

ANNEXE XIII CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

Les biologistes ont l'habitude de représenter le cycle cellulaire par un cercle ou un anneau divisé en quartiers, correspondant aux quatre phases principales qu'il comporte : G1, S, G2 et M. La notion de cycle ne s'applique pas aux cellules animales qui cessent de se diviser. On dit alors qu'elles sortent du cycle cellulaire. Cette phase de repos, souvent appelée G0, suit immédiatement la mitose. Elle peut être réversible ou définitive. L'arrêt définitif des mitoses concerne deux catégories de cellules : celles qui entrent en phase de différenciation terminale et celles qui ne peuvent plus se diviser parce qu'elles sont devenues sénescents.

XIII.A. POINTS DE CONTRÔLE

La rotation du cycle cellulaire est contrôlée d'une manière très rigoureuse. Elle peut être bloquée en quatre points principaux (R, S, T et A), qui opèrent au cours des phases G1, S, G2 et M (*fig. XIII.A*). En principe, il s'agit de points de non-retour : une fois qu'ils sont franchis, la rotation du cycle continue, quoi qu'il advienne.

À chaque point, la cellule contrôle que les opérations préparant la mitose se sont déroulées sans encombre et ne risquent pas de créer des cellules filles trop petites ou aneuploïdes*. Pendant l'interphase, elle vérifie qu'elle a suffisamment grossi et correctement répliqué son ADN, c'est-à-dire une seule fois, et sans qu'il ait subi trop de lésions. Au moment de l'anaphase, elle s'assure que les deux sous-unités (chromatides) de chaque chromosome sont attachées au fuseau mitotique de telle façon qu'elles puissent migrer en sens inverse et se réunir en deux lots identiques aux pôles du fuseau.

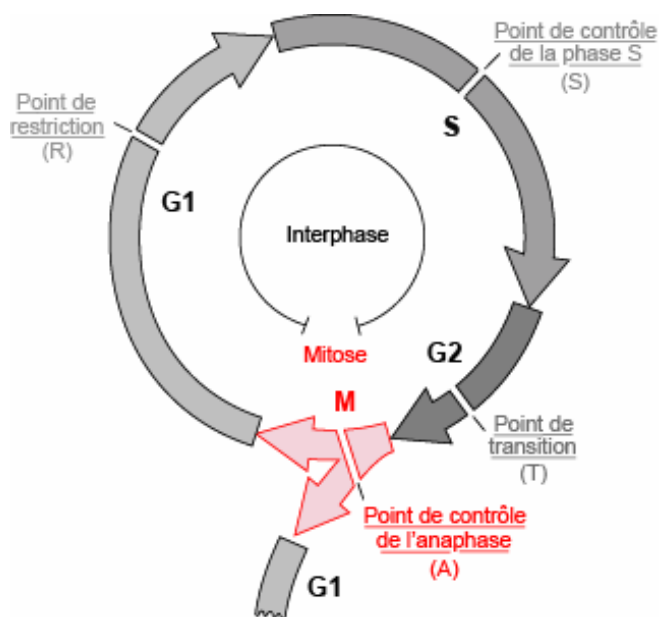


Fig. XIII.A. Contrôle du cycle cellulaire chez les eucaryotes.

Quatre points de contrôle gouvernent la rotation du cycle. Le premier (R) empêche l'entrée en phase S. Une fois cet obstacle franchi, la cellule est autorisée à répliquer son ADN. Mais la réplication peut s'arrêter au deuxième point de contrôle (S), si elle ne se déroule pas correctement. Le troisième point de contrôle (T) interdit à la cellule d'entrer en mitose. Le quatrième point (A), aussi appelé point de contrôle du fuseau, empêche la mitose de s'achever : les chromosomes ne peuvent pas migrer vers les pôles du fuseau mitotique et se séparer en deux lots, comme cela se produit au cours d'une anaphase normale.

