

UE Biologie cellulaire et développement



Organisation de l'UE

- 20h de cours (pas de poly de cours, cours et synthèses de cours disponibles sur e-campus)
 - Biologie cellulaire: Boris Bardot
 - Biologie du développement animal: Morgane Locker
 - Biologie du développement végétal: Marianne Delarue
- 15h de TD
- 10h de TP

Volume total: 45h

MC2C

- Première session
Examen terminal écrit: 0,6
Contrôle continu: 0,4 (Partiel, compte-rendu de TP, quizz et devoir à rendre)
- Deuxième session
Examen terminal écrit: 0,6
Contrôle continu: 0,4 (reconduit)

Responsable: Morgane Locker(morgane.locker@universite-paris-saclay.fr)



Biologie Cellulaire

Boris BARDOT

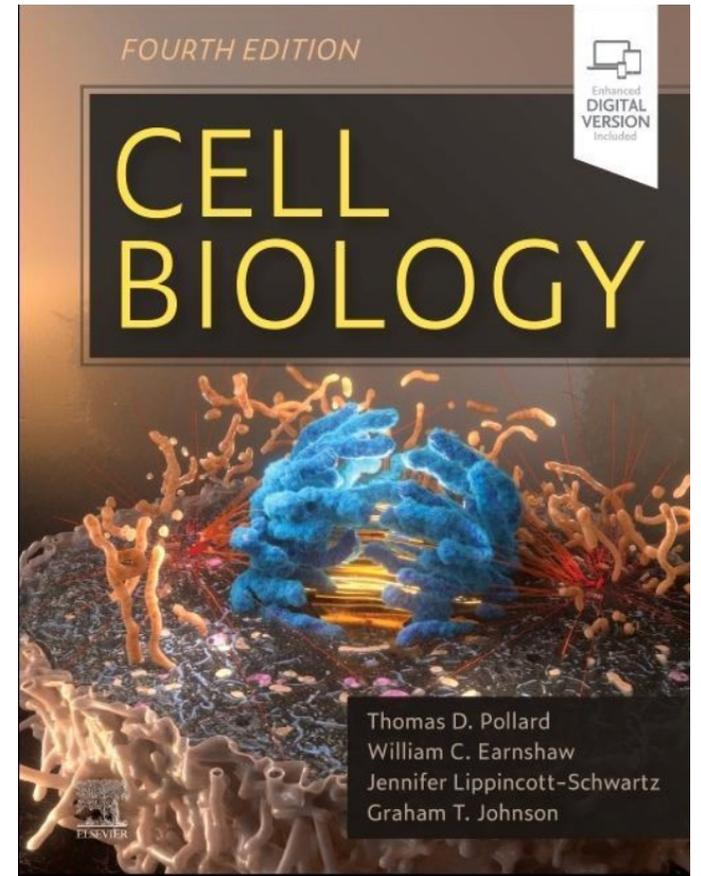
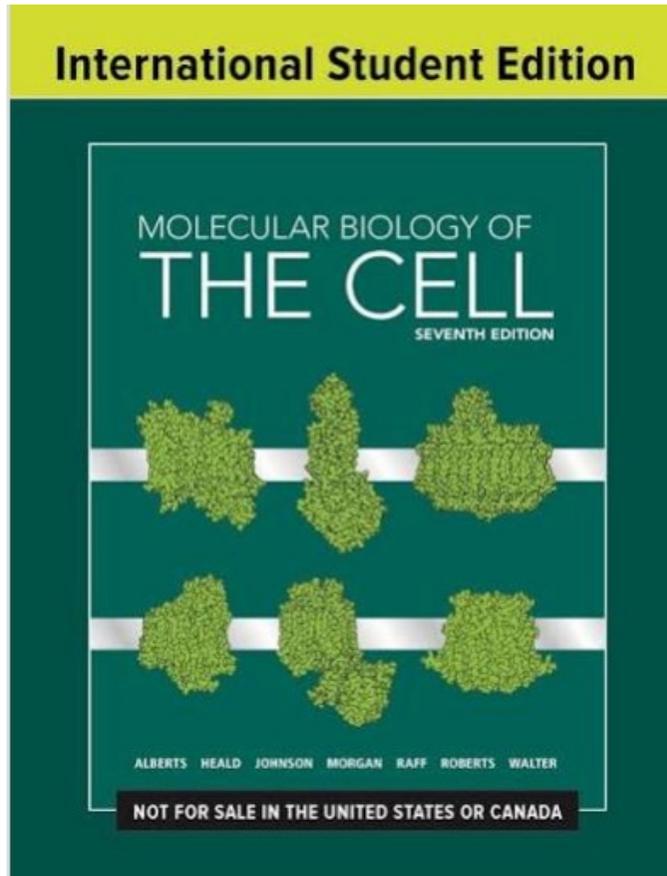
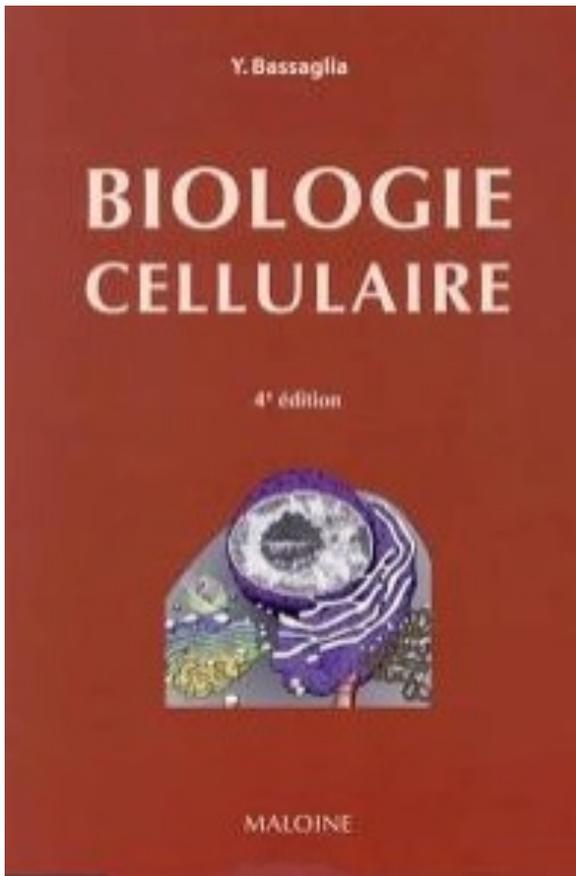
(boris.bardot@curie.fr)

UMR3347/U1021

Signalisation, Radiobiologie et cancer

Institut Curie, Orsay





Lectures recommandées!

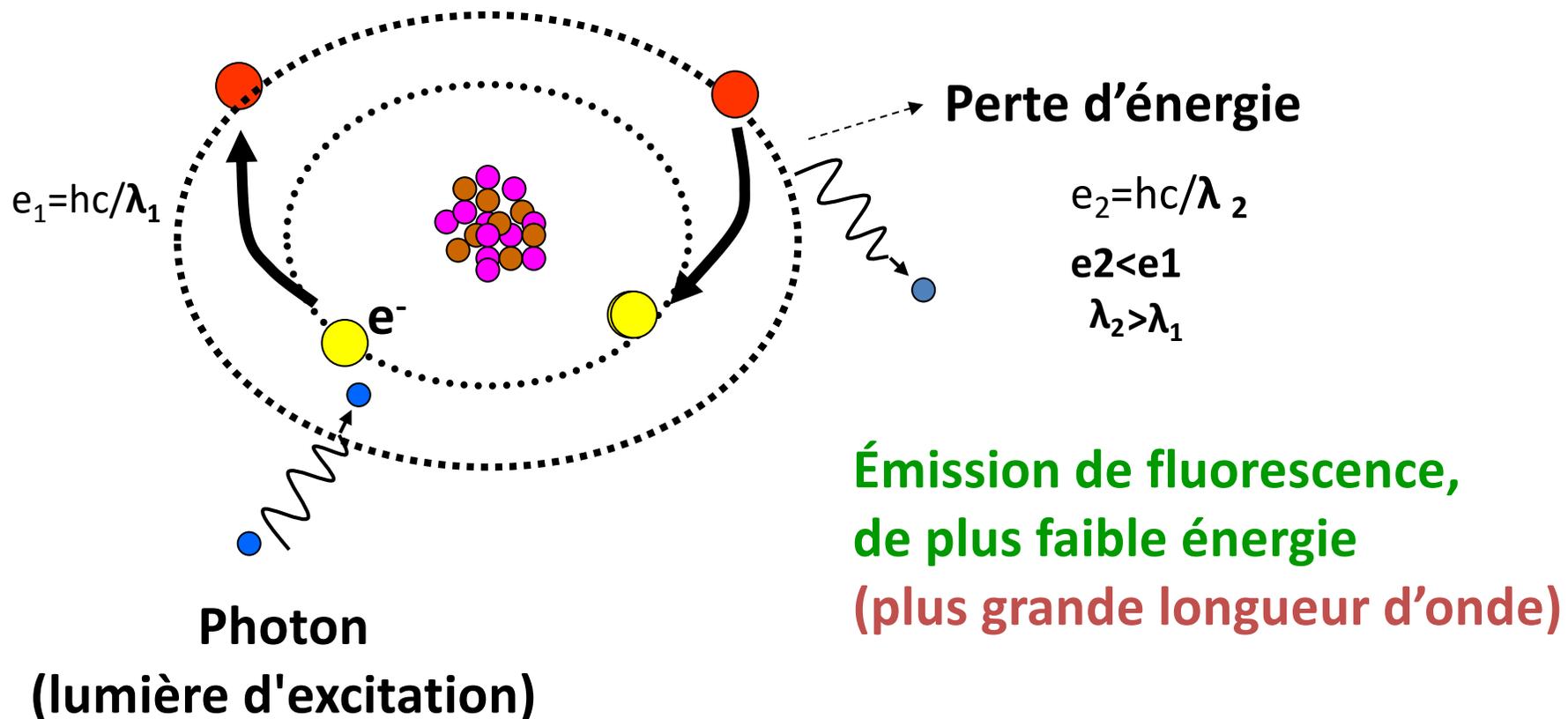
L'APPORT DE LA FLUORESCENCE EN BIOLOGIE

Qu'est-ce qu'une molécule fluorescente ?

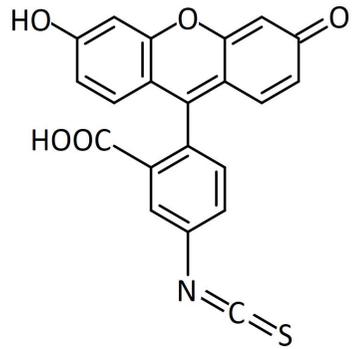
La fluorescence est caractérisée par des transitions électroniques entre un état singulet fondamental et l'état singulet excité.

La durée de vie moyenne de l'état excité est de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-7} s

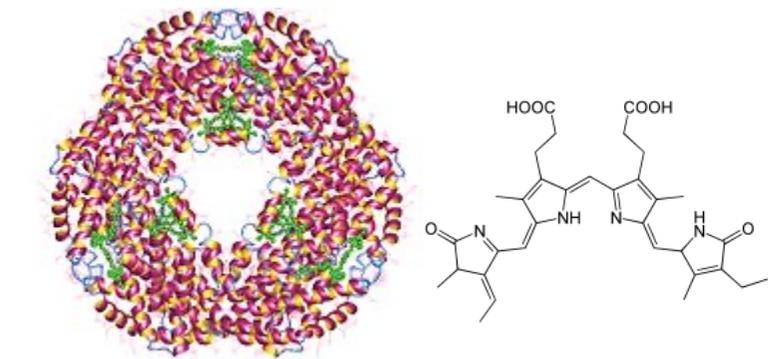
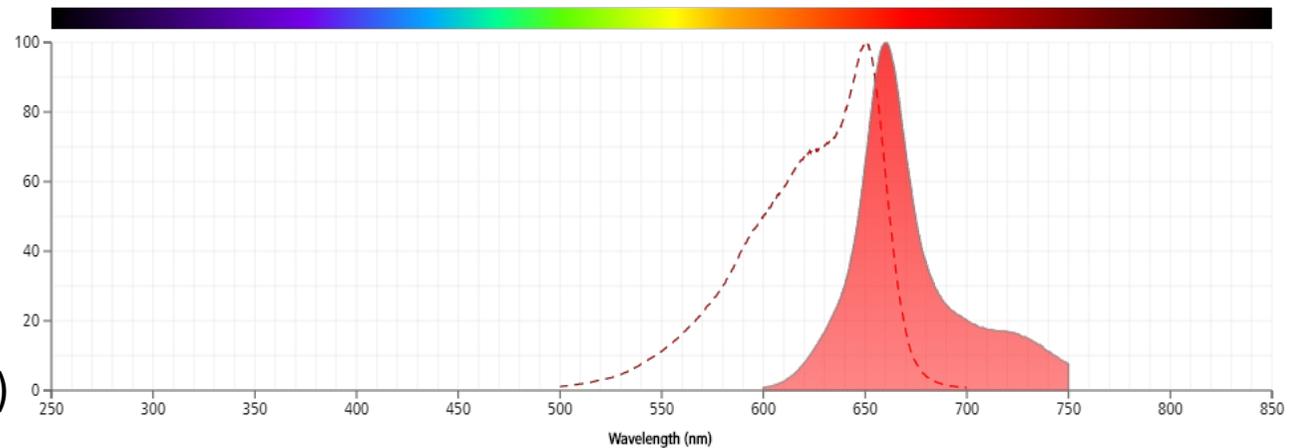
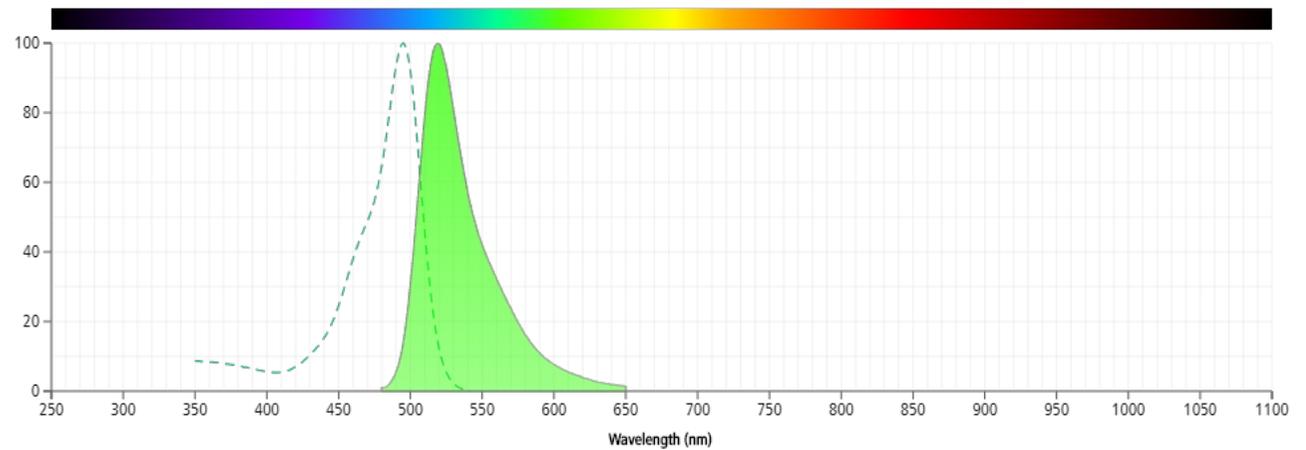
GFP : $\tau = 2,1$ ns



Exemple de fluorochromes



FITC (Fluorescein 5-isothiocyanate)
(un chromophore)



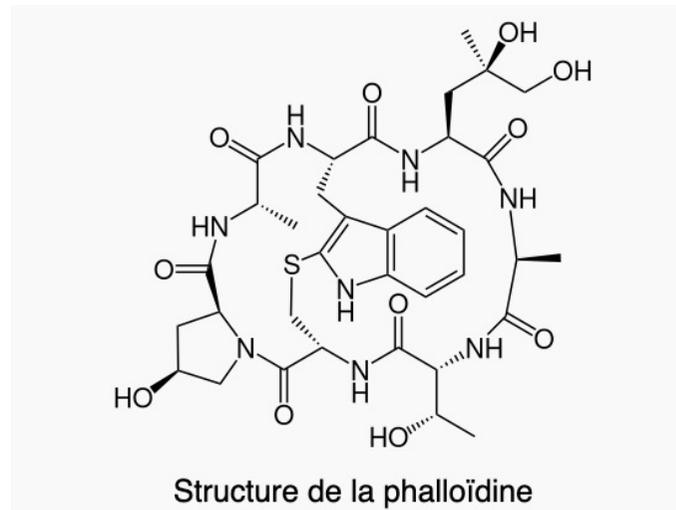
APC (Allophycocyanin + Phycocyanobilin)
(un complexe protéine + chromophore)

A RETENIR !

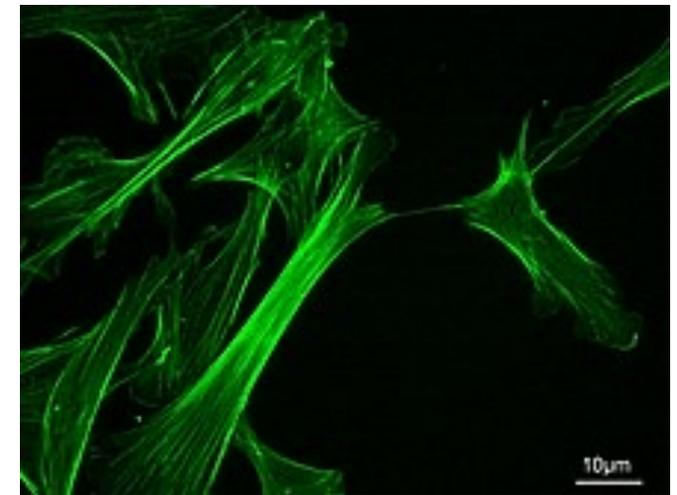
La phalloïdine, une toxine extraite de champignons tel que l'Amanite Phalloïde, se lie à l'actine, empêchant sa dépolymérisation et empoisonnant la cellule



Amanita phalloïdes



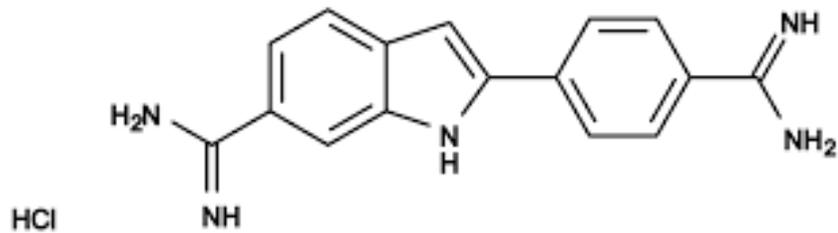
Phalloïdine
($C_{35}H_{48}N_8O_{11}S$)



Un marquage Phalloïdine-FITC permet la visualisation des microfilaments d'actine

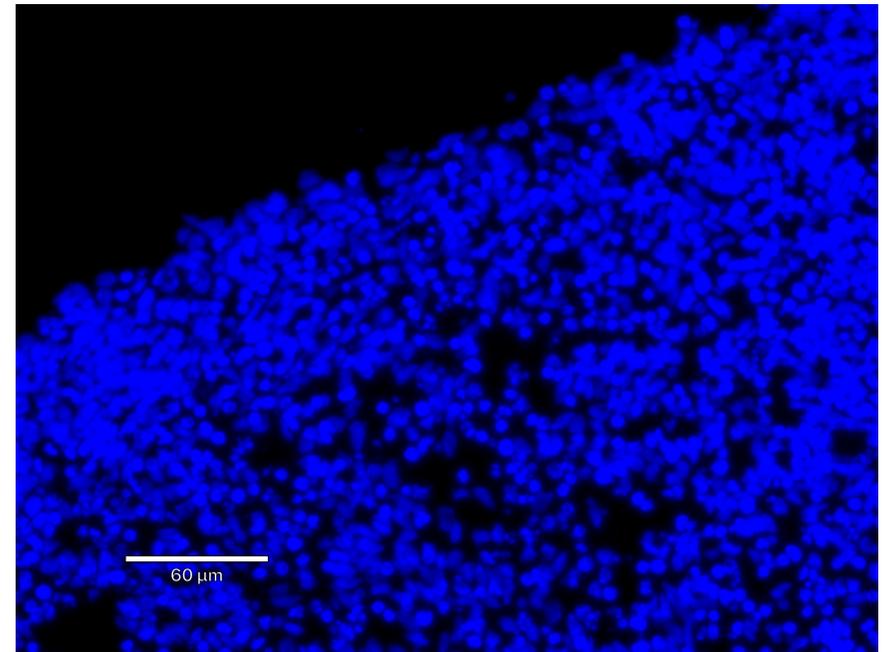
La phalloïdine conjuguée à un fluorochrome comme le FITC permet de visualiser Les microfilaments d'actine de cellules fixées

Le DAPI un fluorochrome qui se complexe sélectivement avec l'ADN double brin (bases Adénine et Thymine).



