30
Professeur : Ch. CHOMIENNE
Ronéotypeur : Alexis KAHN

CONTRÔLE DE LA PROLIFERATION, DIFFERENCIATION ET SURVIE DES CELLULES

PLAN

I. Les differents mécanismes de contrôle de différenciation, prolifération et survie cellulaire.

1. Système d'activation des protéines
2. Contrôle des protéines de régulation
3. Les différentes étapes de contrôles

II. **Régulation Transcriptionelle**

A.Les facteurs généraux
B.Recrutement des TF et Pol II
C.Facteurs spécifiques
D.Caractéristiques des protéines transcriptionnelles
E.Les domaines spécifiques des protéines transcriptionnelles
F.**Structure des protéines transcriptionnelles**

1. Hélice-coude (Boucle)-Hélice
2. Fermeture éclair à Leucine (Leucine Zipper pour les intimes)
3. A doigt de Zinc

G.**Les Coactivateurs**
H.**Les Corépresseurs**
I.miRNA (microRNA)

III. **Régulation Post-Transcriptionel**

A.Contrôle de l'ARN transcrit à partir d'un même gène

1. Cas où le même ARNm est synthétisé
2. Cas où l'ARNm différent est synthétisé

B.Contrôle de la quantité d'ARNm

1. Taux de synthèse
2. Quantité ARN transportée
3. Durée de vie

C.Dégradation de l'ARN
D.Formation des siRNAs et miRNAs

IV. **Régulation traductionnelle**

A.Diminution de l'étape d'initiation de la traduction
B.Dégradation des protéines : protéolyse
C.Lieu de la protéolyse :
D.**Protéolyse au niveau du protéasome**
E.**Etapes de la protéolyse à pH neutre**
F.**Etapes de la protéolyse à pH acide**

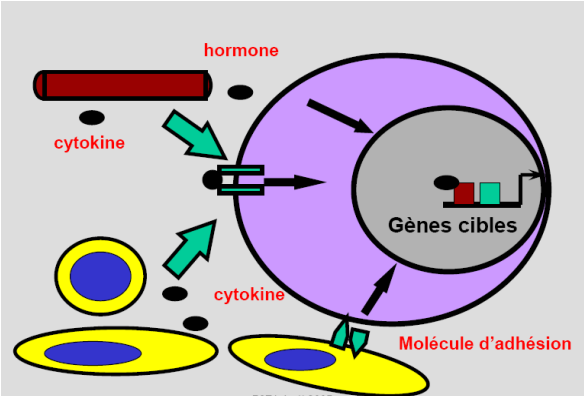
I. Les differents mécanismes de contrôle de différenciation, prolifération et survie cellulaire.

Les protéines de régulation qui vont intervenir dans le contrôle de la différenciation, prolifération et survie cellulaires sont :

- Les **protéines transcriptionnelles**
- Les **cytokines** telles que :
  - Les **facteurs de croissance** et de **différenciation**
  - Les protéines à la surface des cellules : les **récepteurs des cytokines**

- Les **molécules d'adhésion** : permettent à 2 cellules de faire passer des signaux de prolifération ou de différenciation. Peuvent être :
  - Des cytokines qui vont agir par l'intermédiaire de récepteurs
  - Des molécules d'adhésion qui vont agir par simple reconnaissance d'une protéine de surface par d'autres protéines de surface d'une cellule avoisinante.

Les molécules d'adhésion agissent que par le biais des protéines transcriptionnelles puisque celles-ci sont les seules qui peuvent agir au niveau de la transcription d'un gène.



Cellule avec son noyau et où il y a un gène avec sa région promotrice sur lequel vont venir se fixer les protéines transcriptionnelles.

La fixation des protéines transcriptionnelles sur la région promotrice initie la transcription (symbolisée par la flèche comme d'habitude).
Les signaux extérieurs qui vont enclencher un signal de transcription peuvent être :

- Les cytokines
- Les molécules d'adhésion (permettent interaction entre 2 cellules)
- Des hormones si facteurs a été produits par un organe distant.

Les signaux peuvent ainsi être véhiculés par un vaisseau sanguin ou secrétés par des cellules proches de la cellule cible.

1. Système d'activation des protéines

- Les cytokines ne pénétrant pas dans la cellule et elles transmettent le signal en se fixant sur ses récepteurs membranaires.

C'est la fixation qui déclenche les signaux activateurs des protéines transcriptionnelles.

- Les hormones de stéroïdes, les androgènes ou dérivés de la vitamine A, D et hormones thyroïdiennes, vont diffuser passivement au travers de la membrane plasmique et activer les protéines transcriptionnelles au niveau du noyau.

- Les molécules d'adhésion, fonctionnent comme les cytokines, c'est le signal engendré par la rencontre de 2 molécules d'adhésion qui active les protéines transcriptionnelles.