XIII.B. PROTÉINES CONTRÔLANT LA ROTATION DU CYCLE

La rotation du cycle est entraînée par un combat entre kinases et protéases, les unes l'emportant tour à tour sur les autres. Chaque kinase comporte une sous-unité catalytique, appelée CDK**, et une sous-unité activatrice, appelée cycline*. Plusieurs cyclines et plusieurs CDK fonctionnent durant le cycle cellulaire et s'associent suivant diverses combinaisons. Les protéases font intervenir un système de marquage par l'ubiquitine et un système de destruction formé par le protéasome (*annexe X.B*). Deux complexes APC** et un complexe SCF** fixent une étiquette (l'ubiquitine) sur les protéines à détruire. Ils jouent donc le rôle de coprotéases. Les complexes APC doivent leur particularité à une sous-unité activatrice : CDC20** ou CDH1 (*CDC20 Homolog 1*), qui s'associe avec cœur de structure uniforme, fonctionnant comme ubiquitine ligase*.

L'autorisation de franchir le point de contrôle R est délivrée par diverses kinases associées à des cyclines (*fig. XIII.B*). Le blocage en phase S est assuré par les kinases ATM** et ATR**, qui surveillent la réplication de l'ADN. La première de ces kinases n'est pas seulement capable de bloquer le cycle cellulaire (*annexe XIV.A*). Elle intervient aussi dans la réparation de l'ADN (*annexe VII.B*). L'autorisation de franchir le point T est donnée par le MPF**, qui est formé par la kinase CDK1 associée à la cycline B. La permission de franchir le point A dépend de l'ubiquitine ligase APC-CDC20.

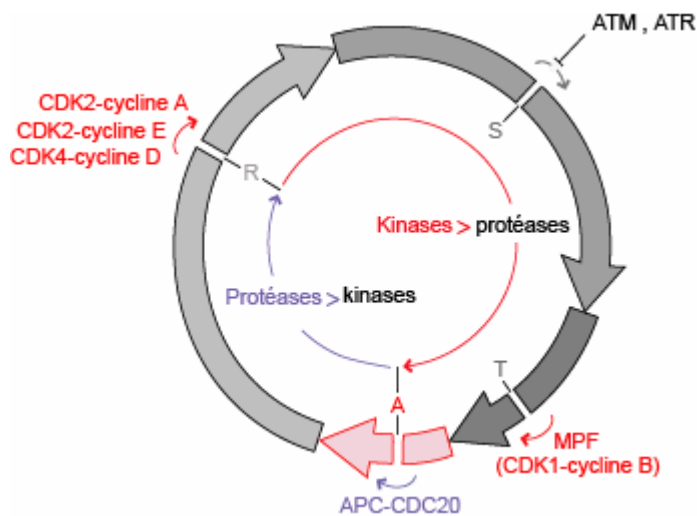


Fig. XIII.B. Mécanismes de contrôle du cycle cellulaire.

Deux classes d'enzymes antagonistes contrôlent la rotation du cycle cellulaire, chacune prenant tout à tour l'ascendant sur l'autre. Entre les points de contrôle A et R, les protéases détruisent les kinases. Entre les points R et A, les kinases échappent à l'action des protéases. Le point R est franchi lorsque la kinase -CDK4 -cycline D devient active et entraîne la mise en fonction des kinases CDK2- cycline E- et CDK2- cycline A, qui autorisent l'entrée en phase S. La réplication de l'ADN se poursuit au-delà du point de blocage S, à moins que la kinase ATM ou ATR ne l'interdise, parce que le processus ne se déroule pas normalement. La kinase MPF permet le franchissement du point T et le déroulement de la mitose jusqu'au point A. L'achèvement de la mitose dépend de la coprotéase APC-CDC20.

La décision d'entrer en mitose est prise durant la phase G1. C'est à ce stade que les cellules obéissent aux signaux mitogènes véhiculés par les facteurs de croissance. Ces derniers stimulent, notamment par l'intermédiaire des protéines Ras** et Myc**, la synthèse et l'activité de la kinase CDK4-cycline D (*annexes XIV.B et XXI.G*).

XIII.C. MODE D'ACTION DES CYCLINES ET DES CDK

Comme l'indique le nom qui leur a été donné, la concentration intracellulaire des cyclines varie périodiquement, parce qu'elles sont marquées par les ubiquitine ligases* APC-CDC20**, APC-CDH1 ou SCF, puis détruites par le protéasome*. Les cyclines portent des domaines particuliers, appelées boîtes de destruction, qui sont reconnues par les ubiquitine ligases.