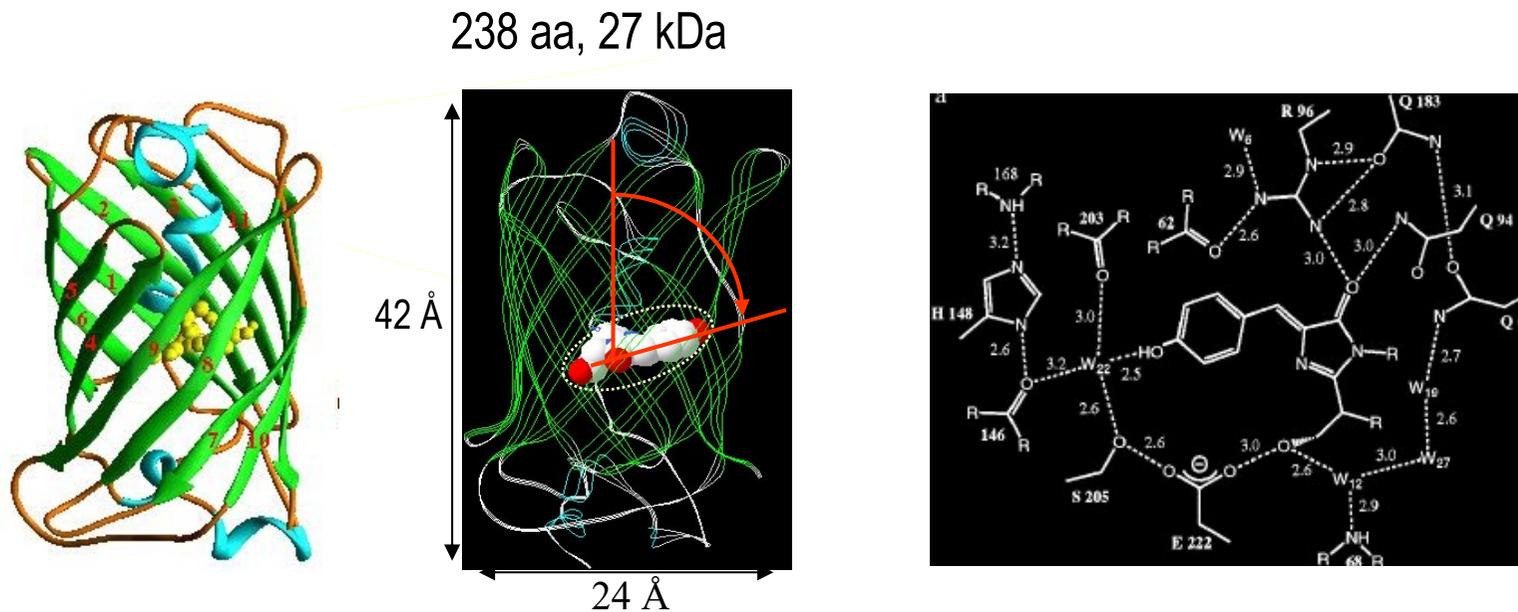
4',6'-diamidino-2-phénylindole (DAPI)

(longueur d'onde d'excitation env 350 nm
Longueur d'onde d'émission env 460 nm)



LA PROTÉINE GFP (Green Fluorescent Protein)

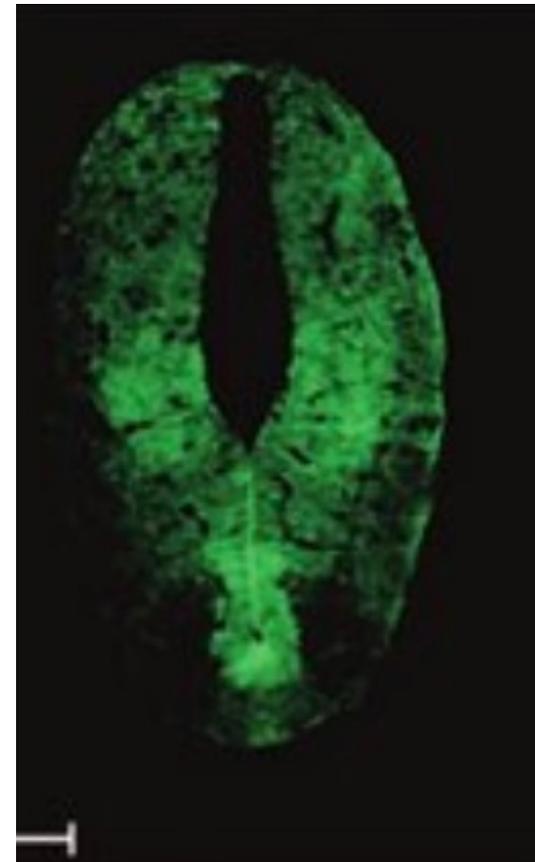
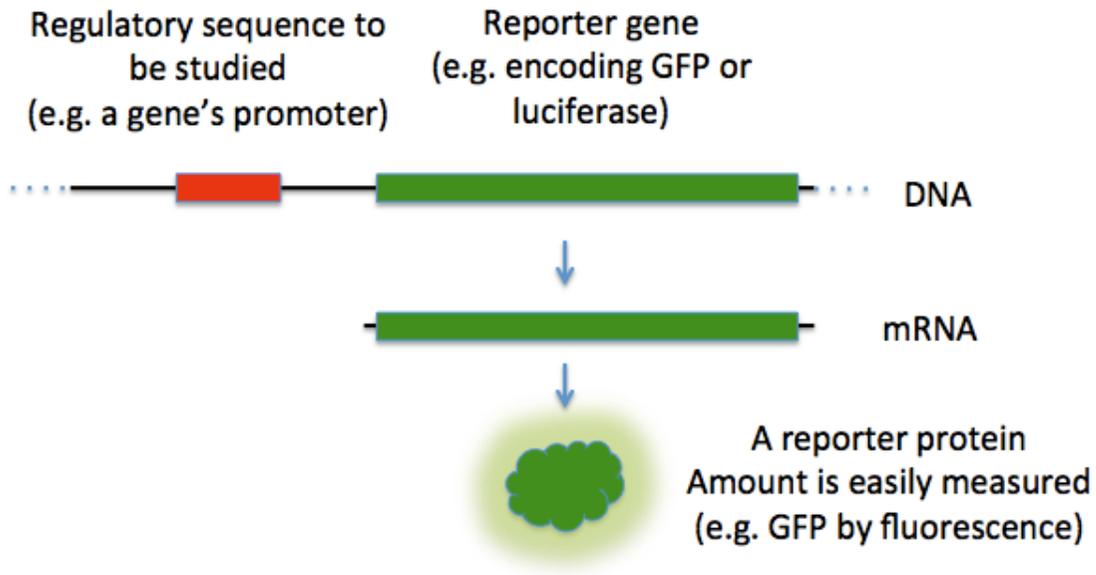
Structure de la GFP



- ▶ Structure cylindrique en tonneau (« β can »). A l'intérieur une hélice alpha avec le chromophore
- ▶ Réseau de liaisons H = primordial pour l'obtention de l'émission de fluorescence

UTILISATION DE RAPPORTEURS GFP

A RETENIR !



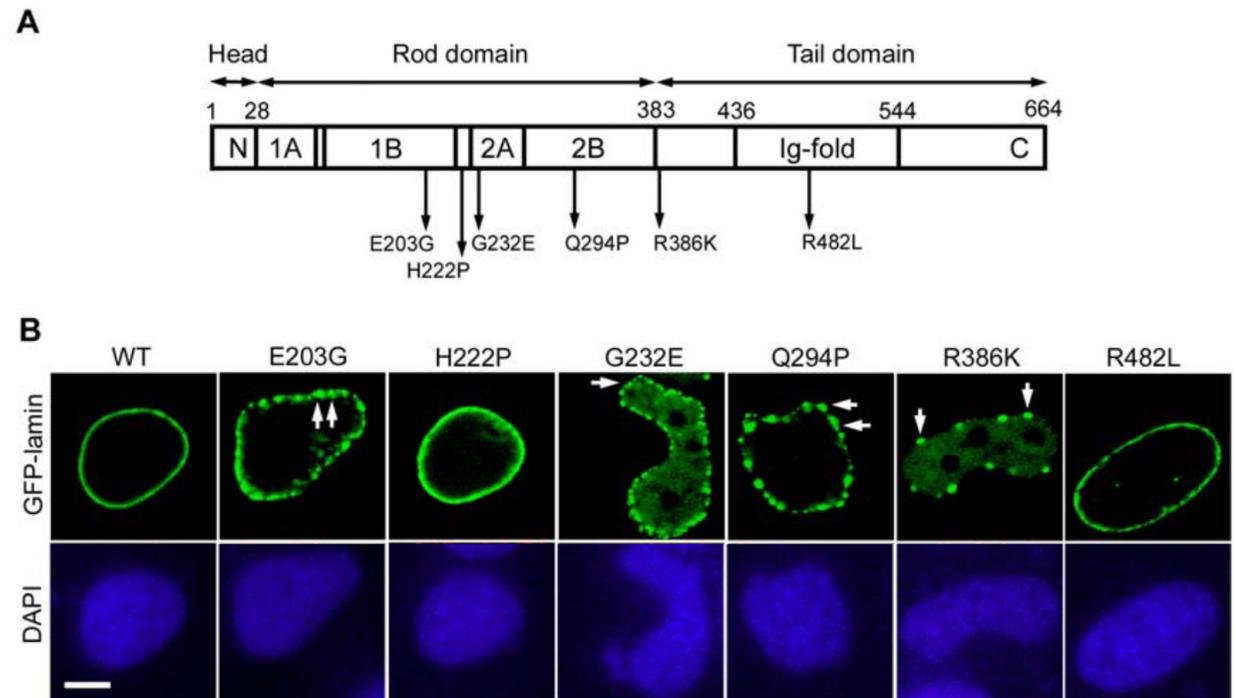
10.5 dpc Sox2-GFP mice (neural tube)

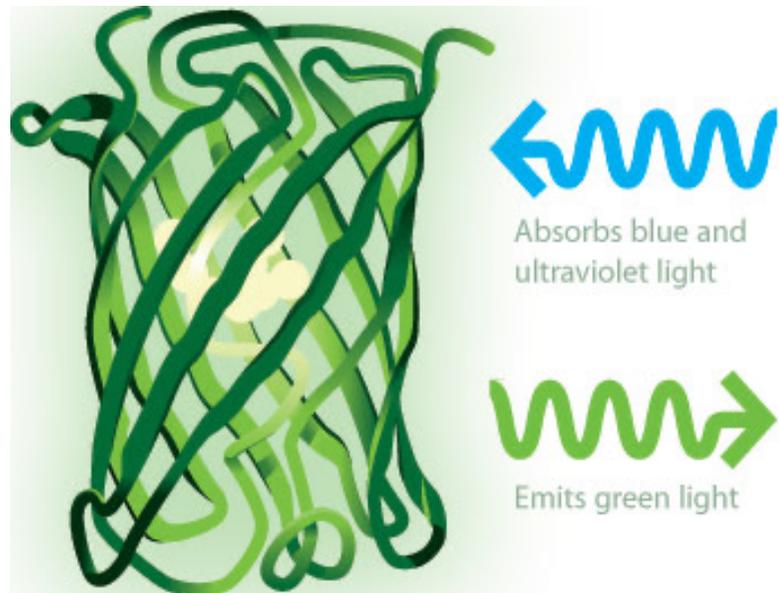
LES PROTÉINES DE FUSION GFP

Principe



Exemple: GFP-Lamine A





The Nobel Prize in Chemistry 2008



Photo: U. Montan
Osamu Shimomura
Prize share: 1/3

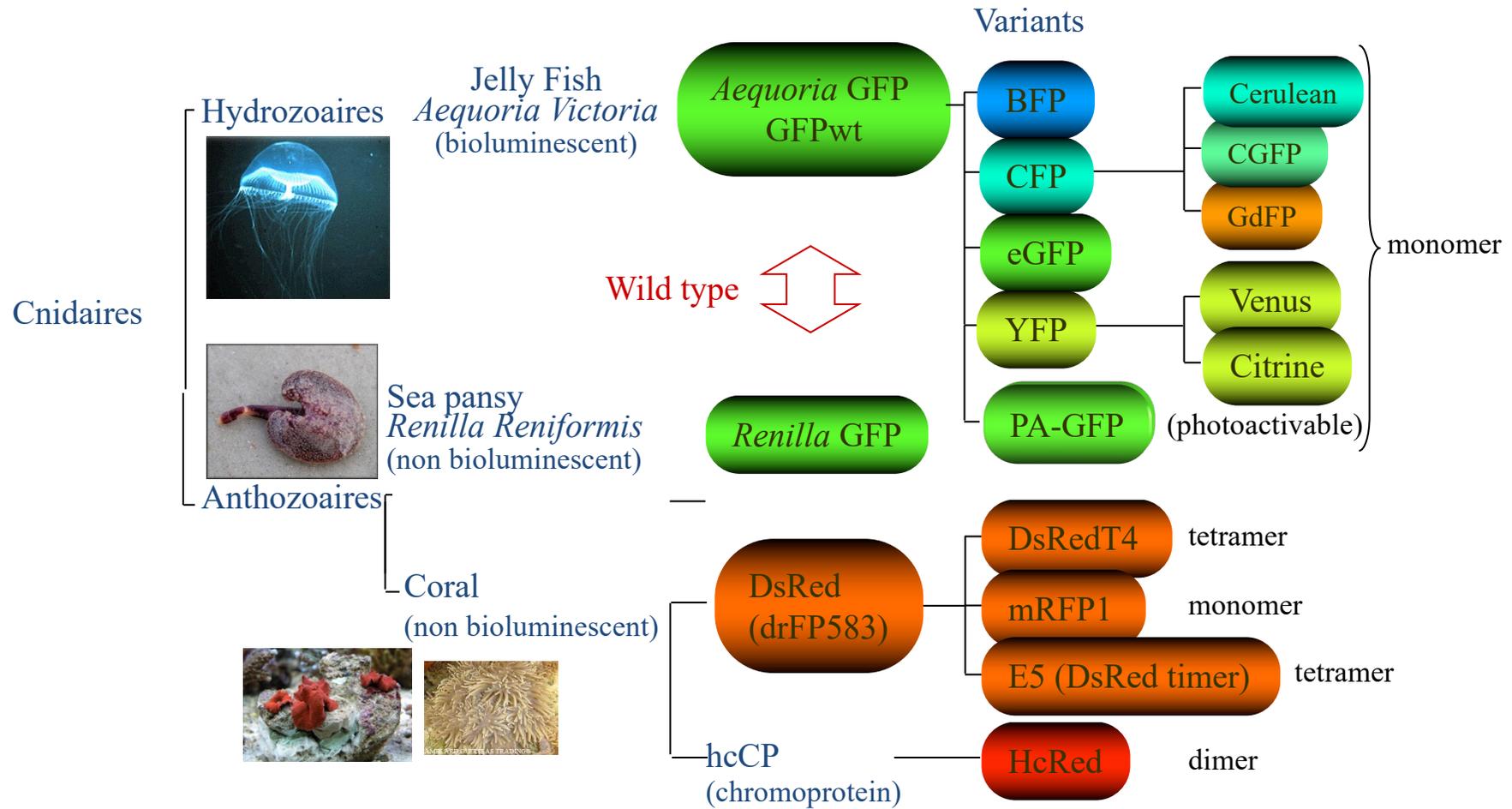


Photo: U. Montan
Martin Chalfie
Prize share: 1/3

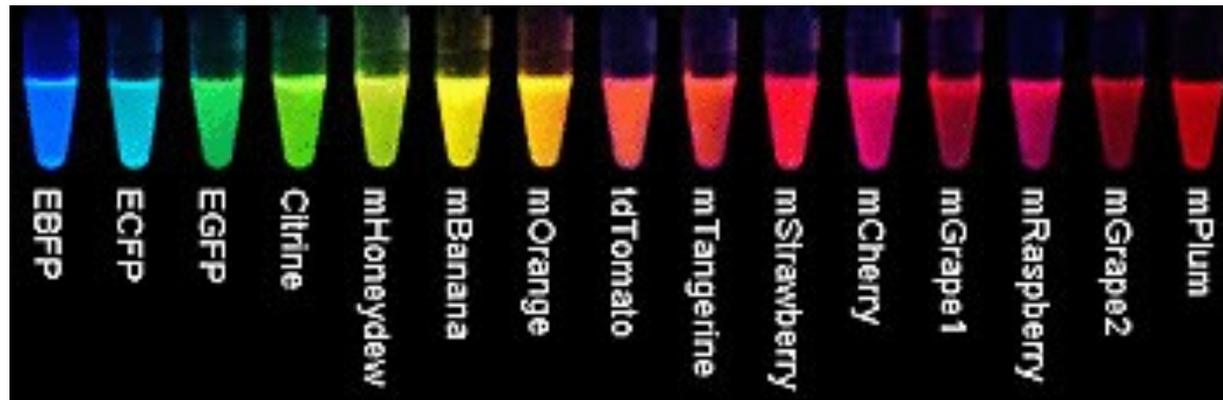


Photo: U. Montan
Roger Y. Tsien
Prize share: 1/3

LES PROTÉINES FLUORESCENTES



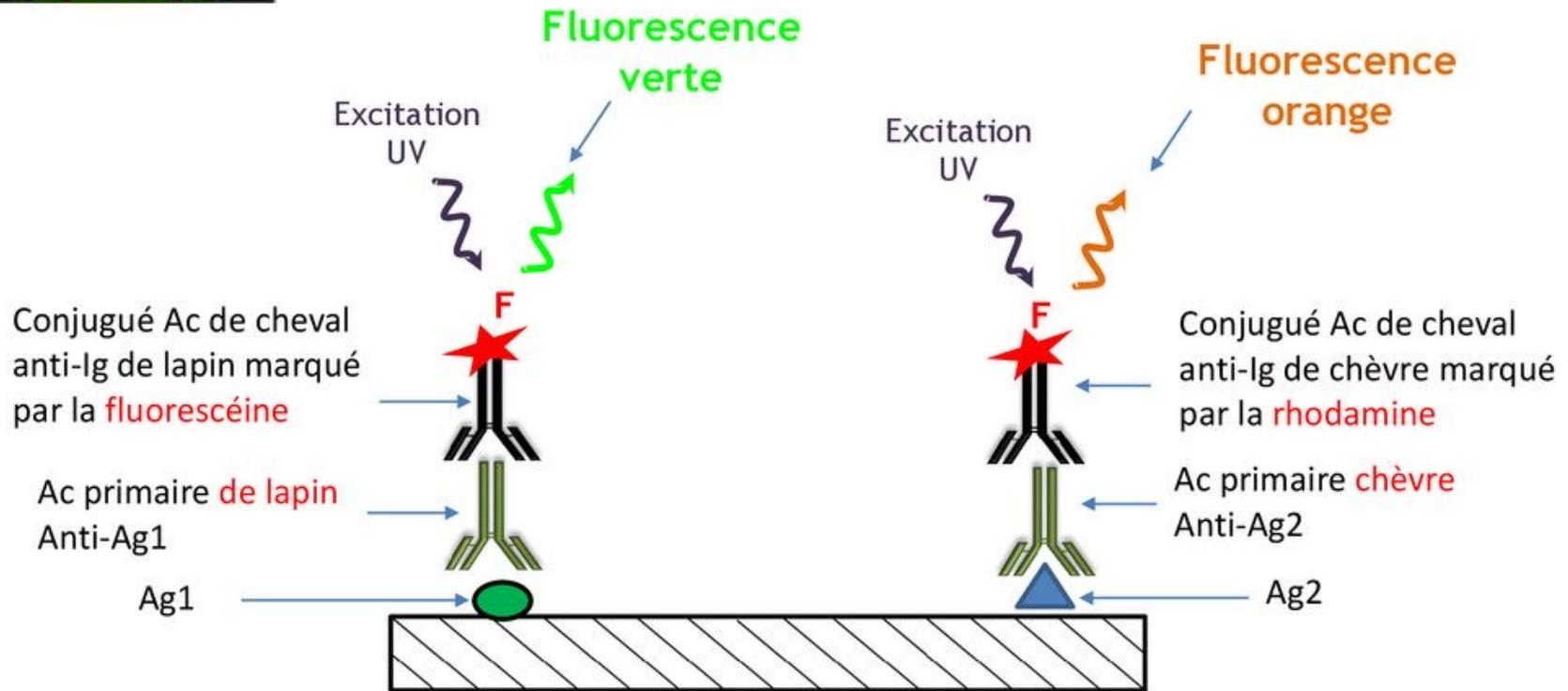
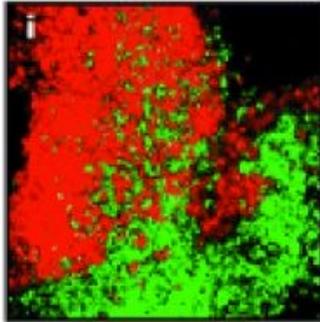
Commercial FP:



IMMUNOFLUORESCENCE

A RETENIR !