2. Contrôle des protéines de régulation

Toutes ces protéines de régulation (hormones, cytokines, récepteurs à cytokines et les protéines transcriptionnelles elle mêmes) sont elles mêmes contrôlées par :

- Le **taux d'ARNm** qui est **synthétisé** à un moment précis dans une cellule donnée, **édité** (contrôlé comme conforme et normal) et **exporté** dans le cytoplasme.
- Les étapes de **maturation,** d'**adressage** et de **dégradation** des protéines.

Permet une régulation très fine des processus de la vie de la cellule.

3. Les différentes étapes de contrôles

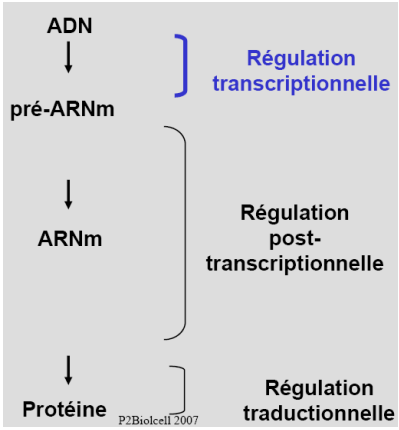


Schéma général

A partir du gène au niveau de l'ADN, on arrive à un ARNm immature dit pré-ARNm, qui va être maturé en ARNm et traduit par la suite en protéine.
Toutes ces étapes sont contrôlées de manière très fine.

3 types de régulation :

- **Transcriptionelle** : passage entre l'ADN et l'ARN immature
- **Post-transcriptionnelle** : Maturation de l'ARNm
- **Traductionnelle** : Régulation sur la protéine en cours de maturation ou de dégradation

II. Régulation Transcriptionelle

Rappel : la transcription ne peut avoir lieu qu'a partir du moment où des facteurs de transcriptions arrivent au niveau de la région promotrice du gène.

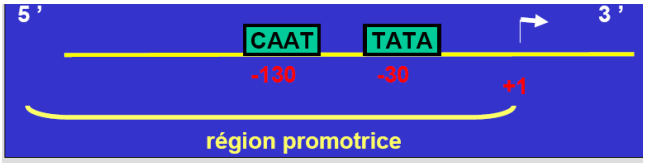
Les facteurs de transcription viennent se fixer par reconnaissance de certaines séquences en acides aminés, sur certaines séquences en acides nucléiques au niveau de la région promotrice des gènes.
Facteurs de transcription partagés en 2 groupes :

- **Les facteurs généraux**
- **Les facteurs spécifiques**

A.Les facteurs généraux

Trouvés quel que soit le type de gènes à transcrire
Reconnaissent à la fois par la **séquence promotrice** du gène cad séquence en ADN, et la protéine importante de la transcription : **ARN polymérase II** (ARNpolII).

Rq : Reconnaissance dit fixation et interaction physique entre une séquence en aa et une séquence nucléotidique ou en aa.



Lecture dans le sens 5'→ 3'. Le site d'initiation avec la flèche symbolique.
En amont c'est la **région promotrice** du gène et en aval la **région codante**.

Dans la région promotrice il y a des séquences spécifiques :

- **TATA** (bases Thymine et Adénine) qui se trouvent à environ -30 nucléotides (nt).

Séquences le plus souvent reconnues par les facteurs généraux pour initier la transcription.

- **CAAT** est un plus loin dans la région promotrice soit environ -130 nt.

Ainsi la reconnaissance de la région promotrice se fait par la recherche des séquences spécifiques telles TATA et CAAT et donc lieu de liaison des facteurs généraux.

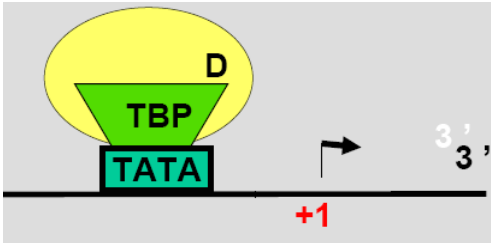
Exception : Il existe des gènes sans TATA ou CAAT dans leur région promotrice.

Les differents types sont : **TFII A, B,…H** où TF = Tanscription Factor et II pour ARN pol II.
Des facteurs A, B, …H et le TFII viennent s'associer pour former des **complexes transcriptionnelles d'initiation de la transcription.**
La découverte des facteurs A à H est récente, mais on connaissait déjà la **TBP** (**TATA Binding Proteine**), qui se fixe sur la séquence TATA, cette protéine fait partie du **complexe TFII D.**

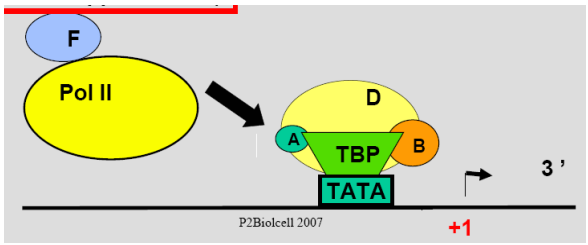
B.Recrutement des TF et Pol II

1. TBP, fait partie d'un complexe de plusieurs protéines qui forment ensemble le complexe TFII D.

Ce complexe va se fixer sur la séquence TATA.