En fait, le rôle des cyclines ne se limite pas au franchissement des points R et T (*fig. XIII.B*). Elles sont présentes depuis la fin de la phase G1 jusqu'à la fin de la métaphase : (*tabl. XIII.A*). La cycline D est une des premières à apparaître durant la phase G1. Avec les kinases qui lui sont associées, elle stimule indirectement la synthèse et l'activité des cyclines E et A (*annexe XIV.D*). Cela permet à la cellule d'accomplir les différentes opérations propres à la phase S, dont les principales sont la réplication de l'ADN et la duplication du centrosome. L'exécution de la mitose dépend de l'activité de la cycline B.

Tabl. XIII.A. Propriétés des cyclines principales

Classe	Kinases(s) associé(s)	Période(s) d'activité	Processus contrôlé(s)
A	CDK1 CDK2	Fin de phase G1 Phase S Phase G2 Début de phase M	Réparation de l'ADN Duplication du centrosome Mitose
B	CDK1 CDK2	Phase S Phase G2 Phase M	Mitose
D	CDK4 CDK6	Fin de phase G1	Synthèse de CDK2 Synthèse de la cycline A Synthèse de la cycline E
E	CDK1 CDK2	Fin de phase G1 Phase S	Réplication de l'ADN Duplication du centrosome

Le contrôle du cycle cellulaire gagne encore en complexité du fait que chaque cycline peut s'associer à plusieurs CDK**. Cela explique, au moins en partie, pourquoi les différentes cyclines et les différentes CDK peuvent, dans une certaine mesure, se substituer les unes aux autres. Par exemple, les souris *cdk2*^{-/-} et *cdk4*^{-/-}, dont les gènes *cdk2* et *cdk4* ont été invalidés in vitro (*annexe XI.A*) sont viables et ne souffrent que d'anomalies assez mineures. C'est donc que les produits des gènes *cdk2* ou *cdk4* peuvent être remplacés par celui d'un autre ou de plusieurs autres gènes, tout au moins dans leurs fonctions principales. Ces redondances révèlent l'étonnante plasticité des mécanismes de contrôle du cycle cellulaire. Certains chercheurs se sont demandé si les fibroblastes de souris ne pourraient pas vivre et se multiplier avec une seule CDK fonctionnelle. La kinase CDK1 est une bonne candidate, car les embryons *cdk1*^{-/-} ne dépassent pas le stade blastocyste*. En revanche, les embryons *cdk2*^{-/-}; *cdk3*^{-/-}; *cdk4*^{-/-}; *cdk6*^{-/-} se développent jusqu'à la mi-gestation. Les fibroblastes dérivés des fœtus avortés prolifèrent in vitro et peuvent même devenir immortels. Dans ces cellules, la kinase CDK1 se lie à toutes les cyclines. Elle peut donc à elle seule faire tourner le cycle cellulaire.

L'activité des CDK dépend de multiples facteurs. Elle est stimulée par les cyclines, mais inhibée par les CDKI**, tels que INK4a** (P16), P21** et P27**. Elle peut être stimulée ou inhibée par phosphorylation, suivant les acides aminés qui sont modifiés. Prenons l'exemple du MPF, qui commande l'entrée en mitose. Pour devenir active, la kinase CDK1 doit attendre que la cycline B soit synthétisée en quantité suffisante, ce qui a lieu durant la phase G2. Elle doit aussi se soustraire à l'influence de la protéine P21 (*annexe XIV.B*). Elle doit également être phosphorylée sur une thréonine, ce qui stabilise le complexe qu'elle forme avec la cycline B et lui permet de pénétrer dans le noyau. Elle doit encore perdre deux groupements phosphate portés par deux acides aminés contigus (une thréonine et une tyrosine).

Les CDK peuvent phosphoryler de nombreuses protéines. Reprenons l'exemple du MPF. Celui-ci déclenche notamment la disparition de l'enveloppe nucléaire au début de la mitose. Il modifie les lamines (*annexe XVIII*), ce qui entraîne la dépolymérisation de celles-ci et la désagrégation du réseau qui maintenait l'intégrité de l'enveloppe nucléaire. Mais la disparition de l'enveloppe réclame probablement l'action d'autres kinases.