DOUBLE MARQUAGE (INDIRECTE)

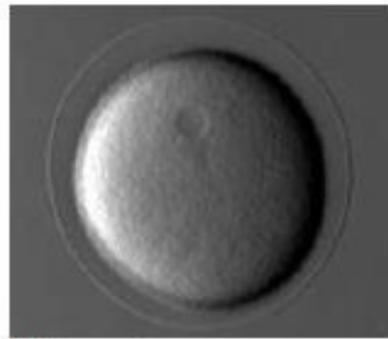


détection simultanée de deux antigènes dans une coupe de tissu par technique d'immunofluorescence indirecte UTILISANT 2 MARQUEURS

Biologie cellulaire ?

**Comprendre la structuration de la cellule
+ son fonctionnement
+ son évolution**

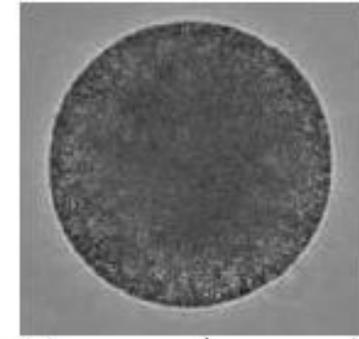
Une cellule unique est à la base de tous les organismes pluricellulaires



(A) 100 μm



(C) 50 μm



(E) 50 μm



Les origines du vivant

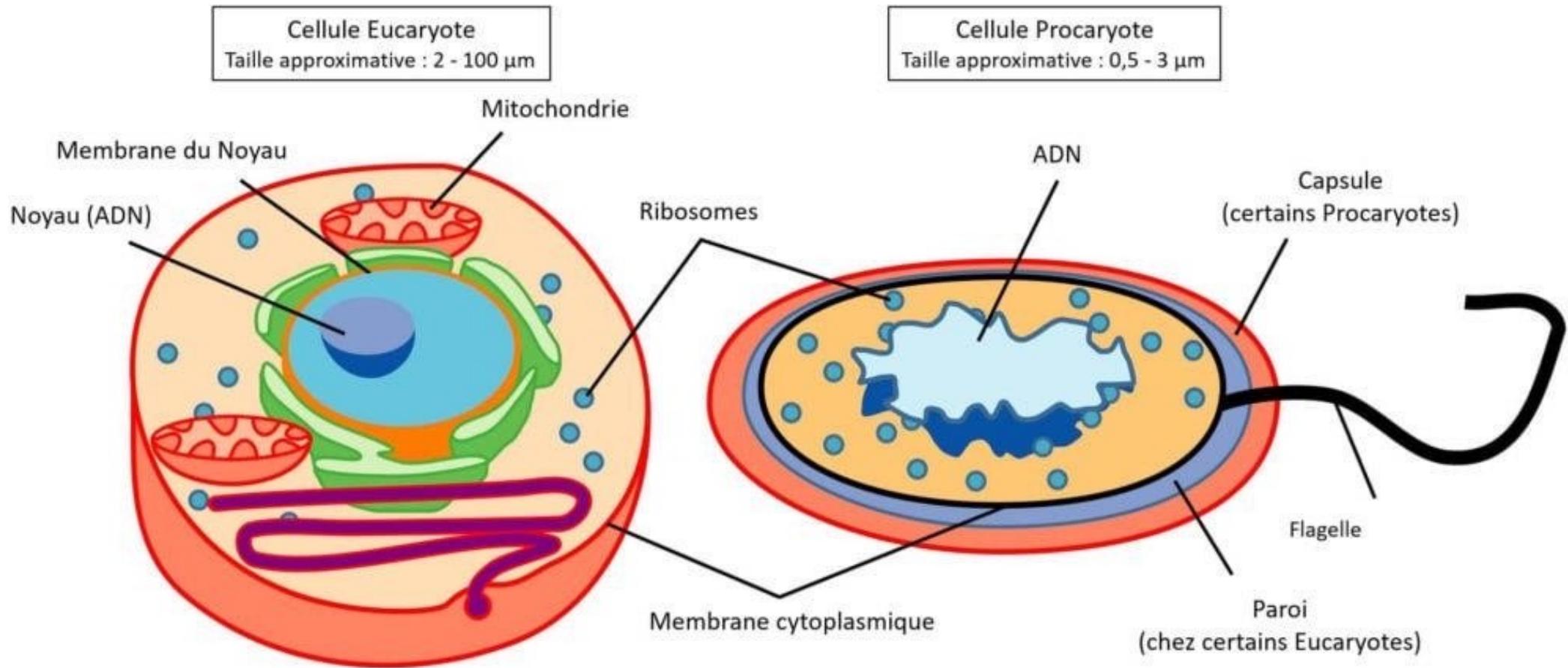
4.5 Mds d'années: formation de la Terre

≈ 3.8 Mds d'années: apparition des premières cellules → procaryotes

≈ 2 Mds d'années: apparition des premières cellules avec organites → eucaryotes

≈ 1.5 Mds d'années: apparition des algues = premiers organismes multicellulaires

procaryote vs. eucaryote



Apparition de membranes internes/organites

Les trois divisions du monde vivant

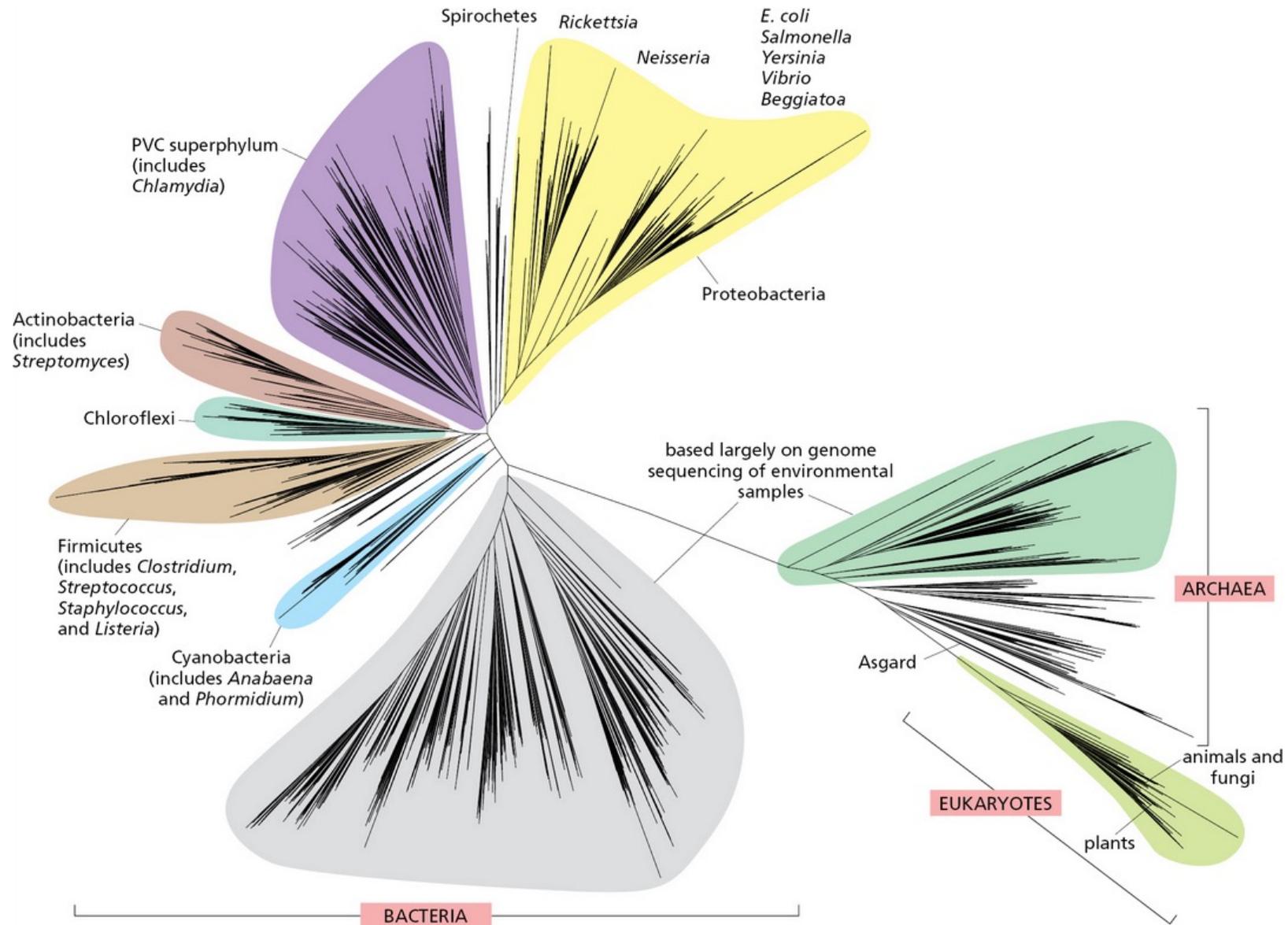
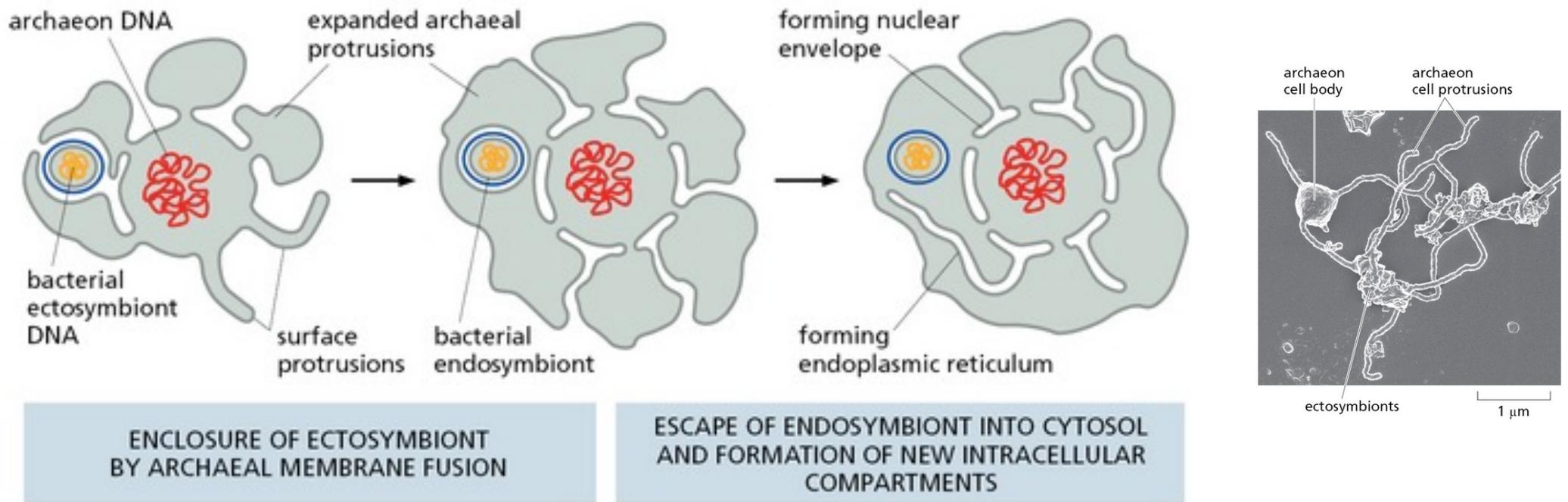


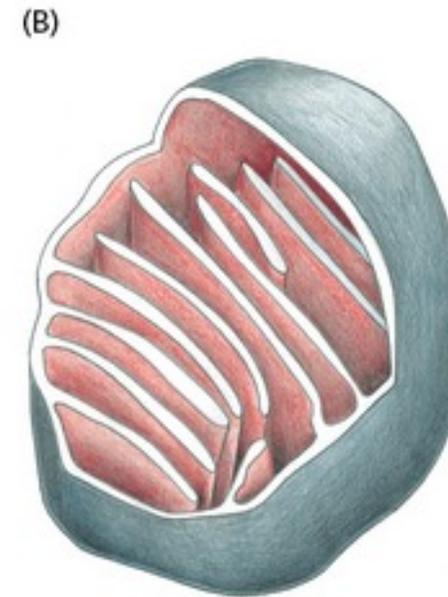
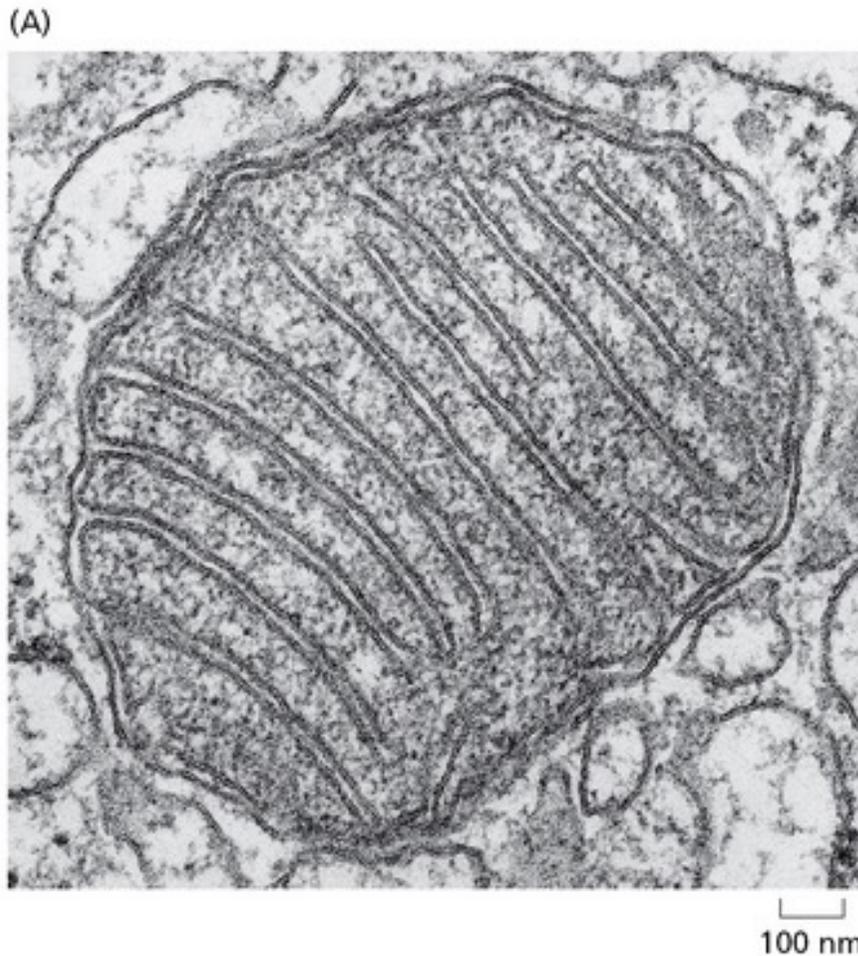
Schéma de divergence des espèces au cours de l'évolution établi sur la base de la comparaison des génomes.

Evolution procaryote vers eucaryote = théorie endosymbiotique

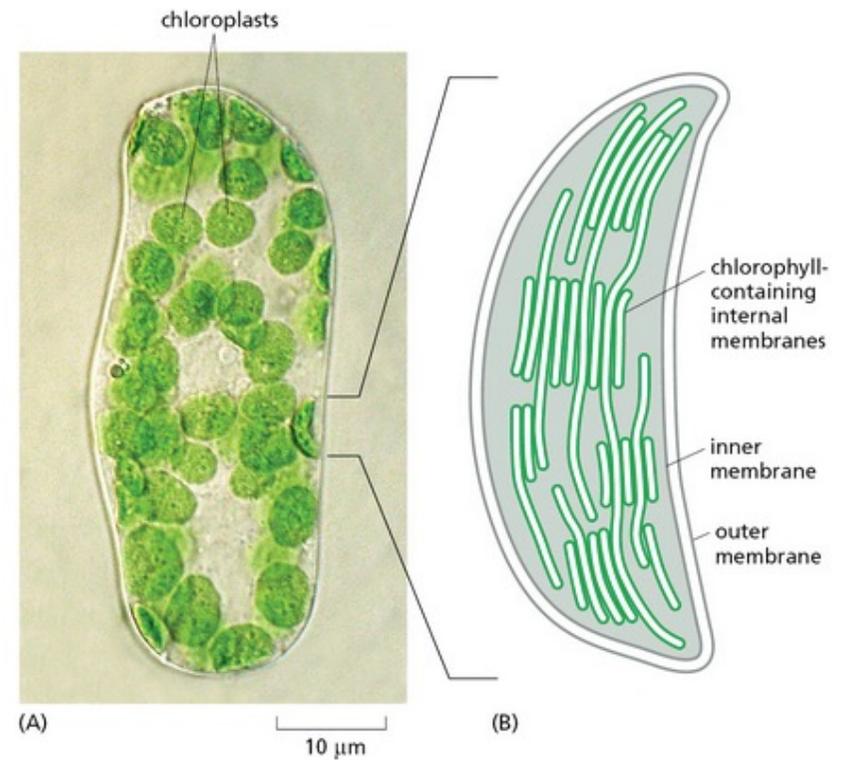
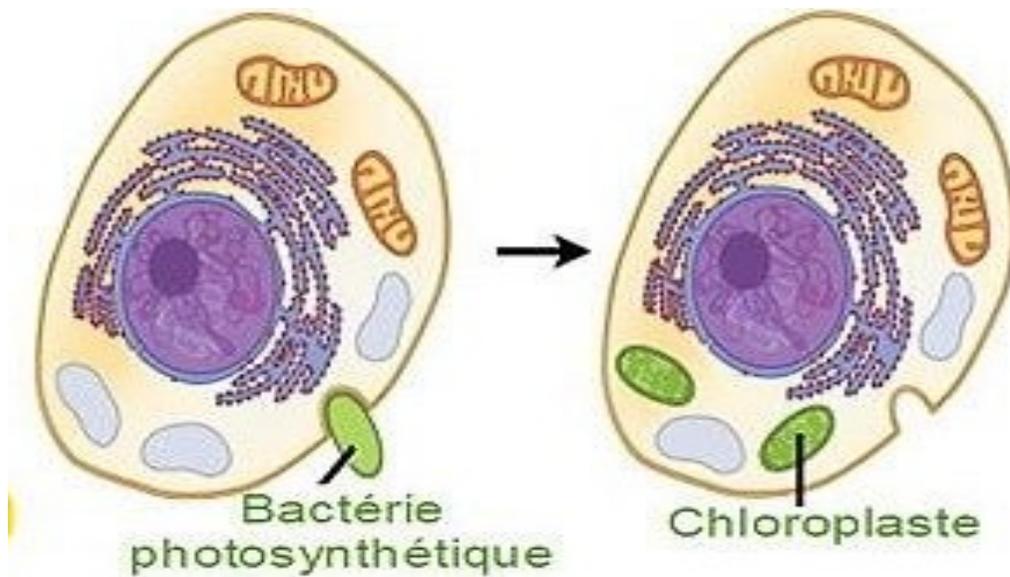


La première cellule eucaryote aurait pour origine une relation symbiotique résultant de l'internalisation d'une bactérie aérobie et d'une archée anaérobie.