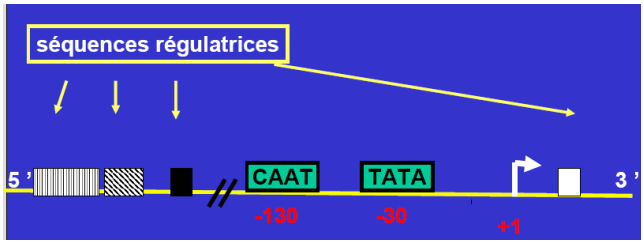
2. Pour initier la transcription on a le recrutement de TFII A et B et l'arrivée de pol II pour la lecture du brin patron sur lequel est fixé TFII F.



Les differents facteurs TFII viennent encercler le site d'initiation de la transcription, autour de l'ARNpolII et formation du **Complexe Transcriptionnelle De Base.**

Rq : Ce complexe est le minimum à apporter dans un tube à essai pour avoir un semblant de synthèse d'ARNm. Dans une cellule c'est différent, il faut d'autres types de protéines régulatrices
= **Facteurs Spécifiques**.

C.Facteurs spécifiques



Sont les protéines transcriptionnelles, qui vont aussi venir reconnaître au niveau du gène, des séquences régulatrices spécifiques.
A la différence des séquences régulatrices reconnues par les facteurs généraux, il en existe plusieurs pour un même gène.
Il est donc nécessaire qu'il y ait plusieurs protéines transcriptionnelles pour que la transcription se fasse.
Il est ainsi nécessaire d'avoir plusieurs séquences régulatrices. Un même gène pour pourvoir être exprimé doit avoir plusieurs séquences régulatrices.
Ces séquences sont en général en 5' mais peuvent aussi se trouver en 3', dans la région d'un intron à des distance parfois très importante : +1000 voire +5000.

Ces séquences ont comme caractéristiques :
- D'être nombreuses
- D'être très éloignées

Mais le gène se recourbe et faire des plis, ces régions éloignés ne se retrouves plus si loin de la région promotrice.

D.Caractéristiques des protéines transcriptionnelles

1. Elles se fixent à de l'ADN, au niveau de sa séquence en aa il existe un **domaine de fixation à l'ADN.**

2. La transcription se faisant dans le noyau, donc il est nécessaire que ces protéines possèdent une **séquence NLS** (Nuclear Localisation Signal).

3. Interagissent avec d'autres protéines transcriptionnelles, ainsi possède des **domaines de dimérisation.**

Ces domaines sont appelés **Homodimère** si les 2 protéines sont semblables ou **Hétéredimère** dans le cas contraire.

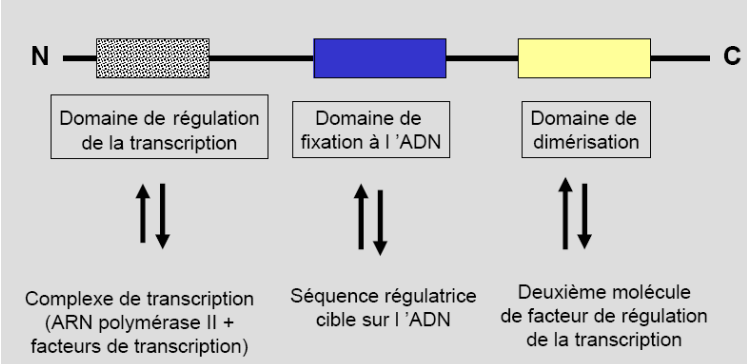
4. Interagissent avec d'autres protéines du complexe transcriptionnelle :

Coactivateurs ou **Corépresseurs** pour autoriser la transcription du gène.

5. Les protéines agissent en interaction avec l'ADN et avec d'autres protéines qui doivent nécessairement être activés et donc être phosphorylés sur le **site de Phosphorylation** (Pas con !)

⇨ Transcription de manière optimale.