XIII.D. ACTIVATION DES PROTÉASES

Les complexes APC** et SCF n'agissent pas en même temps au cours du cycle cellulaire (*tabl. XIII.B*). Le complexe APC-CDC20** est activé en premier lieu. Dès le début de la phase G1, son action est relayée par celle du complexe APC-CDH1. Au cours de cette transition, la sous-unité CDC20 est remplacée par la sous-unité CDH1. Contrairement au complexe APC, le complexe SCF est actif durant tout le cycle cellulaire, mais ses cibles ne se laissent dégrader que pendant la phase G1, après quoi elles deviennent insensibles à son action.

Tabl. XIII.B. Ubiquitine ligases fonctionnant au cours du cycle cellulaire

Classe	Variété	Période d'activité
APC	APC-CDC20 ⁽¹⁾	Fin de la phase M
	APC-CDH1 ⁽²⁾	Fin de la phase M Phase G1
SCF	-	Permanente

1. Autre nom de CDC20 : Fizzy (FZY).

2. Autres noms de CDH1 : HCT1 et Fizzy-related. (FZR).

L'activité des ubiquitine ligases* APC et SCF n'est pas contrôlée de la même manière (*fig. XIII.C*). Le complexe APC-CDC20 ne devient actif que s'il est phosphorylé. C'est le MPF qui déclenche cette modification. En revanche, le complexe SCF n'a pas besoin d'être modifié. Ce sont les protéines cibles qui doivent l'être, faute de quoi elles ne sont pas reconnues et échappent à la destruction. Cette particularité est facile à comprendre : comme le complexe SCF est actif pendant tout le cycle cellulaire, il faut éviter qu'il agisse en permanence.