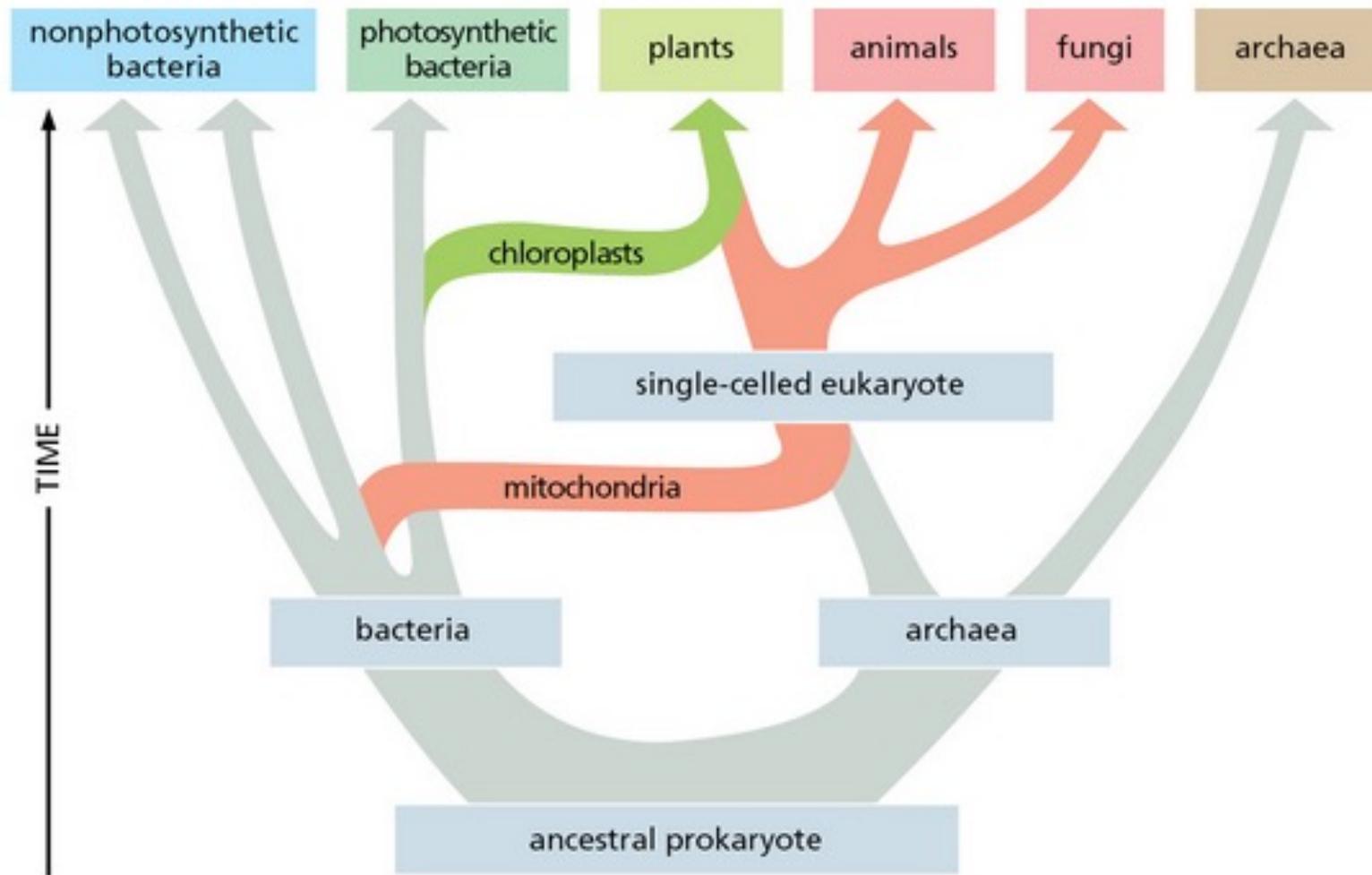
Les mitochondries résulteraient de l'évolution d'une bactérie aérobique capturée par une cellule anaérobique



Apparition de la première cellule végétale et évolution des chloroplastes

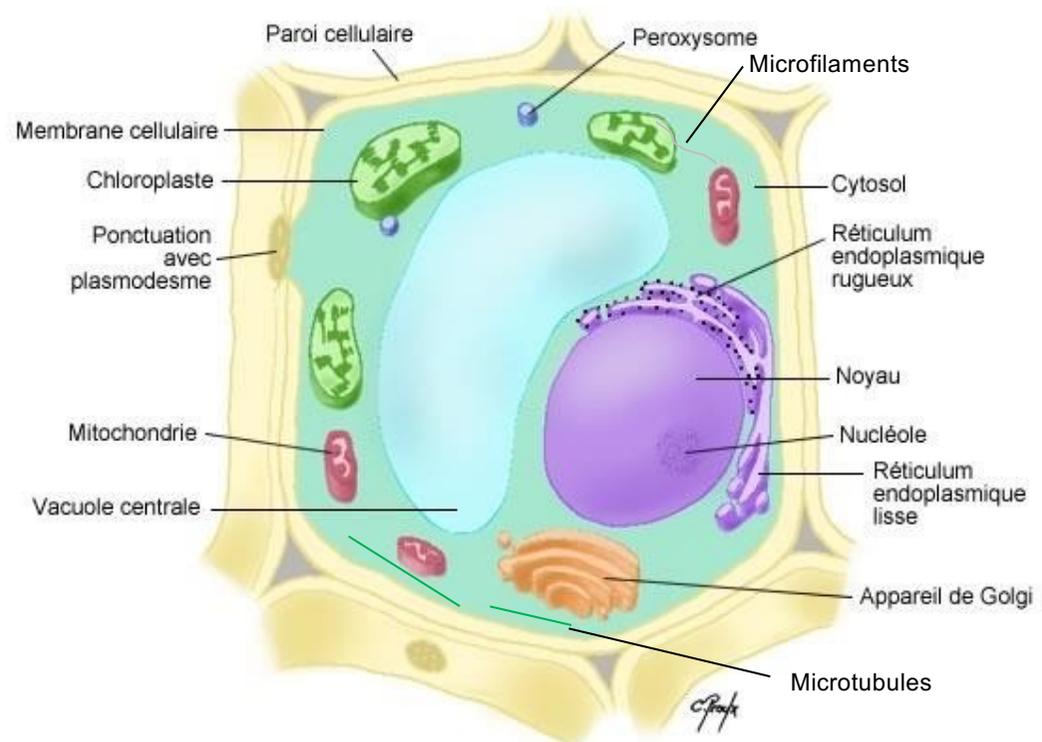
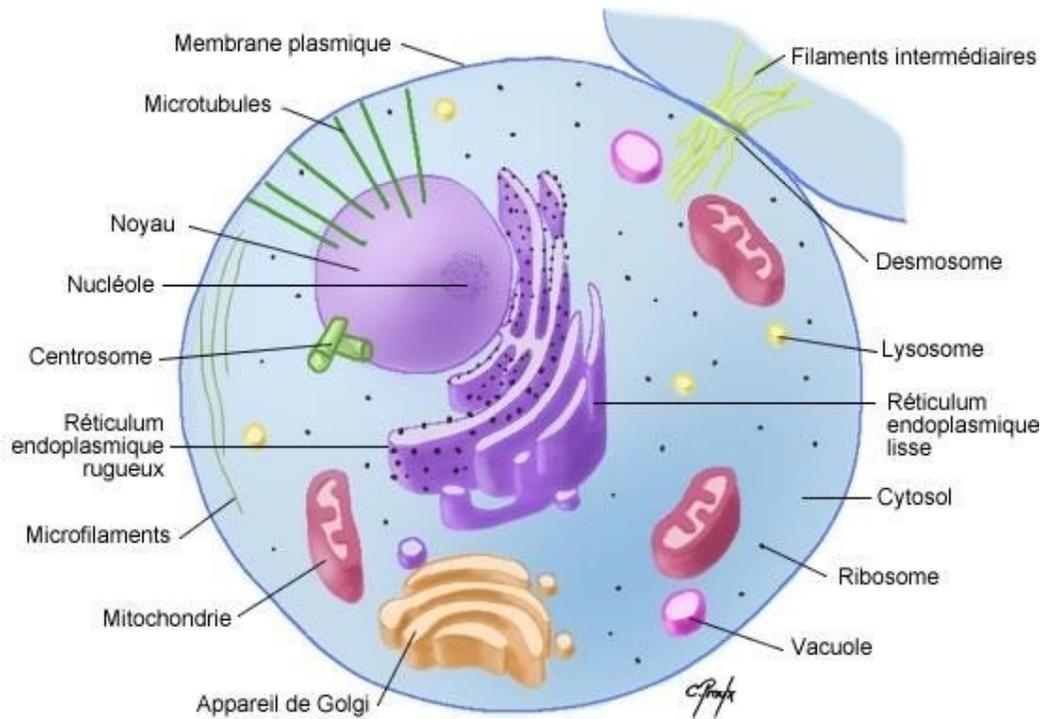


Modèle d'évolution des cellules eucaryotes



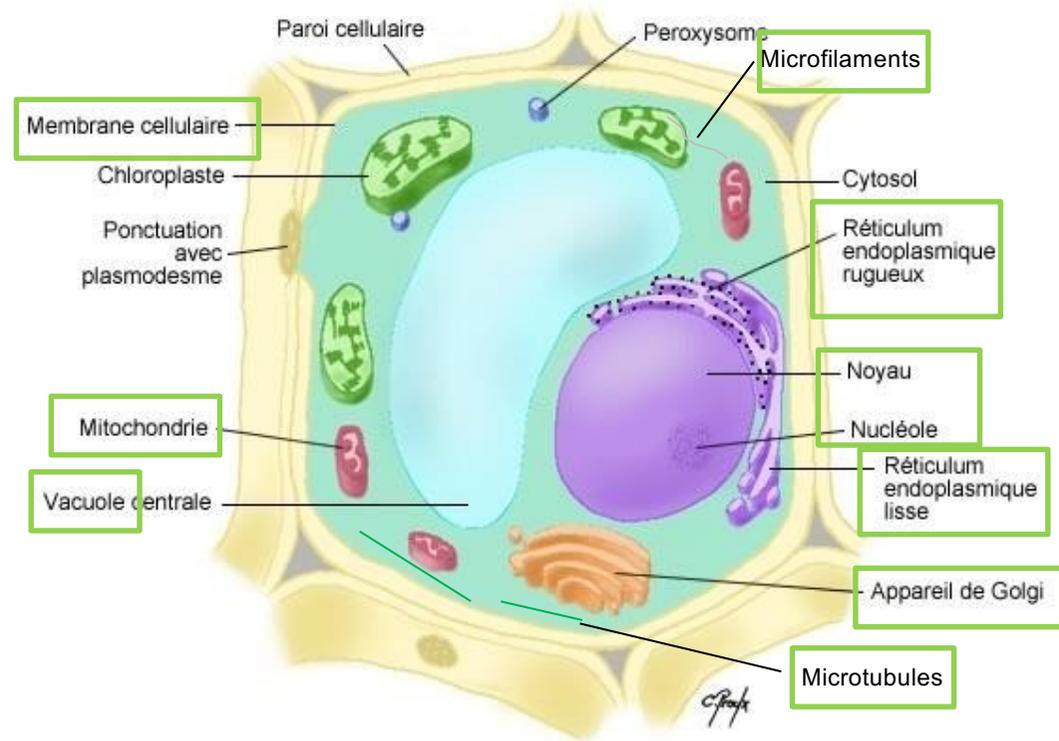
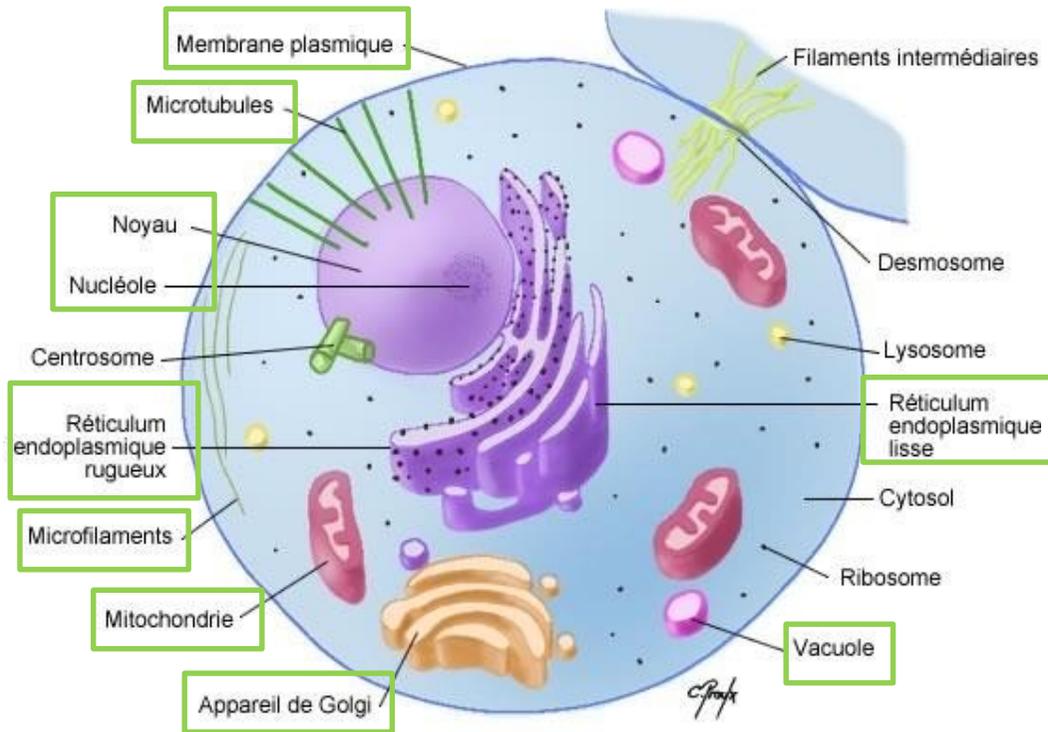
animal vs. végétal

A RETENIR !



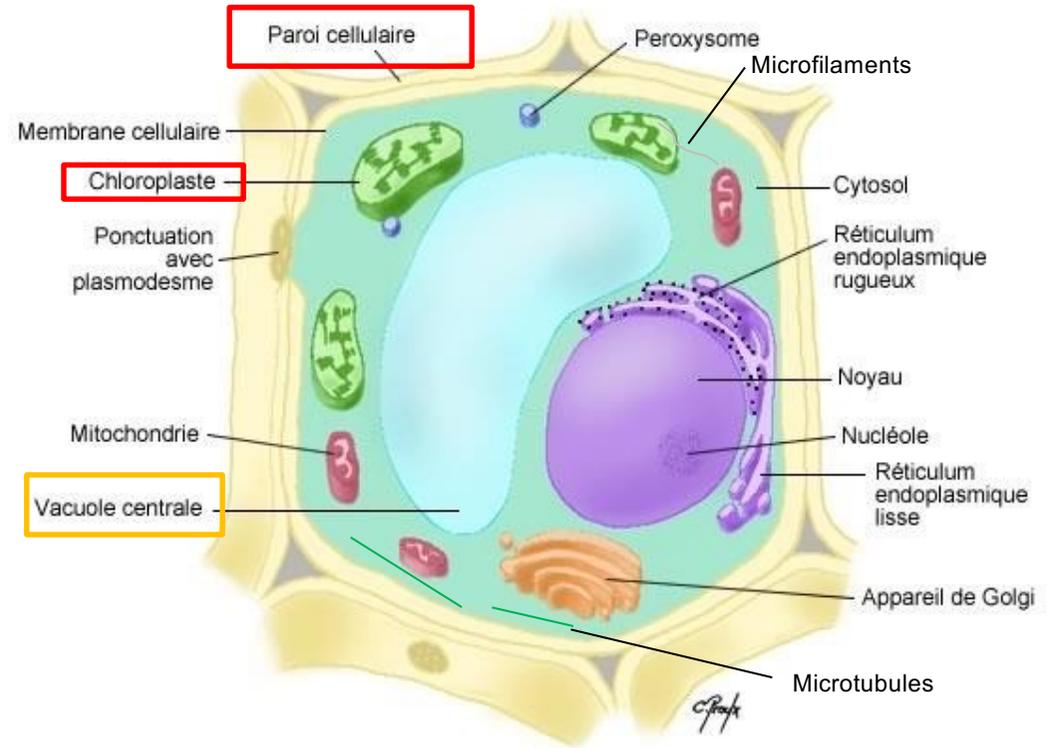
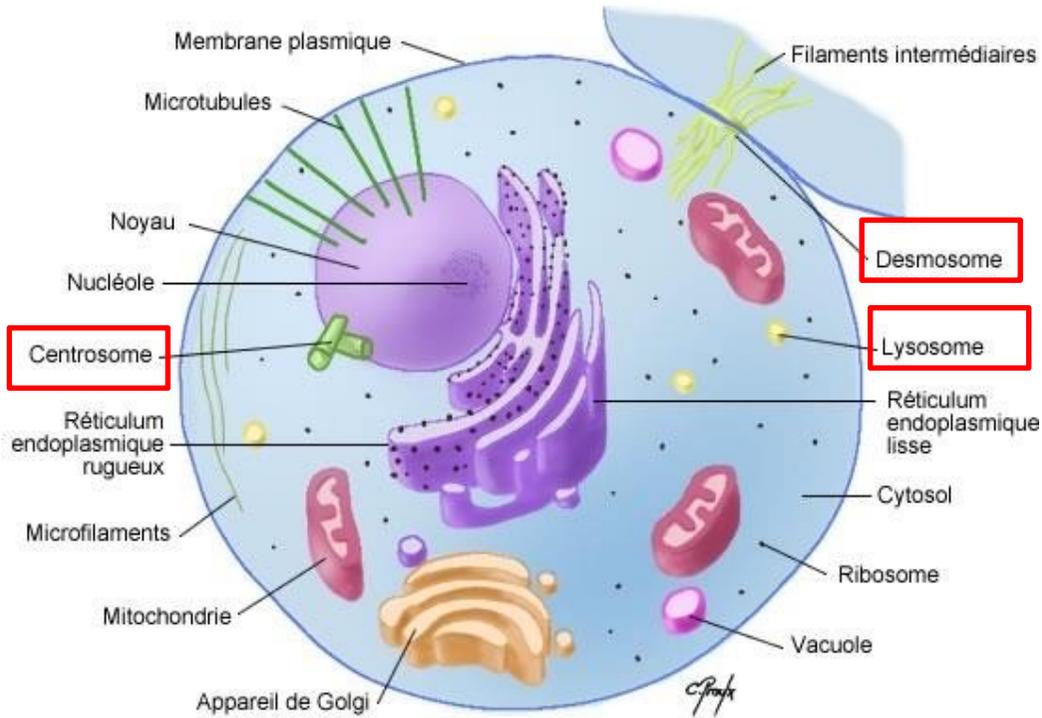
Point commun et différences ?

animal vs. végétal



Points communs

animal vs. végétal



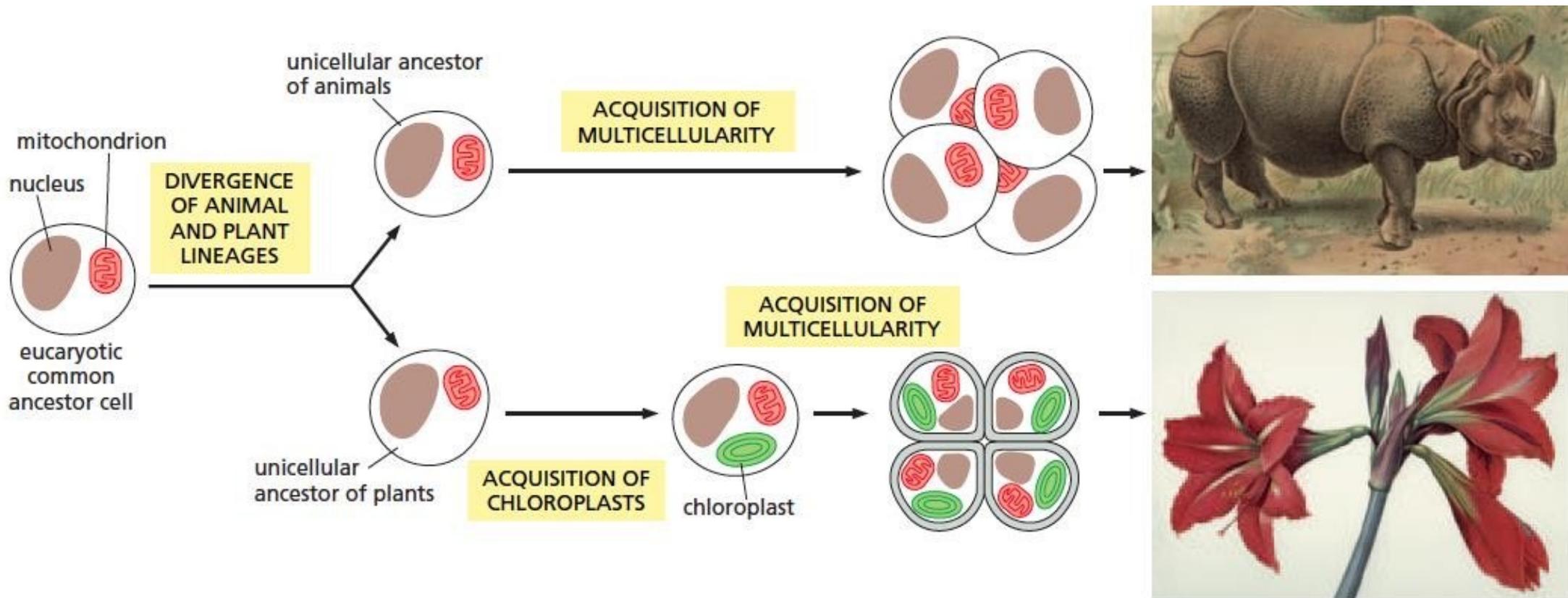
Différences

Complexité de la cellule eucaryote

coexistence de « cellules » dans 1 cellule eucaryote:

- . existence de compartiments distincts délimités par des membranes = organites membranaires
 - . existence de domaines cytoplasmiques « différents »
 - . existence de plusieurs génomes: nucléaire, mitochondrial, chloroplastique
- avec toute la machinerie « d'entretien et d'utilisation »: polymérase, ribosomes... autonomie partielle
- Rq: mitochondries et plastes \approx bactéries...