E.Les domaines spécifiques des protéines transcriptionnelles



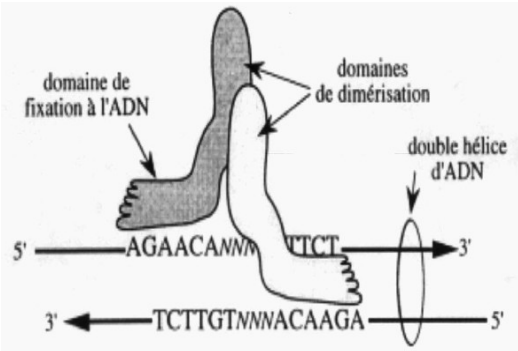
Premier domaine correspond au **Domaine de régulation de la transcription,** lieu d'interaction avec le Complexe Transcriptionel de Base comprenant des protéines spécifiques : ARN pol II associée aux facteurs généraux de la transcription.

Deuxième domaine : **Domaine de fixation de l'ADN**, interaction avec l'ADN au niveau de sa *séquence régulatrice cible.*

Troisième : **Domaine de Dimérisation**, séquence en aa où se fixent les protéines pour permettent l'interaction avec une autre molécule transcriptionnelle ⇨ Action sur une 2e molécule de facteur de régulation de la transcription.

Rq : L'ordre à été posé par la prof arbitrairement

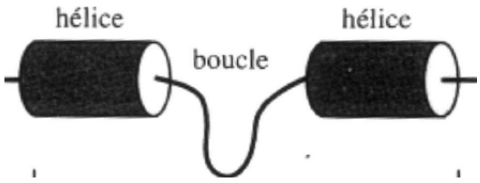
Ex:



Double hélice d'ADN où se trouve le gène à transcrire.
Une partie de la protéine se fixe sur la séquence nucléotidique au niveau du gène et une autre se trouve sur le domaine de dimérisation entre les différentes protéines.

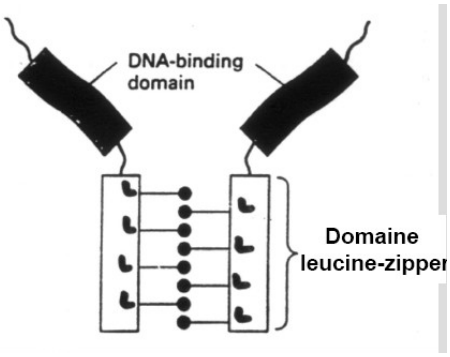
F.**Structure des protéines transcriptionnelles**

1. Hélice-Coude(Boucle)-Hélice



La Boucle permet le rapprochement des 2 hélices qui sont 2 parties de la protéine transcriptionnelle qui va interagir avec les séquences régulatrices.

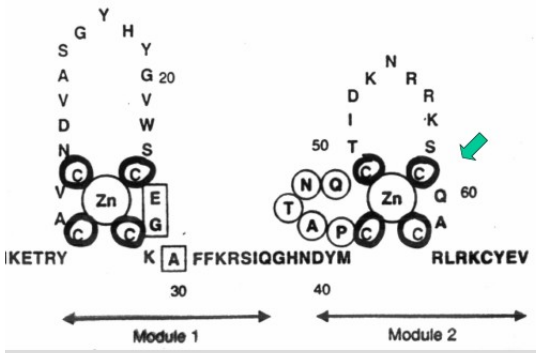
2. Fermeture éclair à Leucine (Leucine Zipper pour les intimes)



Association de deux protéines transcriptionnelles qui dimérisent ensemble sous la forme d'un Homodimère ou Hétérodimère.
Il y a deux domaines par protéine:

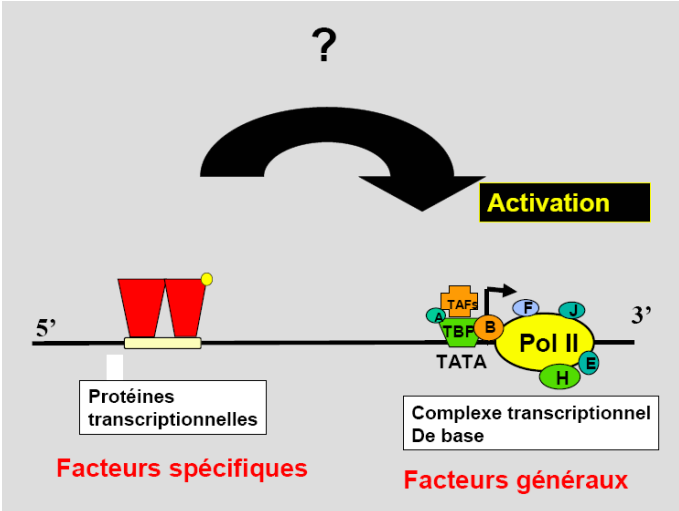
- Un domaine de liaison **à l'ADN**
- Un domaine de liaison **à l'autre protéine** par l'aa Leucine.

3. A doigt de Zinc



On observe à gauche, la séquence en aa d'une protéine transcriptionnelle, avec le reste de la séquence en continuité dans les doigts.
Cette séquence est formé de 2 doigts de Zinc car autour du Zinc, les aa Cystéine se rapprochent et assemblent la protéine pour former les doigts.