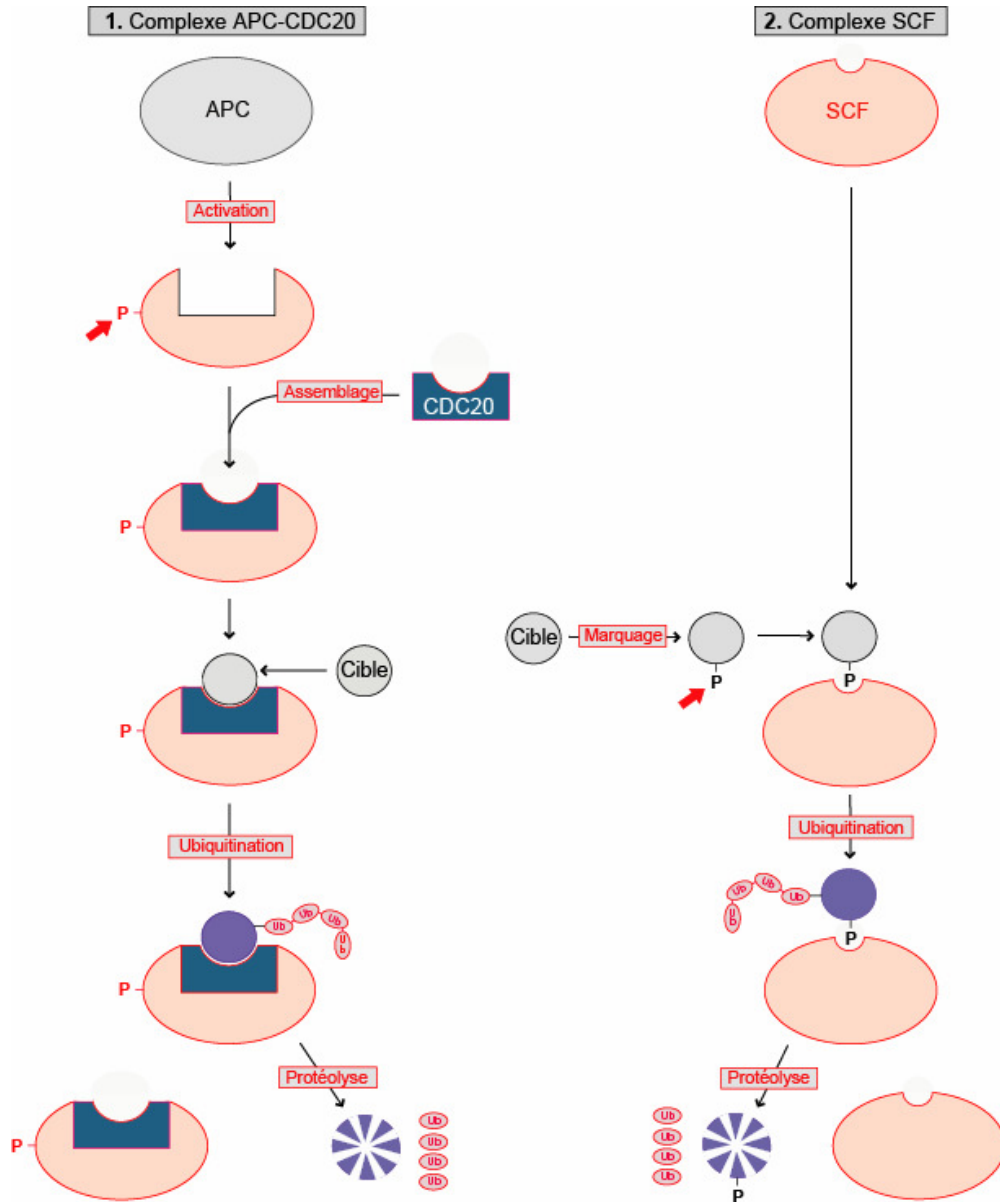


Fig. XIII.C. Fonctionnement des complexes APC et SCF.

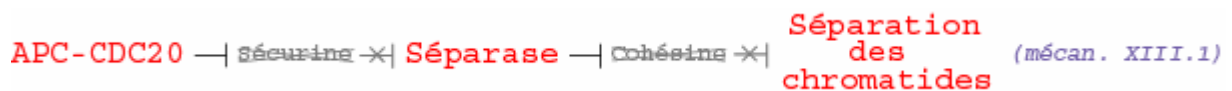
1. Le complexe APC-CDC20 est activé par phosphorylation. La protéine APC phosphorylée devient apte à s'associer à la protéine CDC20. Une fois formé, le complexe reconnaît différentes cibles et permet à la protéine APC de fixer sur elles des ubiquitines, ce qui les condamne à être détruites par le protéasome.
2. Le complexe SCF agit différemment : il ne reconnaît que les cibles qui ont été phosphorylées au préalable. C'est le cas notamment pour la phosphatase CDC25.

(D'après Murray AW. *Cell* 2004 ; **116** : 221-34, modifié)

Le franchissement du point A du cycle cellulaire exige que le complexe APC-CDC20 soit activé, faute de quoi les chromosomes ne peuvent migrer vers les pôles du fuseau mitotique. De nombreuses protéines perçoivent les anomalies pouvant survenir avant l'anaphase. Elles s'assurent que le kinétochore de chaque chromosome a été capté par les fibres du fuseau et que les chromosomes eux-mêmes sont alignés correctement sur la plaque équatoriale. Ces précautions évitent que les chromosomes ne se répartissent de manière inégale entre les cellules filles, ce qui les rendrait aneuploïdes*.

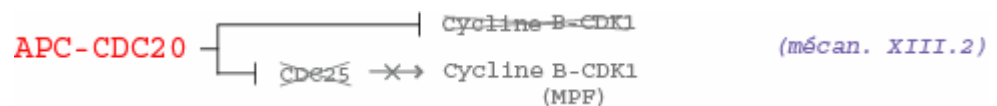
XIII.E. CIBLES DES PROTÉASES

Les complexes APC** et SCF ont de nombreuses cibles. (*tabl. XIII.B*). Le complexe APC-CDC20** voue à la destruction les cyclines mitotiques (A et B). Il est également responsable de la séparation des chromatides, en provoquant la destruction de la sécurine, qui est un inhibiteur d'un enzyme protéolytique, appelé séparase. Devenue active, la séparase détruit la cohésine* qui maintenait les chromatides étroitement unies jusqu'au moment de l'anaphase :



La séparation complète des chromatides réclame l'intervention d'un autre enzyme (la tankyrase*), qui supprime les adhérences au niveau des centromères.