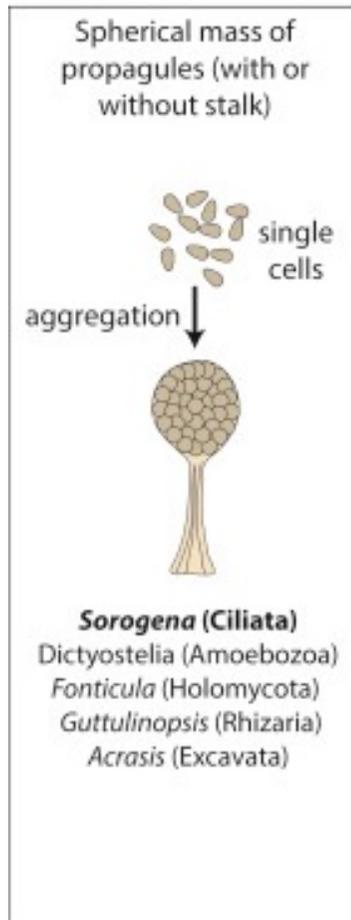
Naissance des organismes multicellulaires



La multicellularité est apparue de nombreuses fois de façon indépendantes chez les eucaryotes (et aussi chez les procaryotes)

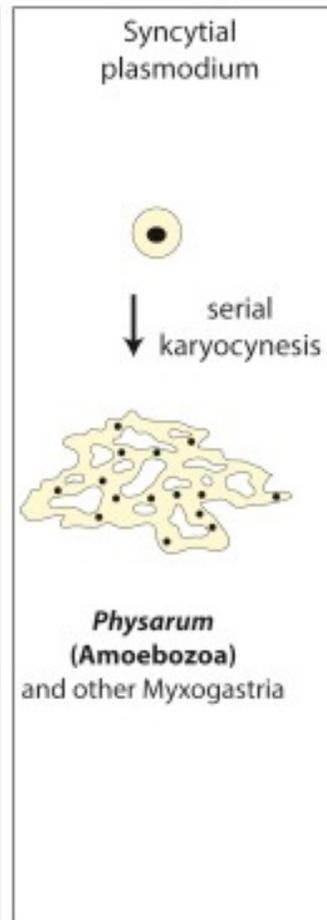
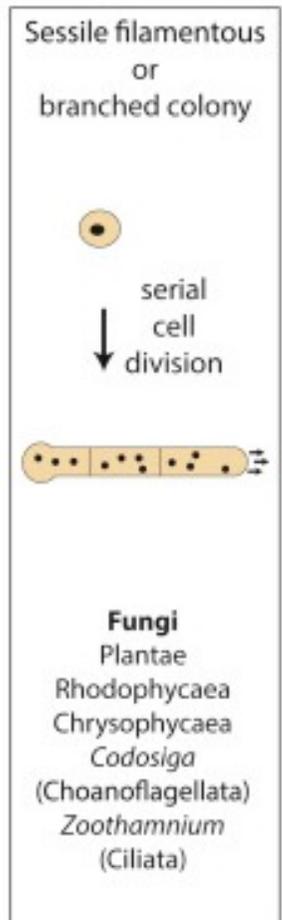
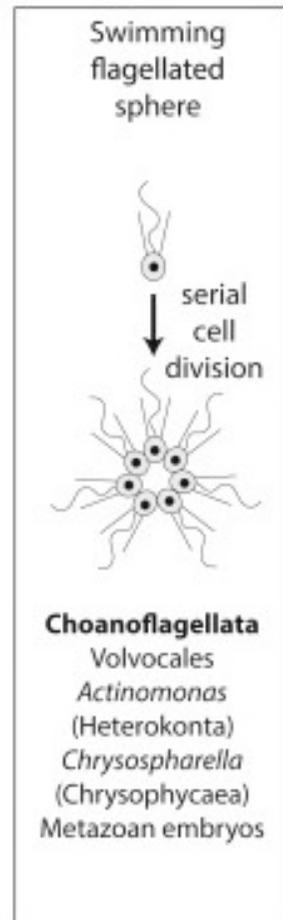
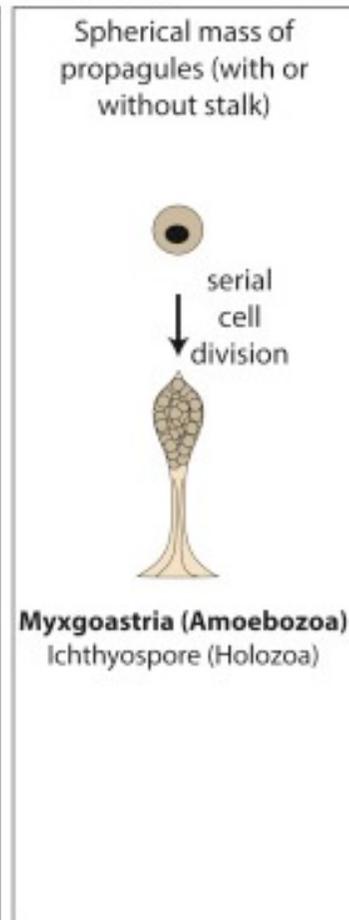
Les formes agrégatives et clonales de la multicellularité

B Aggregative forms



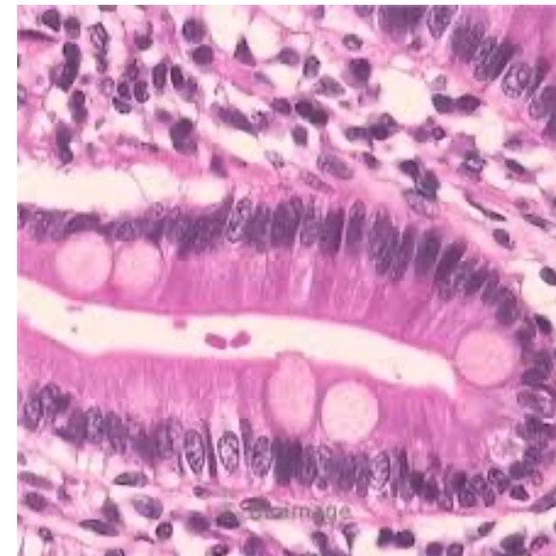
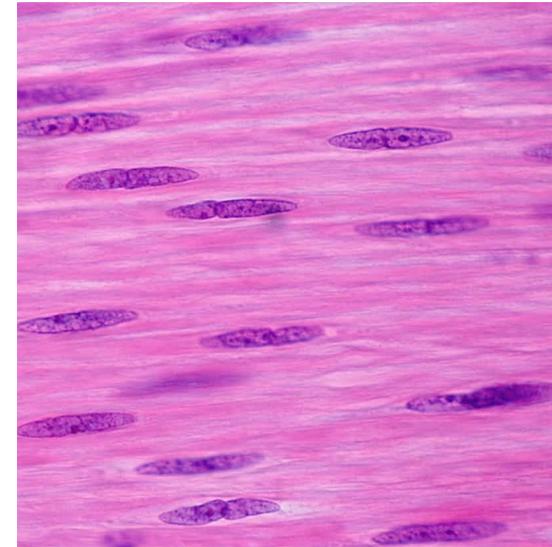
C

Clonal forms

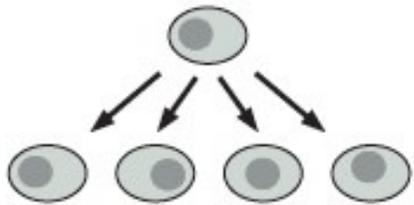


Les organismes multicellulaires sont:

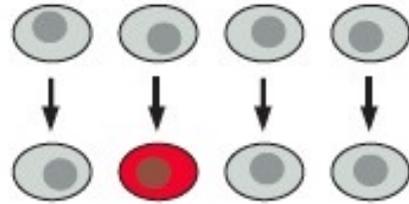
- produits à partir d'une cellule unique
 - composés de cellules distinctes (formes et fonctions différentes) organisées en tissus, organes et appareils
- humain: 35×10^{12} cellules
 - 2×10^7 cellules se divisent par seconde
 - 220 tissus différents.



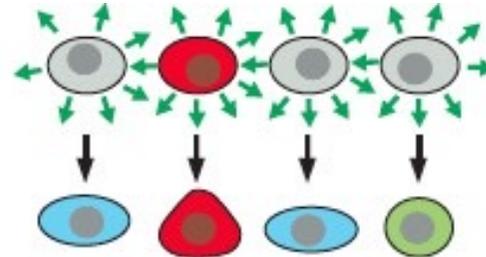
Comment créer un organisme multicellulaire ?



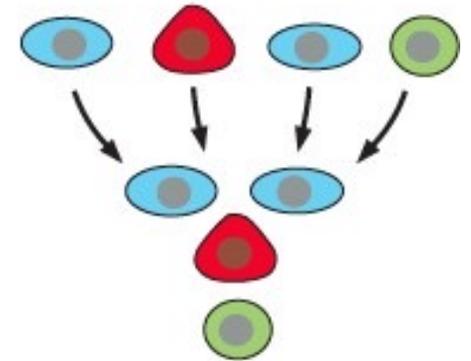
CELL PROLIFERATION



CELL SPECIALIZATION



CELL INTERACTION

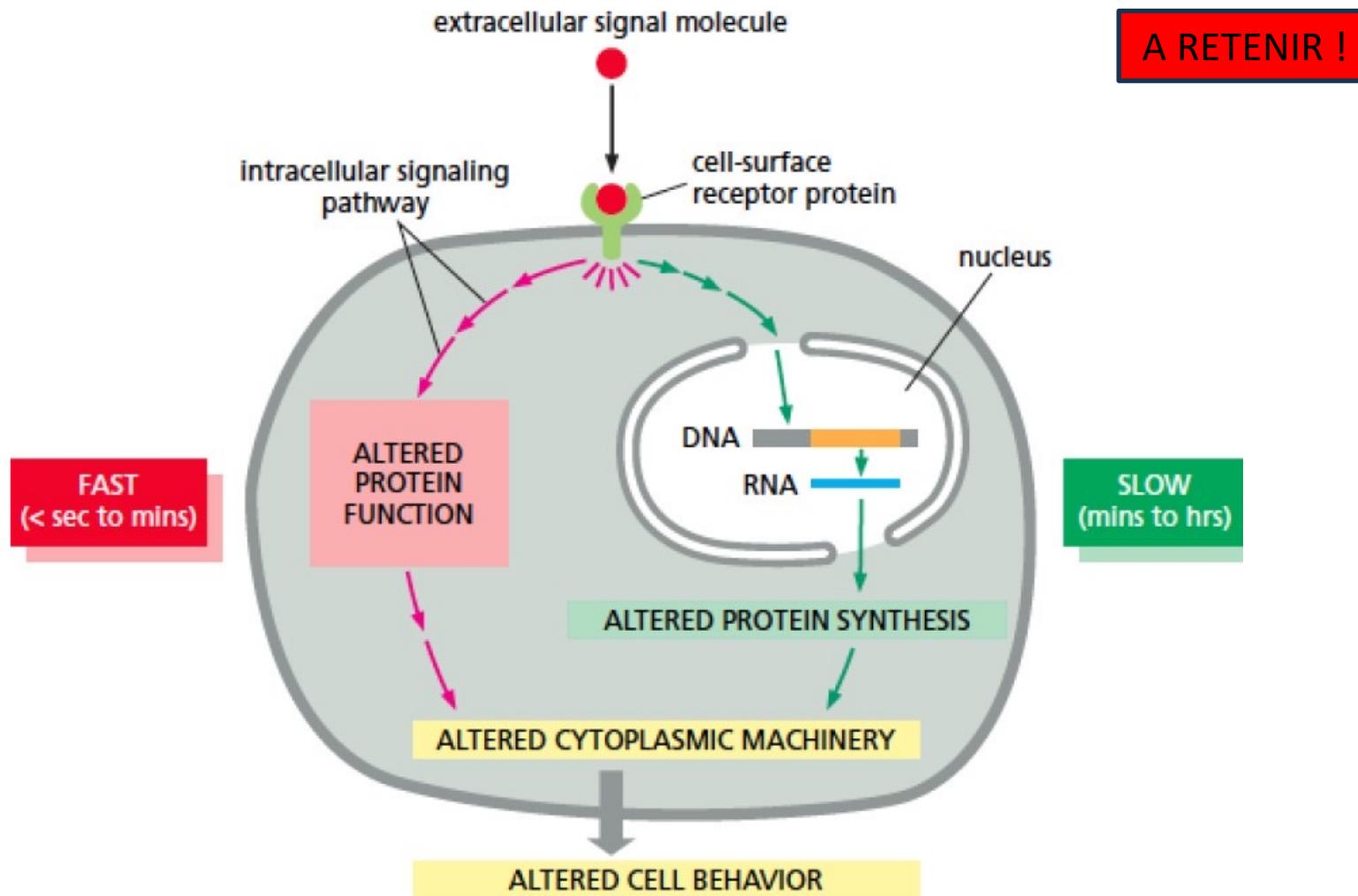


CELL MOVEMENT



LA SIGNALISATION CELLULAIRE

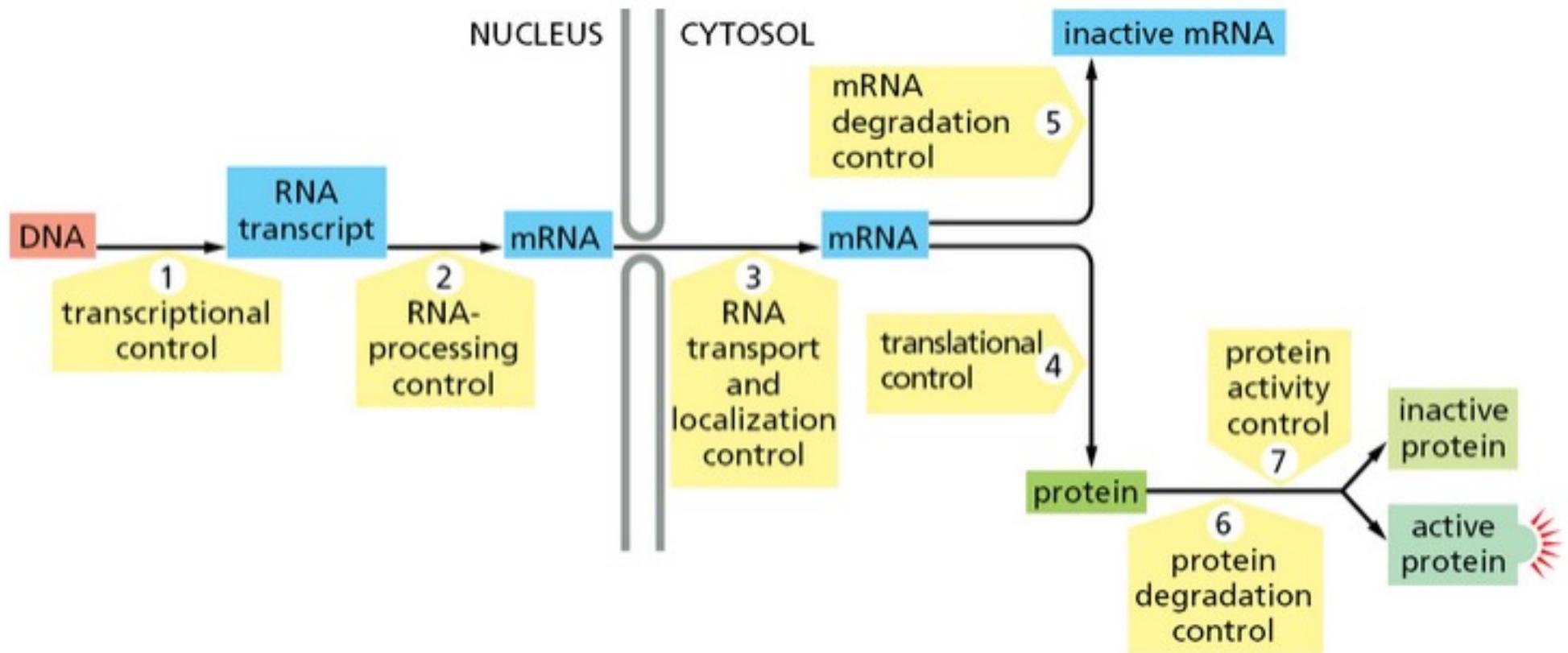
Signalisation... le principe



→ importance lors du développement

Etapes clés de contrôle de l'expression des gènes eucaryotes

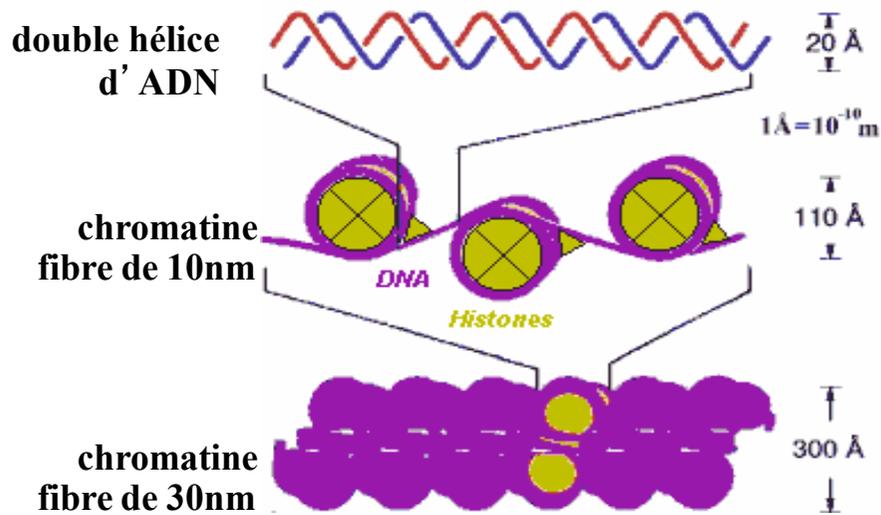
A RETENIR !



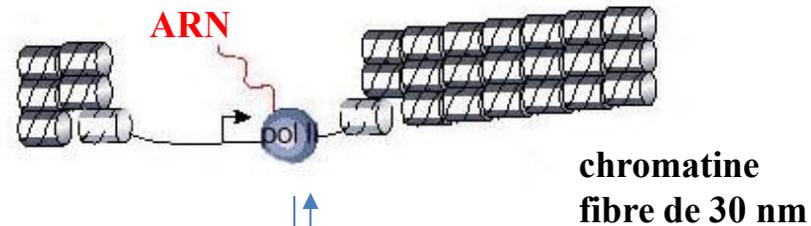
L'expression des gènes dépend du degré de compaction de la chromatine

A RETENIR !