Rq : C'est l'extrémité du doigt qui reconnaît la séquence régulatrice de l'ADN



Il existe d'autres niveaux de régulation des protéines, pour faire le lien entre les protéines transcriptionnelles et le Complexe Transcriptionel de Base, comme **les Coactivateurs**.

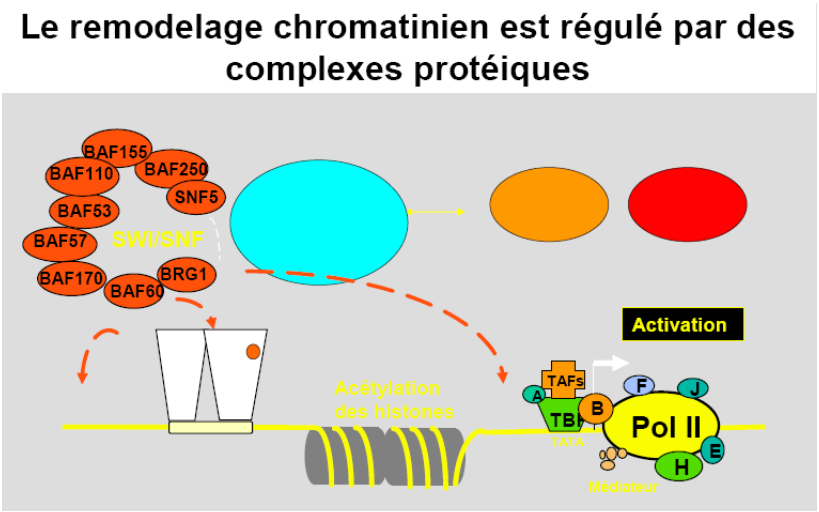
G.Les Coactivateurs

Ensemble protéique qui ont un rôle d'activateur de la transcription.

1. Agit au niveau de la Chromatine, pour rendre le gène accessible aux différentes protéines activatrices de la transcription = **Remodelage de la chromatine**
2. Déroule l'ADN du nucléosome par fixation d'un groupement Acétyl sur la queue des Histones. Les enzymes sont les **HAT** (Histones AceTylases).
3. Diminue les réactions de méthylation au niveau des séquences régulatrices de la région promotrice du gène = **Inhibiteur des Méthyl Transferase**

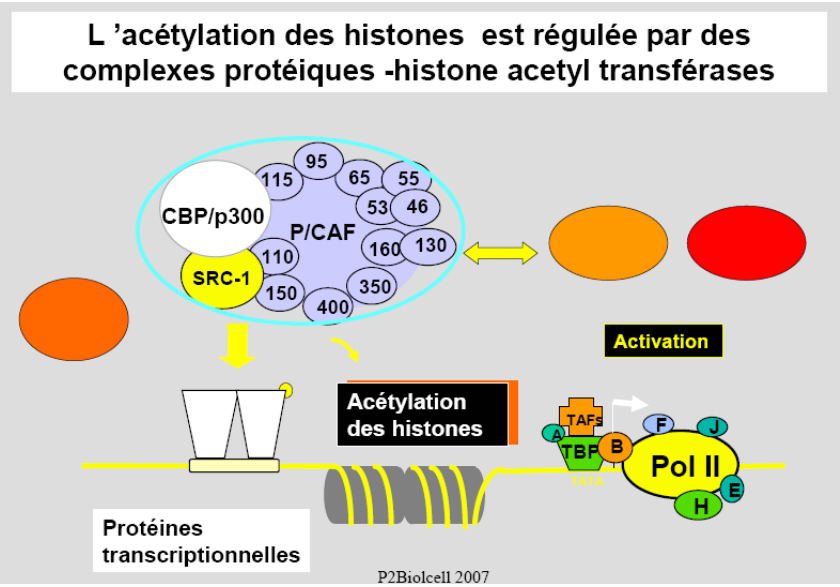
Rq : Ces réactions nécessitent de l'énergie sous forme d'ATP.

Ex 1: Le remodelage chromatinien



Régulation du remodelage chromatinien par le complexe SWI/SNF : interagissent avec les protéines transcriptionnelles et sa fixation permet l'acétylation des histones.

Ex 2 : Acétylation des histones



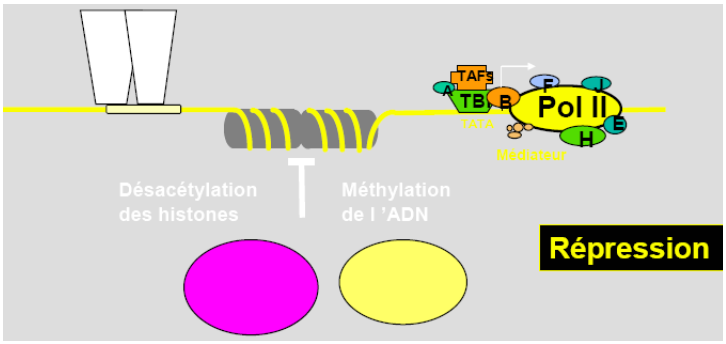
Le complexe CBP/p300 et P/CAF interagit avec les protéines transcriptionnelles pour induire l'acétylation des histones et activation d'autres protéines de régulatrices.