Comme le complexe APC-CDC20, le complexe APC-CDH1 provoque la destruction des cyclines mitotiques. Il agit de même sur la phosphatase CDC25**, qui est un activateur du MPF (*annexe XIV.B*). Celui-ci est donc mis hors d'état de fonctionner de deux façons différentes vers la fin de la phase M : la cycline B est détruite par le protéasome ; ce qui reste de l'enzyme ne peut plus être activé par la phosphatase CDC25 :



Le complexe APC-CDC20 entraîne aussi la dégradation de la protéine P27, qui est un inhibiteur de la kinase **CDK2, mais n'agit que de façon transitoire, parce qu'il est rapidement détruit (*annexe XIV.E*).

La seconde classe d'ubiquitine ligases* (le complexe SCF) agit sur les cyclines de phase G1 (D et E). Mais il a d'autres cibles, telles que la phosphatase CDC25, la protéine P27 et le facteur de transcription E2F1**, qui stimule la synthèse des cyclines A et E (*annexe IX.C*).

Tabl. XIII.C. Protéines pouvant être détruites par les ubiquitine ligases APC et SCF

Classe	Variété	Cibles	Kinases inhibées	Processus contrôlé par les protéines détruites
APC	APC-CDC20	Cycline A Cycline B	CDK1 et CDK2 CDK1 et CDK2	Entrée en phase M
		Sécurine	-	Maintien de l'association entre chromatides
	APC-CDH1	Cycline A Cycline B	CDK1 et CDK2 CDK1 et CDK2	Entrée en phase M
		CDC25A P27	- -	
SCF	-	Cycline D Cycline E	CDK4 et CDK6 CDK4 et CDK6	Maintien en phase G1
		CDC25A P27	- -	Entrée en phase M
		E2F1	-	Maintien en phase G1

XIII.F. ENTRAÎNEMENT DU MOTEUR CELLULAIRE

Le moteur qui anime le cycle cellulaire ne peut tourner que dans un sens, parce que plusieurs éléments essentiels du moteur déclenchent la mise hors service de ceux qui les ont mis en mouvement.

Reprenons une fois encore l'exemple du MPF. Ce dernier active en phosphorylant de manière indirecte, donc avec retard, le complexe APC-CDC20**, mais maintient hors d'état de fonctionner le complexe APC-CDH1, en le phosphorylant aussi :



Devenu actif, le complexe APC-CDC20 condamne le MPF à disparaître, en déclenchant la dégradation de la cycline B par le protéasome :



Ayant disparu, le MPF ne peut plus agir sur le complexe APC-CDC20, ni empêcher le complexe APC-CDH1 de devenir et de rester fonctionnel, puisque le MPF a cessé de le phosphoryler :



Il s'ensuit que le MPF, le complexe APC-CDC20 et le complexe APC-CDH1 sont activés tour à tour.

BIBLIOGRAPHIE

- Bartek J, Lukas J. Order for destruction. *Science* 2001; **294**: 66-7.
- Clarke DJ, Giménez-Albián JF. Checkpoints controlling mitosis. *BioEssays* 2000; **22**: 351-63.
- Dorée M. Le déclenchement de la mitose chez les eucaryotes supérieurs. *Med Sci* 2003; **19**: 299-307.
- Gutierrez GJ, Ronai Z. Ubiquitin and SUMO systems in the regulation of mitotic checkpoints. *Trends Biochem Sci* 2006; **31**: 324-32.
- Massagué J. G1 cell-cycle control and cancer. *Nature* 2004; **432**: 298-306.
- Mendez J. Cell proliferation without cyclinE-CDK2. *Cell* 2003; **114**: 398-9.
- Murray AW. Recycling the cell cycle: cyclins revisited. *Cell* 2004; **116**: 221-34.
- Peters J-M. The checkpoint brake relieved. *Nature* 2007; 446: 868-
- Roberts JM, Sherr CJ. Bared essentials of CDK2 and cyclin E. *Nature Genet* 2003; **35**: 9-10.
- Santamaria D, Barrière C, Cerqueira A, Hunt S *et al.* Cdk1 is sufficient to drive the mammalian cell cycle. *Nature* 2007; **448**: 811-5.
- Zachariae W, Nasmith K. Whose end is destruction: cell division and the anaphase-promoting complex. *Genes Dev* 1999; **13**: 2039-58.