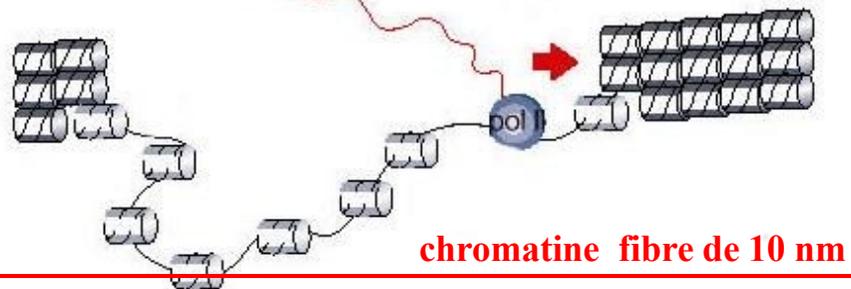
Nucléosome: (H2A H2B H3 H4) X2
Pontage entre nucléosomes: H1



Initiation

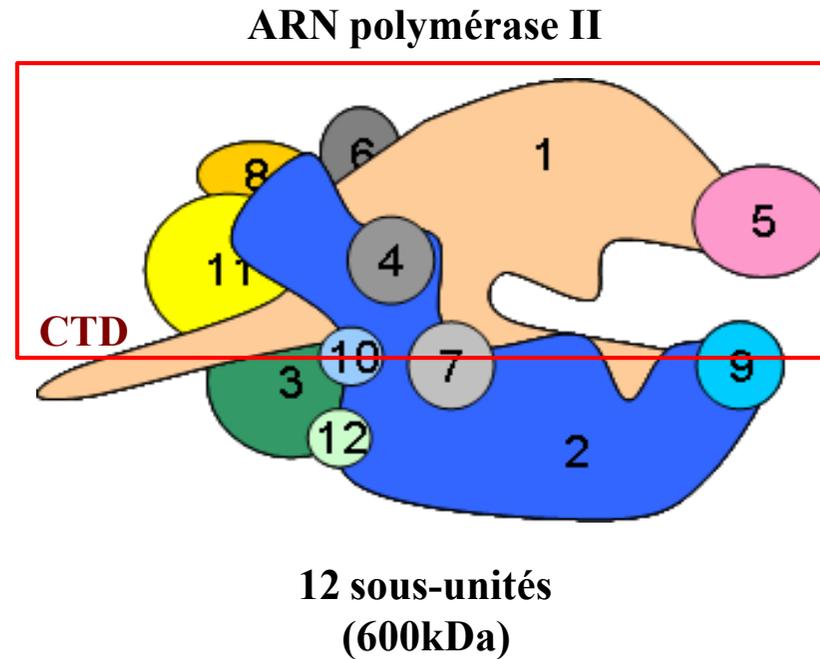


Elongation



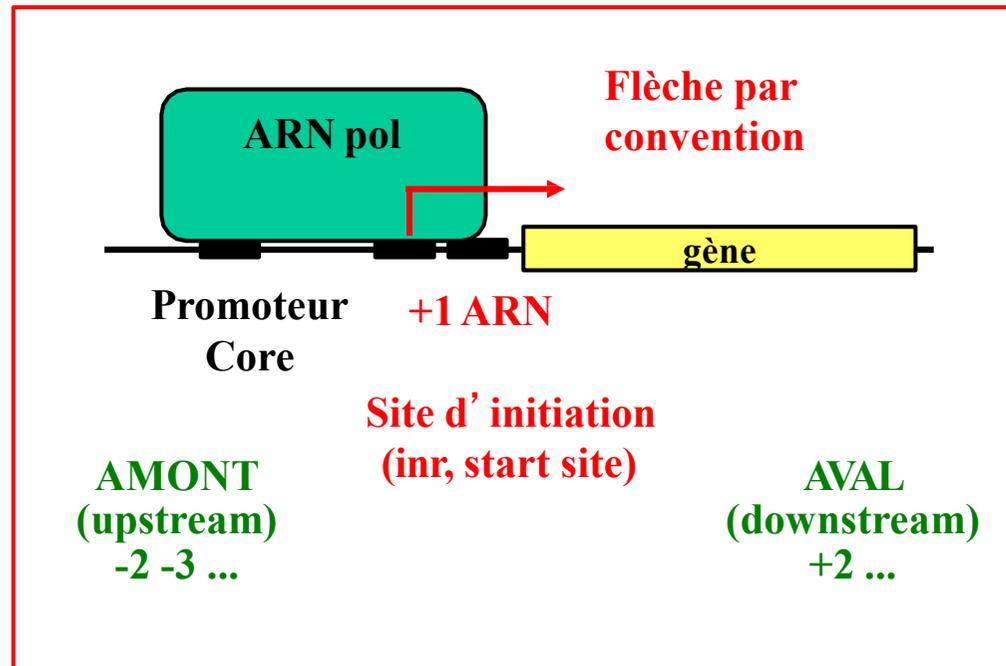
Méthylation de l'ADN
Variants d'histones
Modifications post-traductionnelles des histones
Complexe de remodelage de la chromatine

ARN polymérase eucaryotes



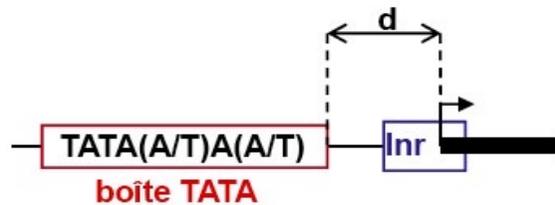
CTD: domaine C-terminal; sa phosphorylation est essentielle pour le démarrage de la transcription

ARN polymérase et transcription



Initiation de la transcription des gènes de classe II

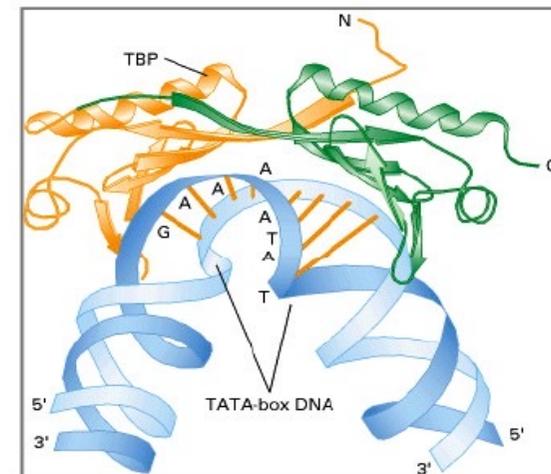
- Structure du promoteur « minimal » de la plupart des gènes de classe II



$d = 40$ à 120 nt chez *S. cerevisiae*
 $= 25$ à 30 nt chez les mammifères

Inr : initiateur ou séquence initiatrice

- *In vitro*, TBP (TATA box binding protein) est suffisante pour la reconnaissance de la boîte TATA
- *In vivo*, la reconnaissance de la boîte TATA est effectuée par la protéine TBP au sein du complexe $TF_{II}D$.



Rq: Les gènes de « ménage » n'ont pas de boîte TATA

Mais l'ARN polymérase ne sait pas:

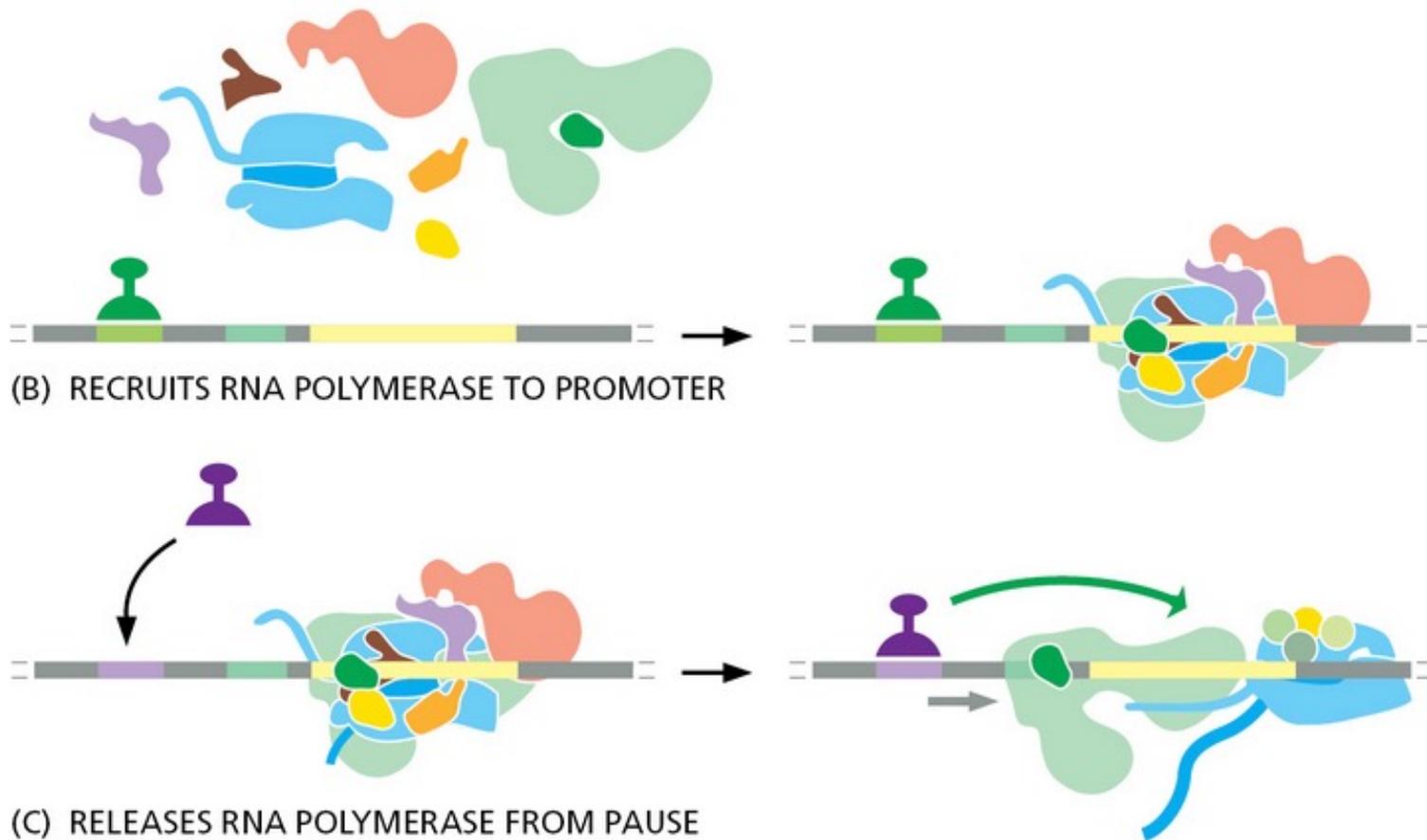
- Reconnaître spécifiquement les sites de démarrage de la transcription
- Ouvrir efficacement la double hélice
- Franchir efficacement les séquences nucléotidiques de pause ou d'arrêt

→ l'efficacité et la spécificité de la transcription nécessitent l'intervention de facteurs généraux de transcription « TF » (se fixent sur des séquences spécifiques et permettent à l'ARN pol de se fixer)

Rq: TF servent à la transcription de base ≠ facteurs de transcription spécifique (régulation de la transcription)

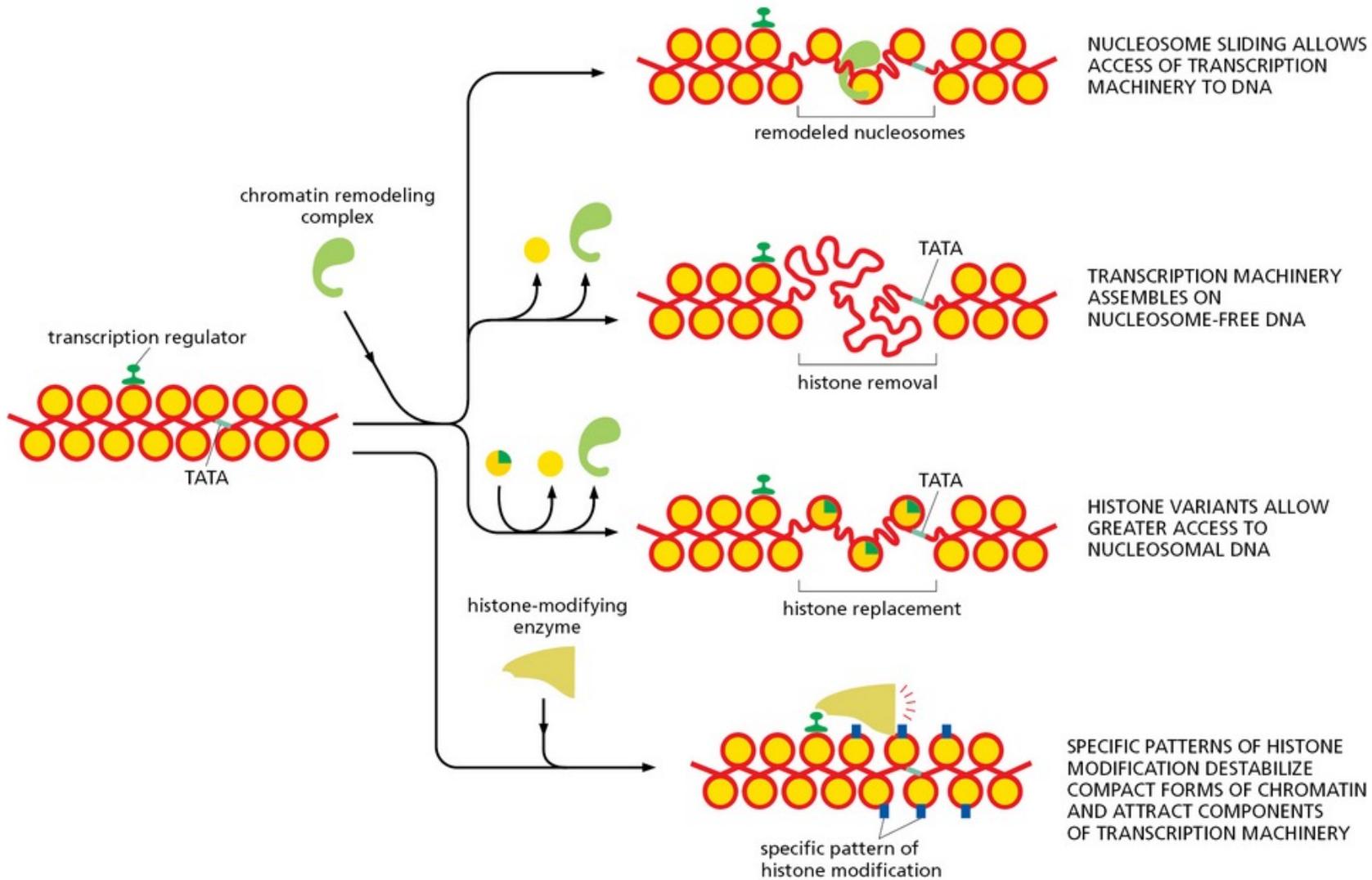
Des régulateurs spécifiques peuvent activer la transcription (1/2)

A RETENIR !



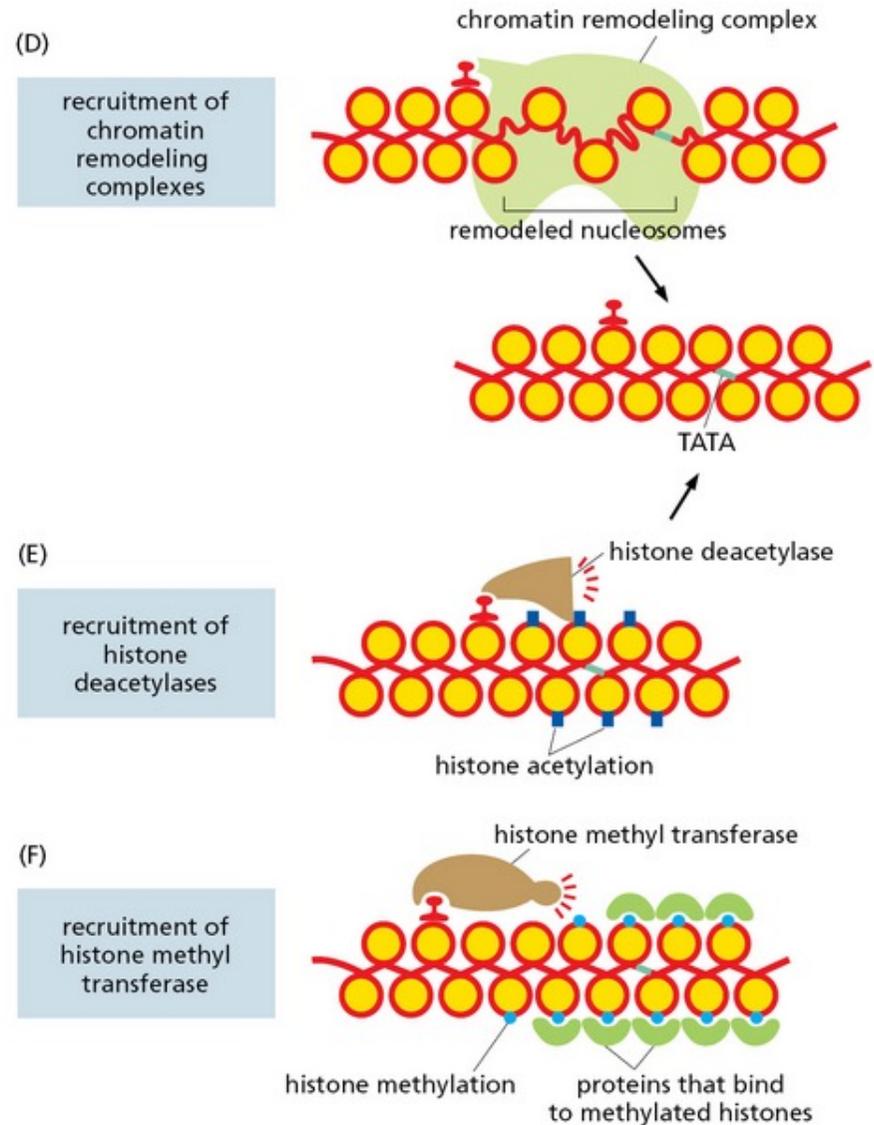
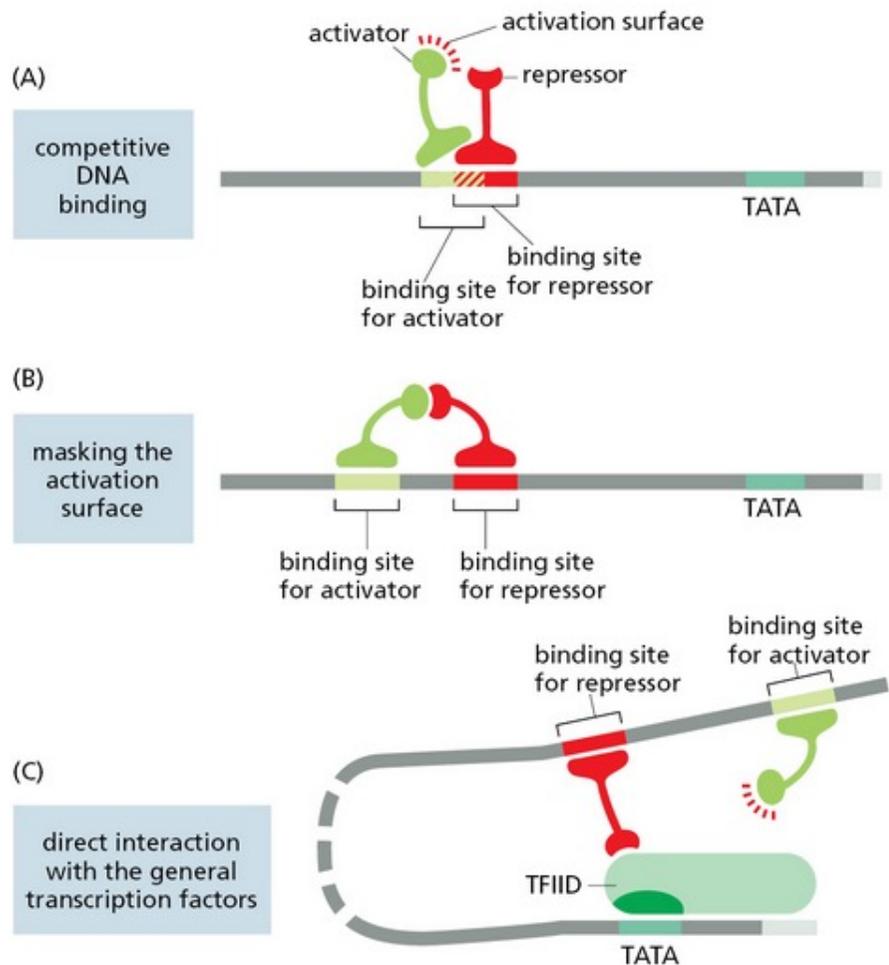
Des régulateurs spécifiques peuvent activer la transcription (2/2)

A RETENIR !



Des régulateurs spécifiques peuvent inhiber la transcription

A RETENIR !