Rq : S'il n'y à pas ces protéines ⇨ Pas de transcription.

H.**Les Corépresseurs**

Inhibent la transcription.
Sont actif en permanence car 90% du génome n'est pas transcrit, donc 90% des gènes sont éteints.
Par l'intermédiaire des protéines spécifiques : les Corépresseurs.

1. Sont des protéines à activité enzymatique spécifiques :
   - **HDAC** (Histone DéACétylase) qui inhibent l'acétylation et donc ont des effets inverse des coactivateurs. Le gène n'est pas sous forme permissive de la transcription.
   - **DNA Méthylases** qui méthylent des bases nucléotidiques, le gène est alors hyperméthylé et ne peut entrer en transcription.
2. **Protéines liés aux histones** inhibent la transcription, pour empêcher l'action des protéines.

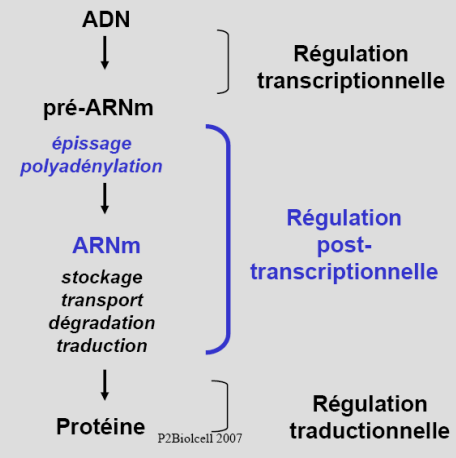


Région promotrice prête à la transcription, mais certaines protéines vont inhiber l'ADN ou acétyler les histones et donc pas de transcription.

I.miRNA (microRNA)

Petit ARN qui se fixe sur la région promotrice des gènes pour empêcher la transcription, en nombre aussi important que les protéines centrales.

III. **Régulation Post-Transcriptionel**



A.Contrôle de l'ARN transcrit à partir d'un même gène

Site de l'ARNm transcrit, en fonction des differents niveau de contrôle à partir d'un même gène, on peut avoir differents ARNm.
On peur avoir le même ARN synthétisé par le même gène mais pas dans la même cellule.
En fonction de l'endroit de la transcription, on a un signal de prolifération, de différenciation ou de survie.

1. <u>Cas où le même ARNm est synthétisé</u>

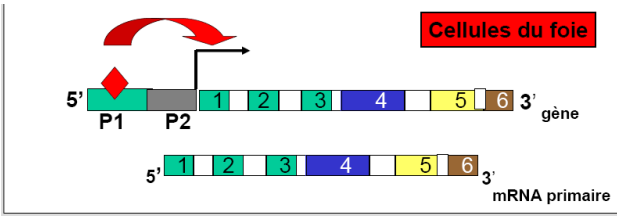
Ce phénomène est due au fait qu'il y a différent type de promoteur dans la région promotrice.
L'activation de ces promoteurs permettra la transcription cellulaire.

Activation dans une cellule donnée, d'un promoteur donné dans la séquence promotrice par les protéines transcriptionnelle spécifique de la cellule.

Le même ARN est produit donc la même protéine est synthétisée. Mais la synthèse contrôlée dans une cellule spécifique.

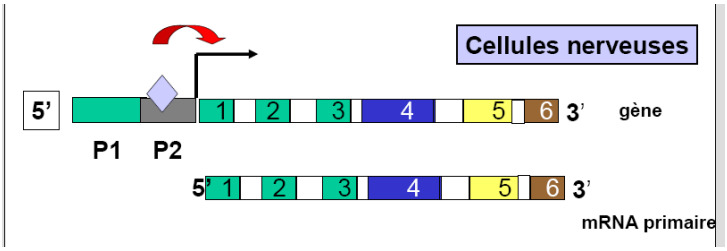
On a un gène avec 6 exons et 2 promoteurs différents P1 et P2. (La P1 : c'est bien, la P2 : c'est mieux ! Merci Clément)

Cas 1 : Dans les Cellules Hépatiques



Dans les cellules du foie, c'est le promoteur 1 (P1) qui va être reconnu, la transcription démarre et l'ARNm primaire comporte les introns et exons.