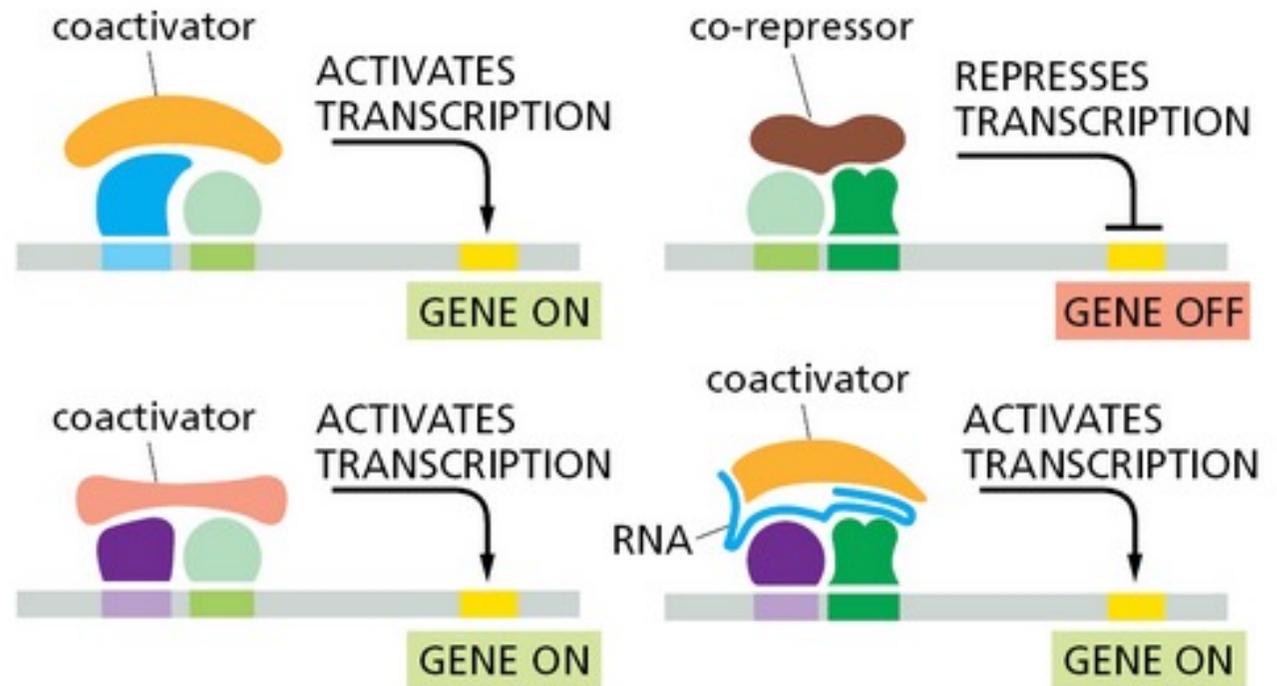


Des régulateurs spécifiques forment des complexes sur l'ADN

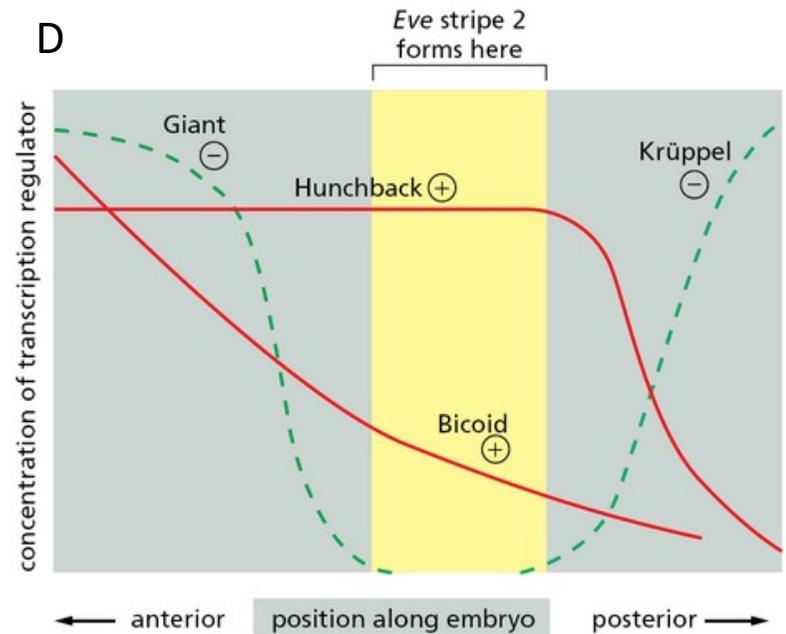
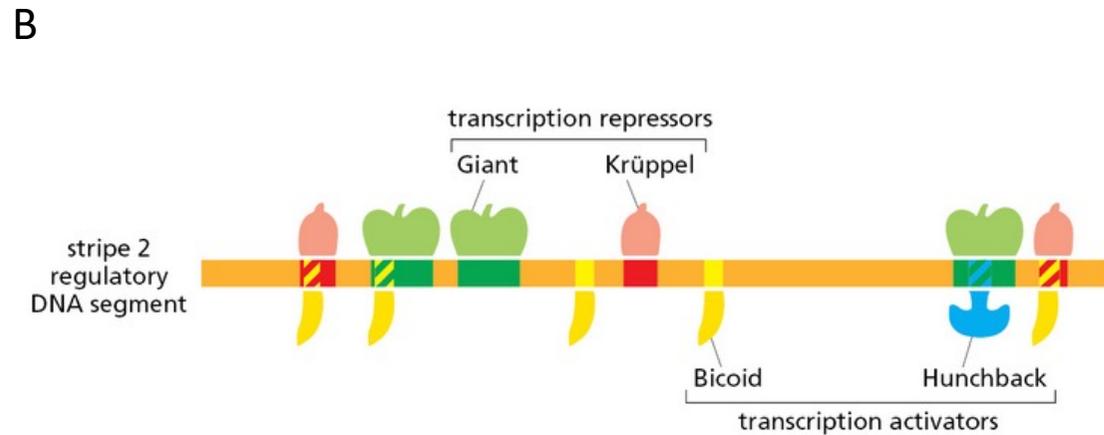
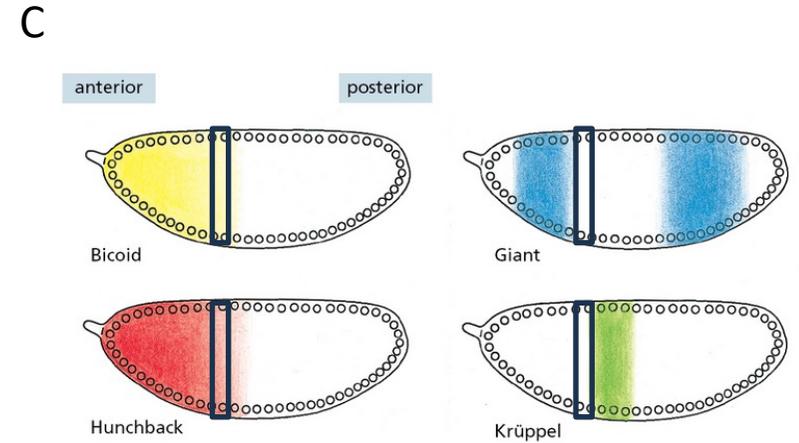
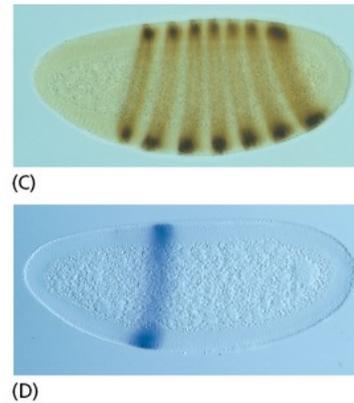
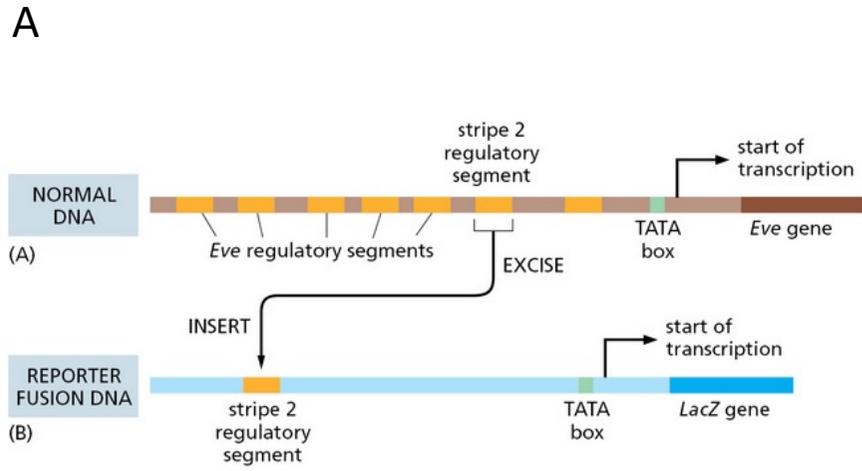
(A) IN SOLUTION



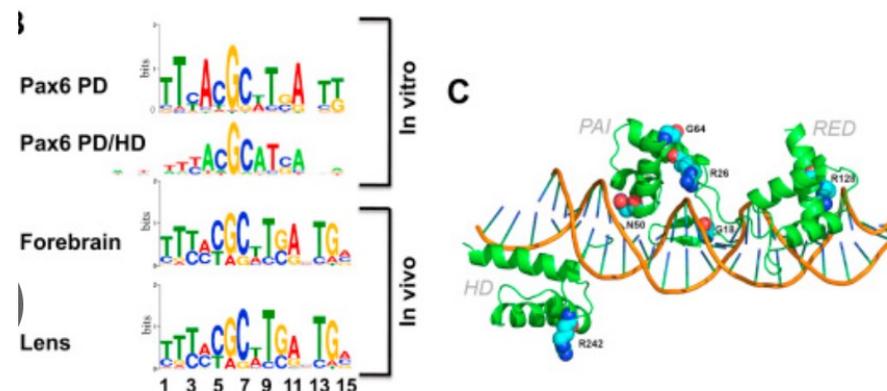
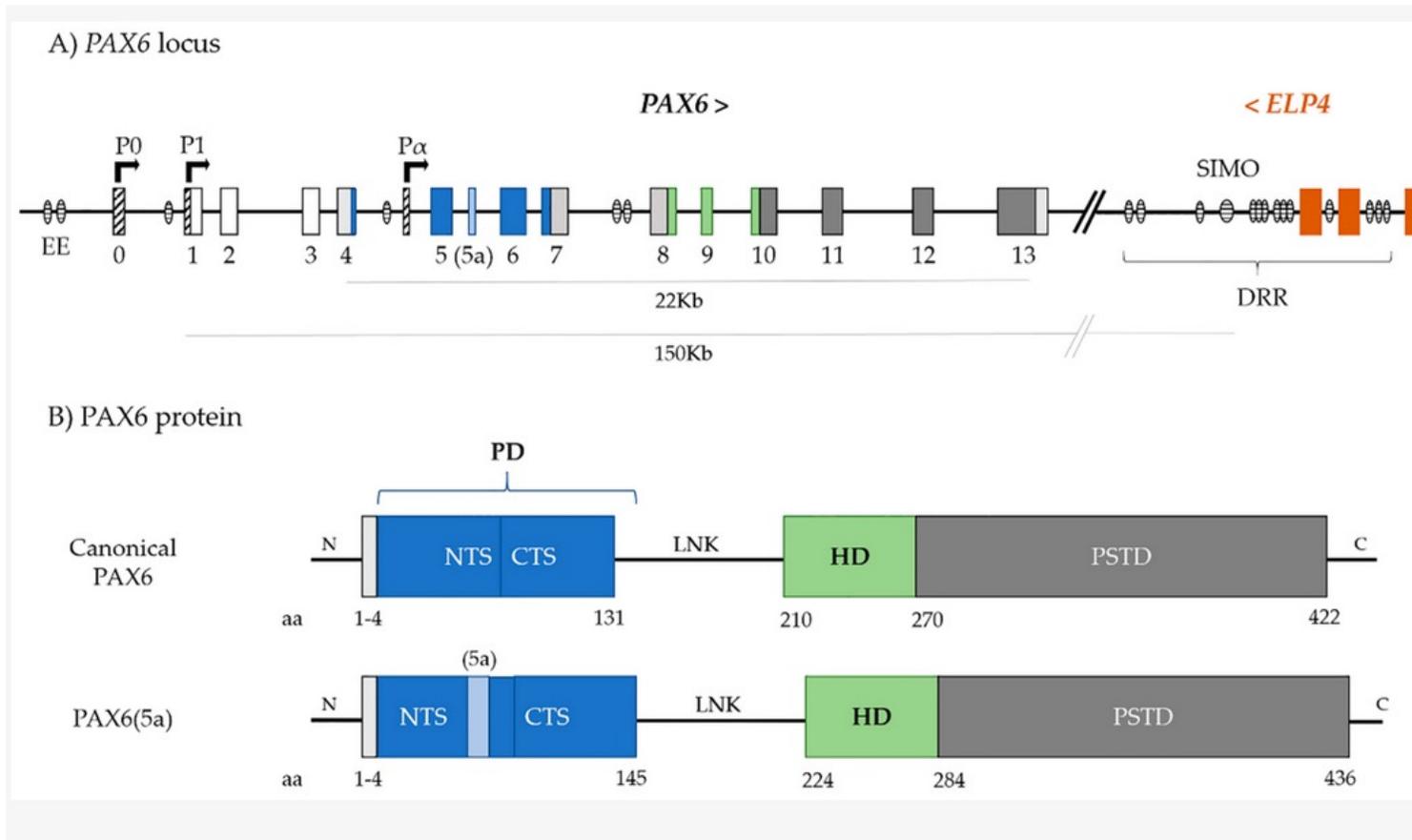
(B) ON DNA



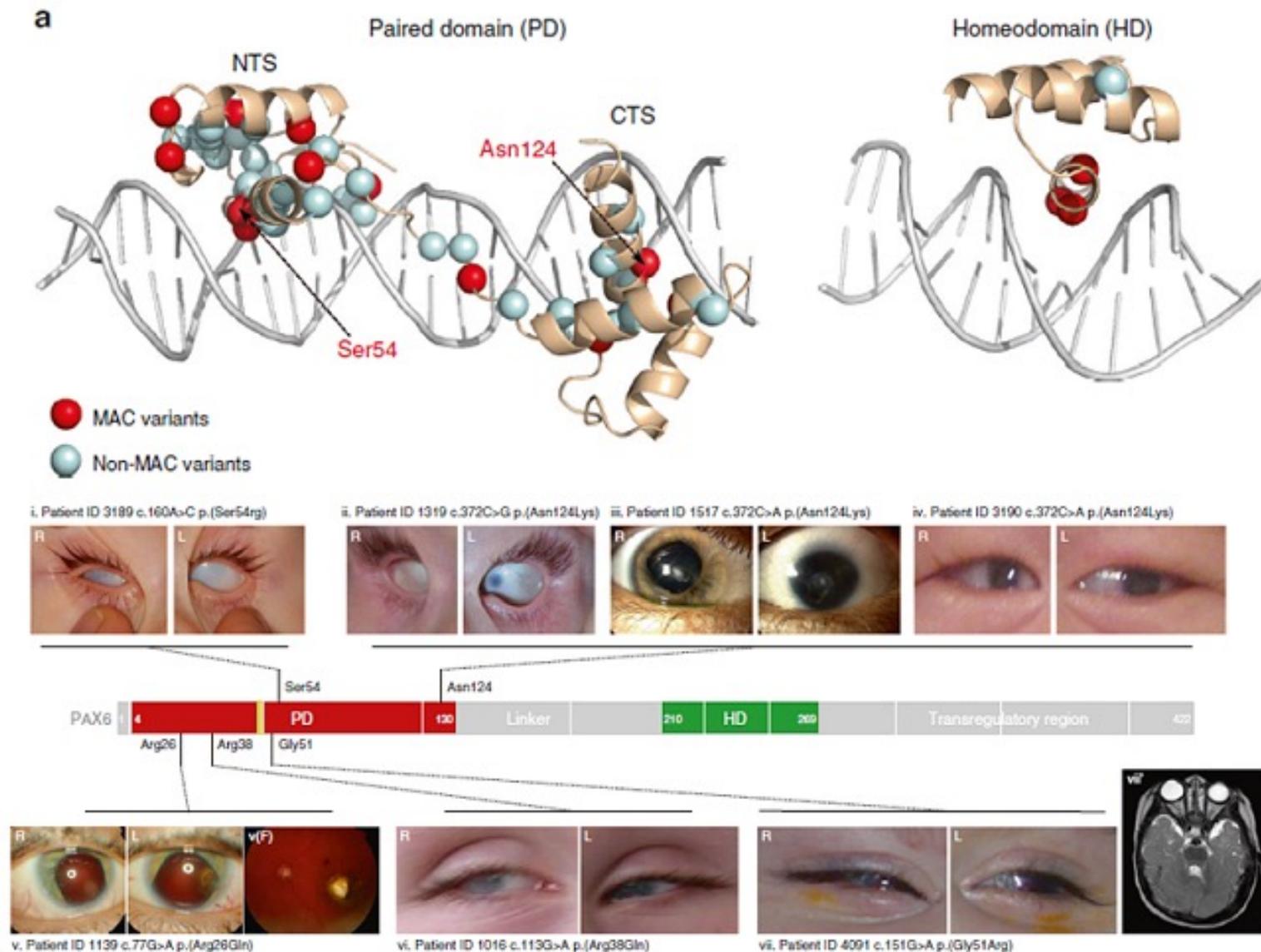
EX: Régulation de l'expression du gène *Eve* chez la *Drosophile*



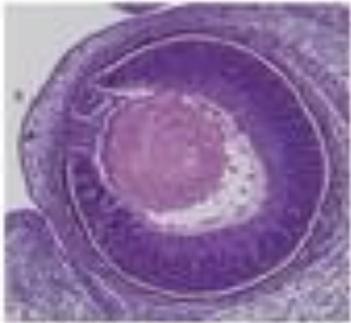
EX: Rôle et régulation de l'expression du gène Pax6



Pax6 est un facteur de transcription qui contrôle l'expression de gènes impliqués dans le développement des yeux

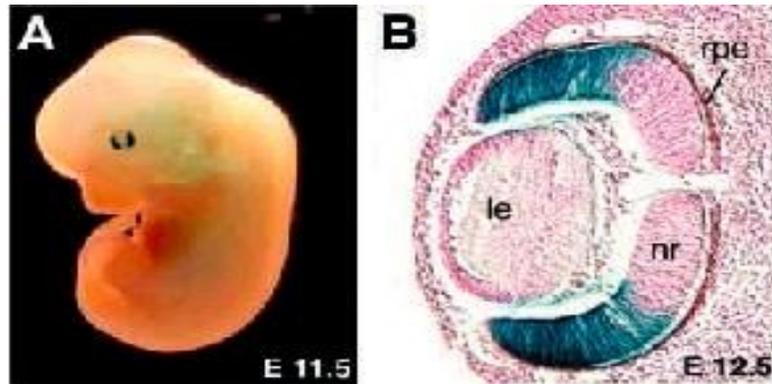
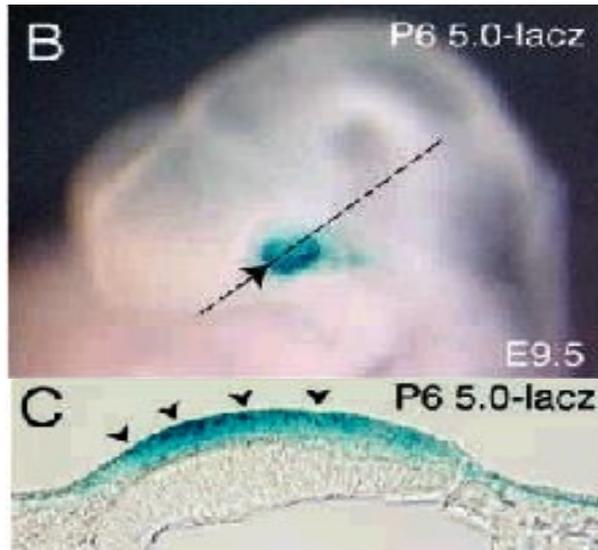


Le rôle de Pax6 est conservé au cours de l'évolution

	Human	Mouse	Zebrafish	<i>Drosophila</i>
WT				
mut				
	<i>PAX6</i>^{+/−}	<i>Pax6</i>^{−/−}	<i>pax6b</i>^{−/−}	<i>ey</i>^{−/−}
EQs	cornea opaque iris absent retina degenerate lens opaque aqueous humor of eyeball increased pressure	eye decreased size lens fused to cornea iris morphology anterior chamber absent	eye decreased size lens decreased size retina malformed	eye absent

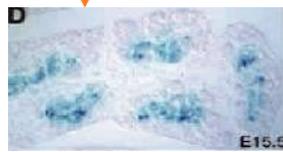
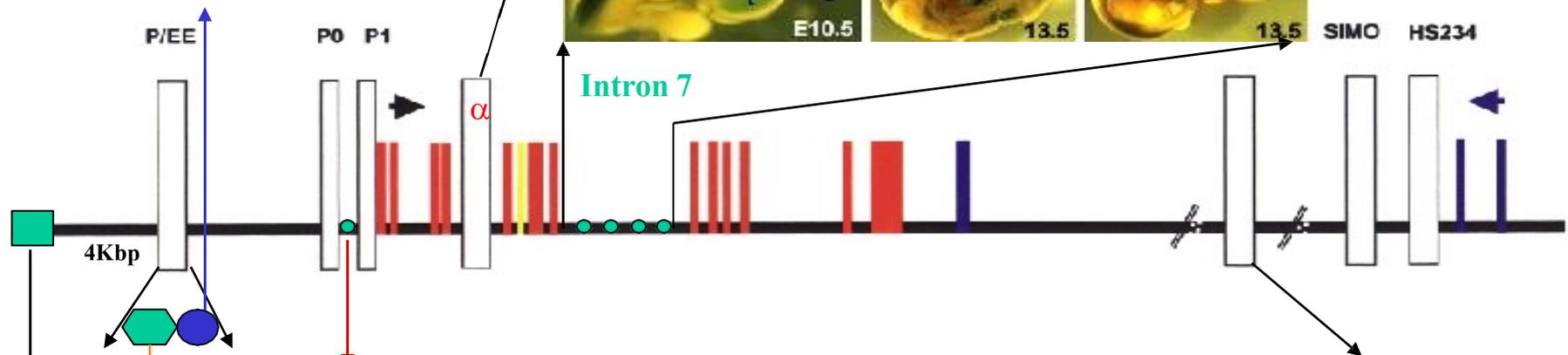
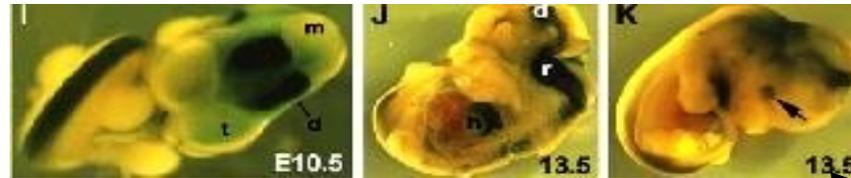
PAX6: « A Master transcription regulator »

L'expression du gène Pax6 dépend d'une mosaïque d'enhancers tissu-spécifiques



X-gal (substrat incolore);
la β -galactosidase
peut cliver le X-gal
en X + gal ou
X est un produit bleu.