Cas 2 : Dans les Cellules Nerveuses

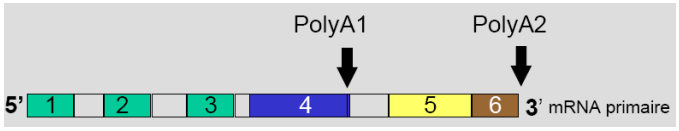


Ce même gène se trouve dans la cellule nerveuse, les protéines transcriptionnelles se fixent sur le P2, initiation de la transcription et synthèse du même ARNm primaire.

Donc synthèse de la même protéine, mais l'autorisation de transcription se fait de manière différente, parce que les promoteurs reconnus et activés sont différents.
→ **Dans un tissu donné, le même gène mais pas forcément le même transcrit**.

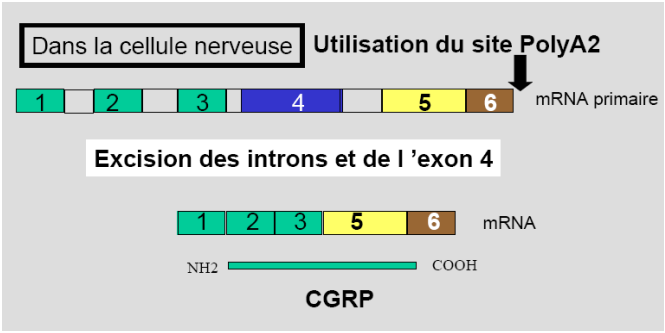
2. Cas où l'ARNm différent est synthétisé

2 possibilités :
- **Epissage alternatif**
- **Choix de la queue poly A**



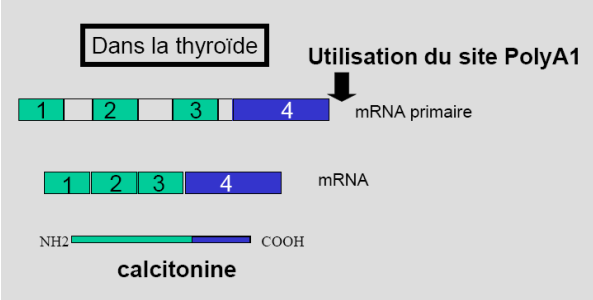
Deux sites différents d'accrochage de la queue polyA.

Cas 1 : Dans la cellule Nerveuse



Dans la cellule nerveuse, on a l'utilisation du site PolyA2, donc accrochage après l'exon6.
Excision des introns et de l'exon 4. L'ARNm mature comprend exons 1, 2, 3,5 et 6.
Cette protéine synthétisée dans la cellule nerveuse est la **CGRP**

Cas 2 : Dans la Thyroïde



Même gène mais on retient le site de polyA1, il ne reste donc après épissage que les exons 1, 2, 3 et 4. Cette protéine synthétisée dans la thyroïde est la **Calcitonine.**

Un ARN différent est produit donc une protéine differente

B.Contrôle de la quantité d'ARNm

La quantité totale résulte :

- **Le taux de synthèse**
- **La quantité ARNm transportée à l'extérieur du noyau**
- **La durée de vie de l'ARNm à l'extérieur du noyau pour être traduit**

1. Taux de synthèse

Sous le contrôle transcriptionel

2. Quantité ARN transportée

Sous le contrôle post-traductionnel, des facteurs de contrôles sont :

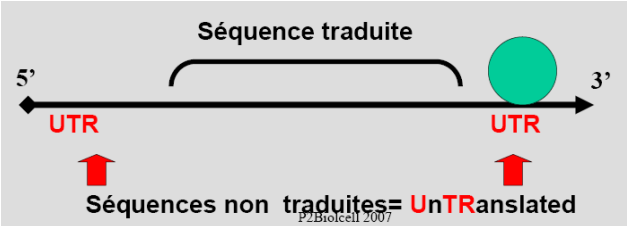
- **SnRNPs**
- **CAP**
- **Facteurs d'initiation de la traduction**

3. Durée de vie

Eléments important de l'ARNm, sous le contrôle post-traductionnel

Depend de la protection de l'ARNm :

- **Méthylation des nucléotides**
- **Structure CAP**
- **Queue polyA**



Séquence en aa traduite est entourée par des séquences UTR en 5' et en 3'.
La cellule pose sur les séquences 3'UTR des protéines, qui vont venir protéger encore plus la séquence d'ARNm = **séquence ARE.**

Reconnue par les protéines de protection de région 3'UTR de l'ARNm.

C.**Dégradation de l'ARNm**

1. Par des **ribonucléases**, sont des enzymes qui dégradent les ribonucléotides.
2. Par des **ARN antisens** : petites séquences complémentaires des ARNm, viennent s'hybrider à l'ARNm et après reconnaissance dégradation de la cible par **l'ARNaseH**.
3. Par des petits ARNs par les siRNAs ou les miRNAs.

Rq : Dégradation par les siRNAs par le **mécanisme RISC**
Sont de petite séquence en ARN, hybridation par complémentarité, cible l'ARNm à des protéines de dégradation.

D.Formation des siRNAs et miRNAs

- siRNA et miRNAs proviennent d'une structure en épingle à cheveux d'une molécule d'ARN.
- L'enzyme DICER sépare les 2 brins du siRNAs
- Formation du complexe RISC à partir de siARN + d'autres protéines
- Reconnaissance de l'ARNm et dégradation par siRNA et miRNA.

Rq : Au moment de la traduction, seuls les miRNAs bloquent la traduction, siRNAs ne peuvent que dégrader les ARNm.

IV. **Régulation traductionnelle**

Cette régulation permet de contrôler :
- La qualité et
- La quantité des protéines synthétisées

A.Diminution de l'étape d'initiation de la traduction

1. **Diminution de la taille des polysomes,** diminution du nombre de ribosomes donc de sa taille en nombre à un temps donné sur un ARNm.

2. Inhibition de l'initiation de la traduction

Ex : la phosphorylation d'IF2 provoque sa fixation sur une autre protéine (IF2B) (action antivirale des interférons)

B.**Dégradation des protéines : Protéolyse**

Adaptation **rapide** de la quantité de protéine.
Permet la **protection** de cellule et de l'organisme s'il y a des protéines anormales.

C.Lieu de la protéolyse

Dépend du type d'enzyme de dégradation

➢Protéases qui fonctionnent à **pH acide**, mauvais pour le cytoplasme donc les protéases sont dans une vacuole (entouré d'une membrane) dans un système endomembranaire

1. **Endosomes :** vacuoles particulières entourées d'une membrane avec un milieu acide.
2. **Lysosomes :** compartiment avec differents **Endopeptidases** fonctionnant à pH acide =

- Hydrolases
- Protéases

- Peptidases
- Nom particulier ou spécifique d'une protéine donnée.

➢Système de dégradation dans le cytosol, à pH neutre. Se fait en un complexe protéique spécifique : **Protéasome,** par l'intermédiaire de peptidase = **Exopeptidases**

Système à pH neutre aussi dans des compartiments **: Réticulum Endoplasmique et Mitochondrie.**

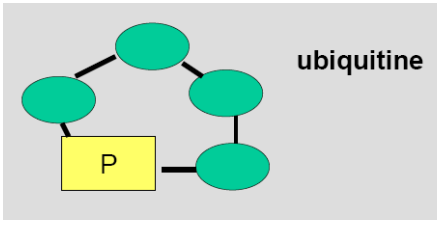
D.**Protéolyse au niveau du protéasome**

Le protéasome : Complexe qui comprend la protéine à dégrader + ubiquitines + enzymes
L'ubiquitine est une **chaperonne** : se fixe sur les protéines et les accompagnent au niveau du protéasome pour les dégrader.

E.**Etapes de la protéolyse à pH neutre**

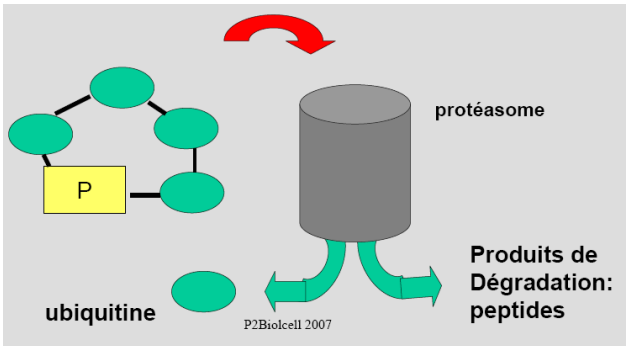
1. **Réaction d'ubiquitinylation** = Fixation de plusieurs molécules d'ubiquitine autour de la protéine à dégrader.

→ Conjugaison à plusieurs molécules d'ubiquitine



2. **Dégradation dans le protéasome**.

Il contient plusieurs protéases à pH neutre et d'autres à activités ATPasique pour l'énergie.
Les produits sont dégradés en peptides, tandis que l'ubiquitine va être recyclé pour, par la suite, reconnaitre d'autres protéines à dégrader dans le protéasome.



3. **Adressage des produits de dégradation** à différents compartiments cellulaires tels que les lysosomes, le cytosol ou le RE.

F.**Etapes de la protéolyse à pH acide**

C'est la protéolyse au niveau du lysosome et de l'endosome.

Endroit indispensable pour la différenciation et la prolifération cellulaire.
C'est dans ces lysosomes que se fait :

- **Dissociation des facteurs de croissance-récepteur** ⇨ Plus de signaux de prolifération
- **Dégradation du facteur de croissance** → plus de signal de prolifération
- **Recyclage des récepteurs à la membrane**