Enhancer alpha

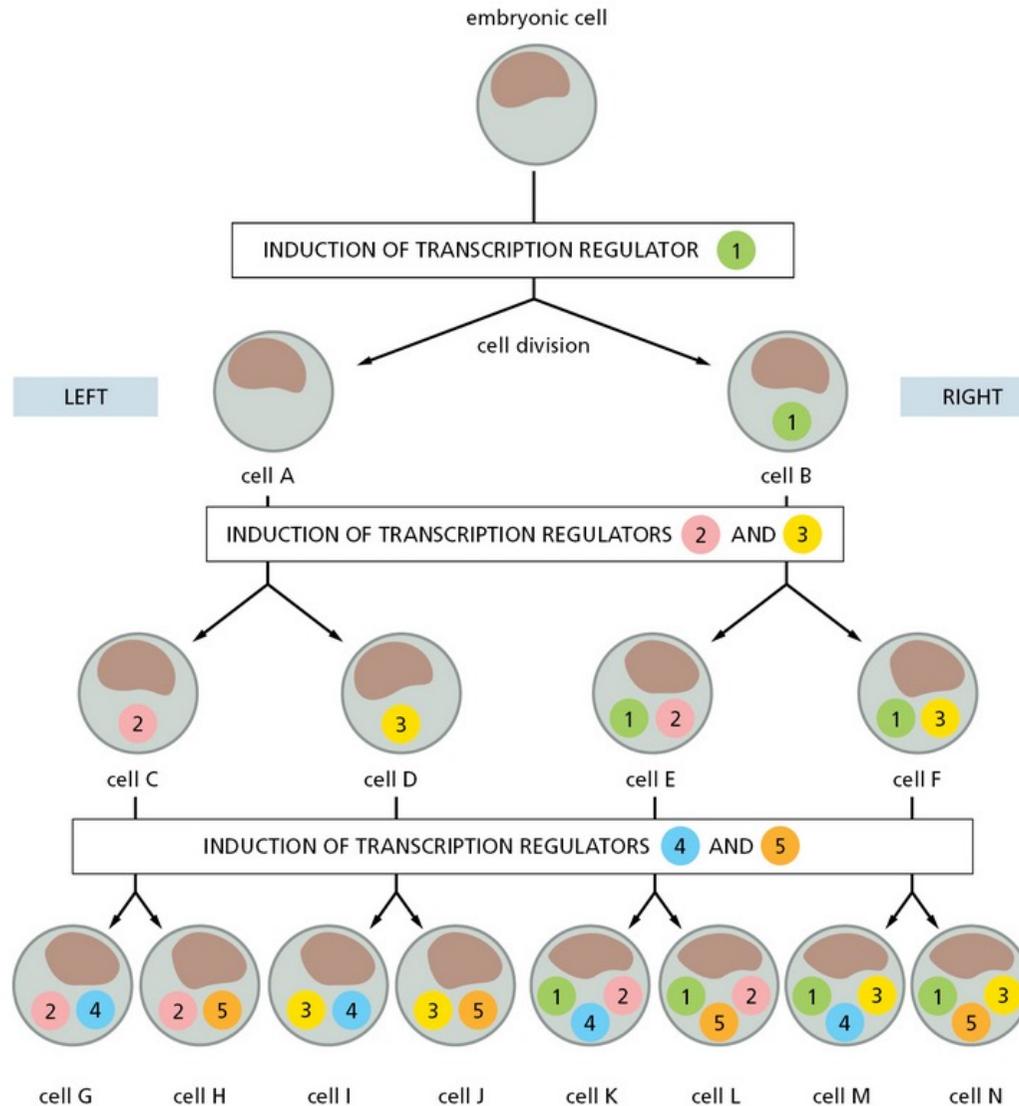


Souris transgénique:
Le gène codant la beta galactosidase
sous le contrôle des séquences de
régulation de Pax6

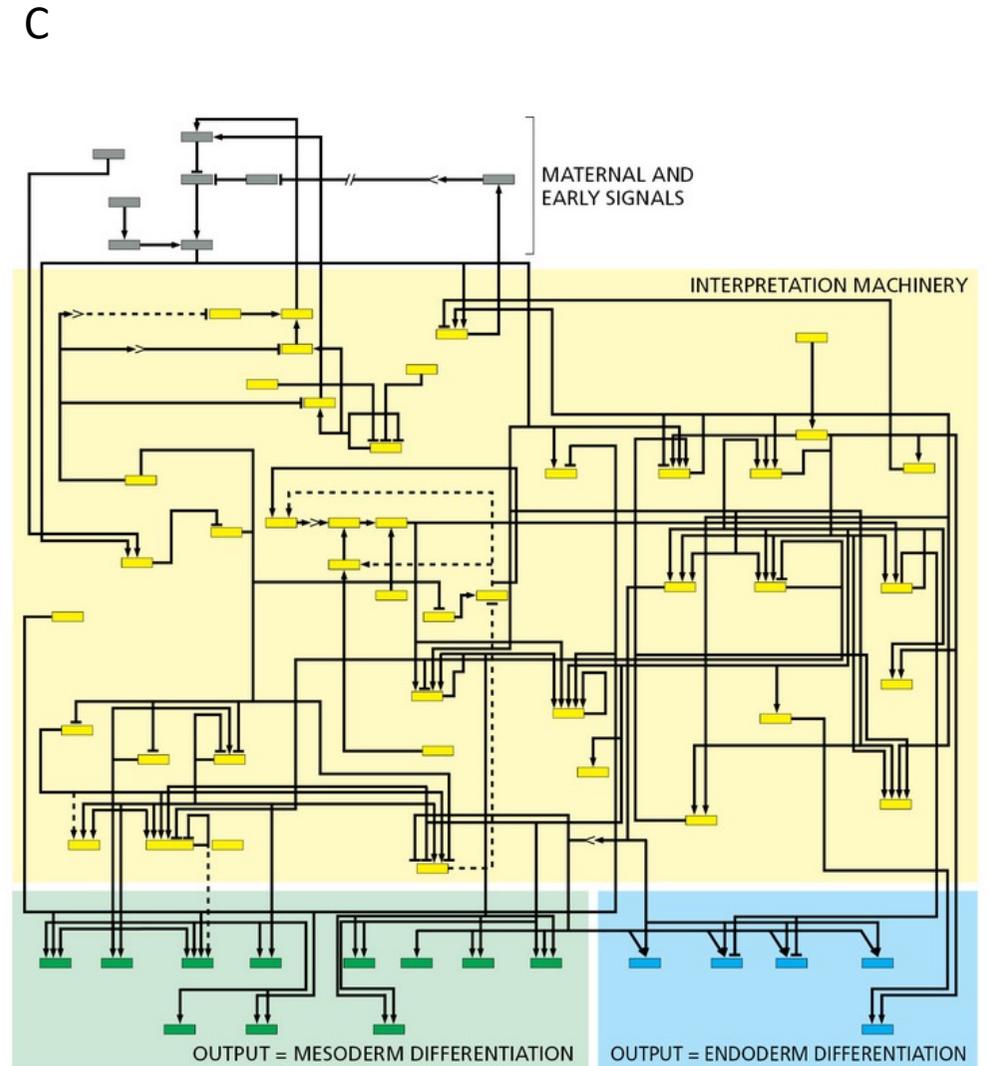
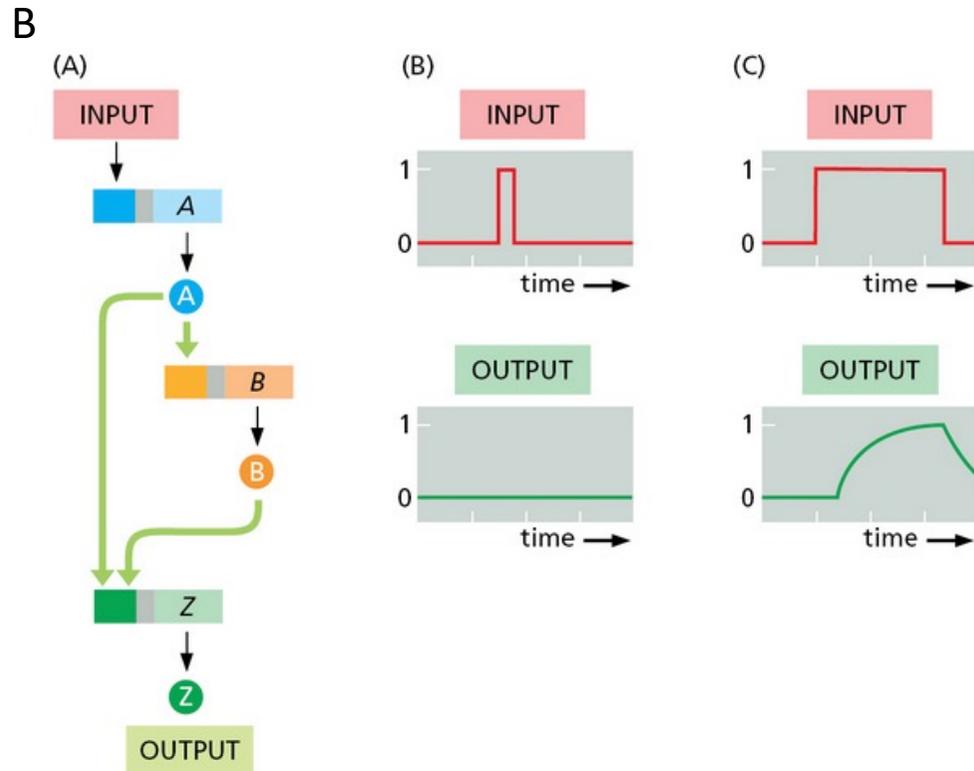
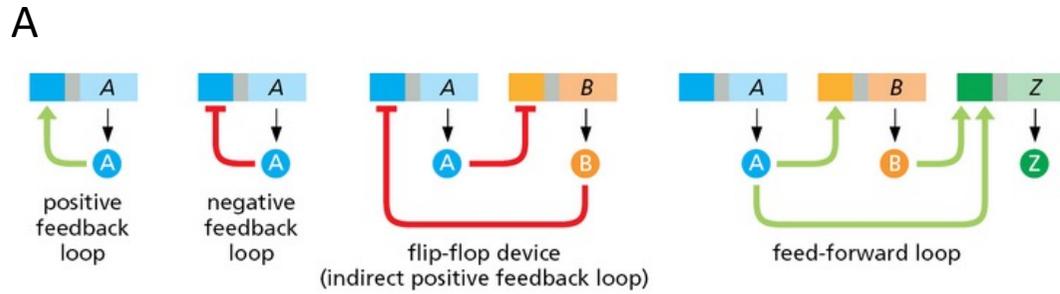


Différentes combinaisons de régulateurs de la transcription peuvent être à l'origine de la spécification de différents types cellulaires au cours du développement

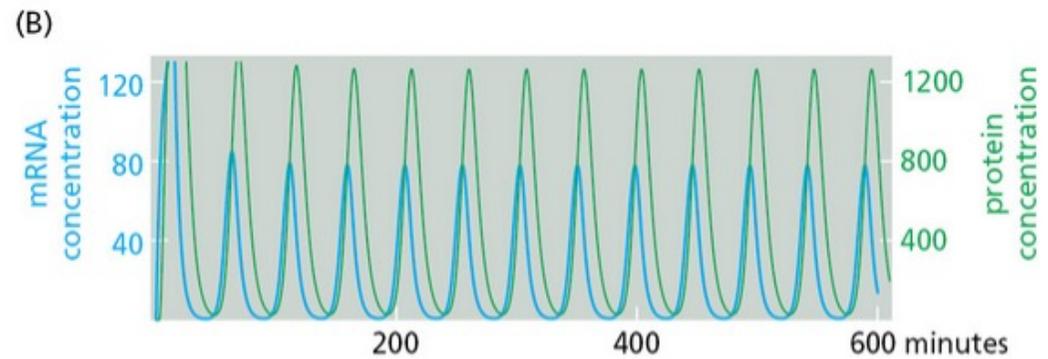
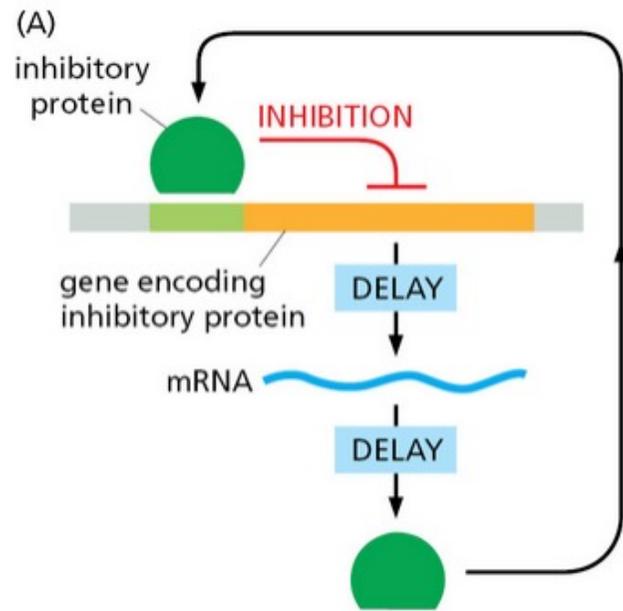
A RETENIR !



Des réseaux de régulation génique complexes participent à la spécification cellulaire



Des boucles retardées de rétrocontrôle négatif génèrent des expressions oscillatoires

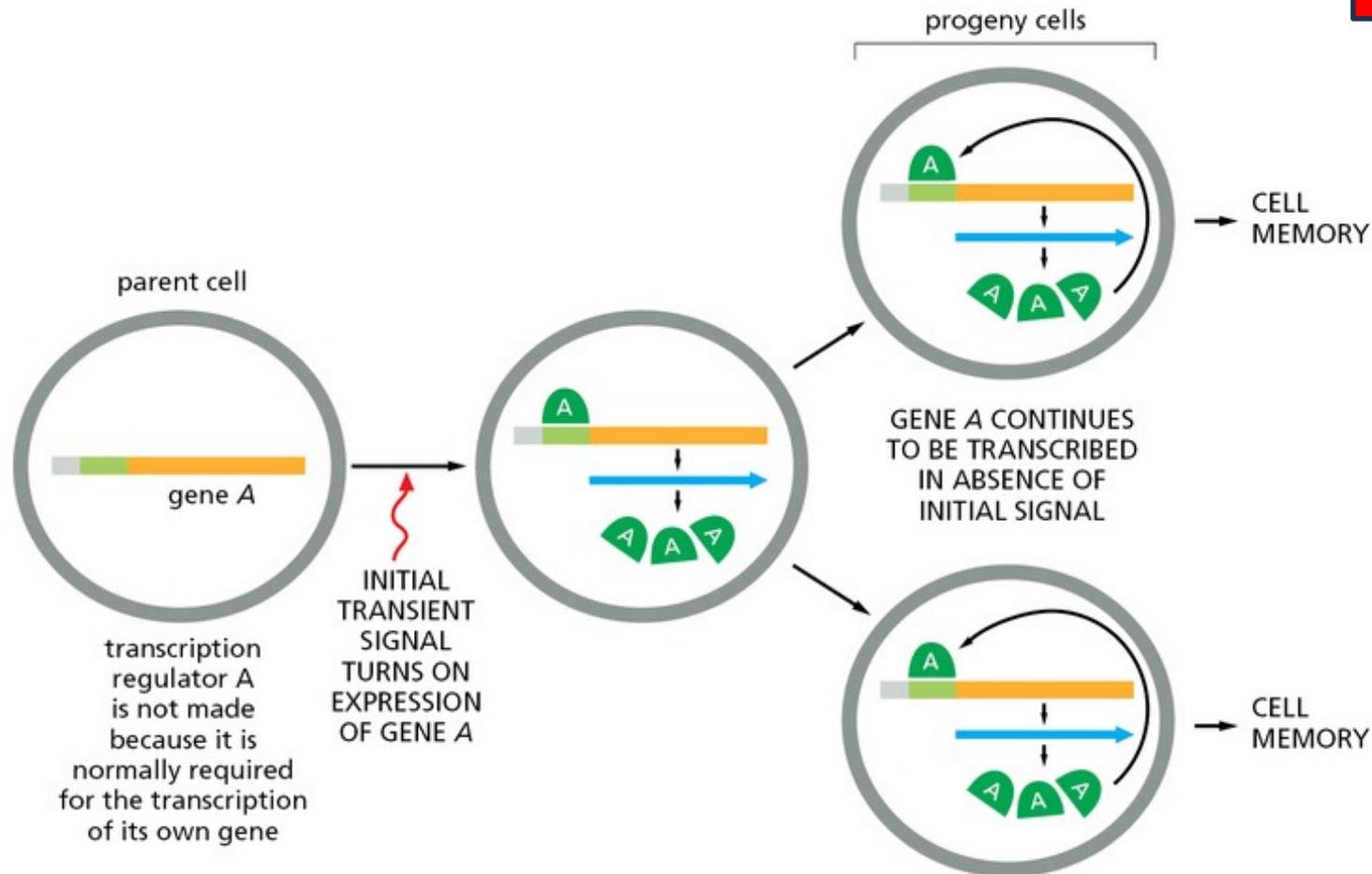


Rôle clé au cours de la somitogénèse (voir plus loin)!

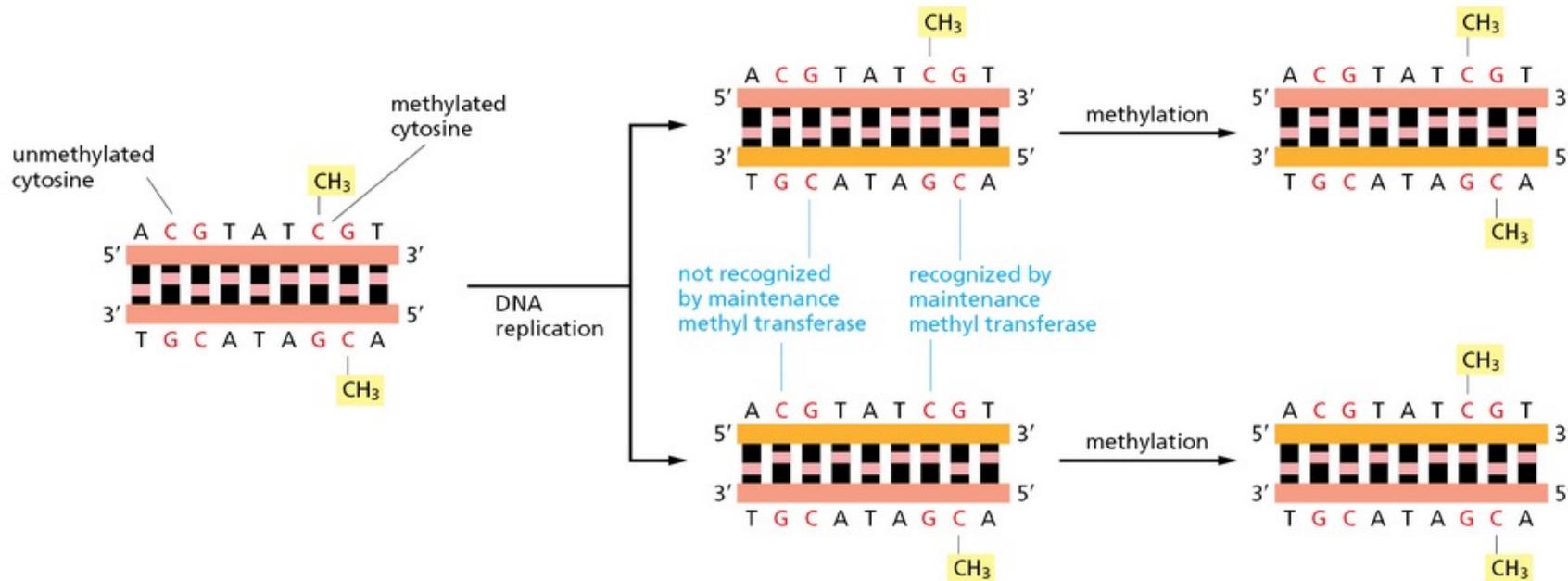
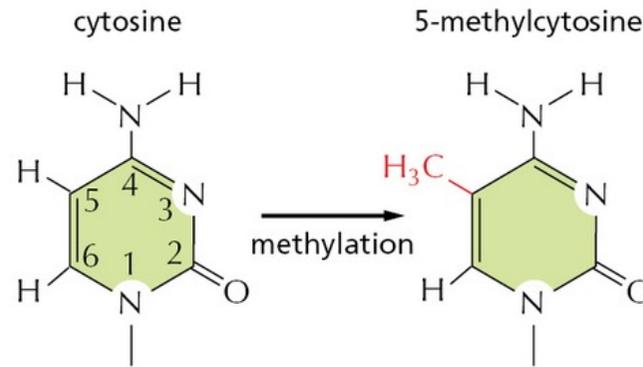
Mécanismes de maintien de l'identité cellulaire:

A/ La boucle d'auto-amplification

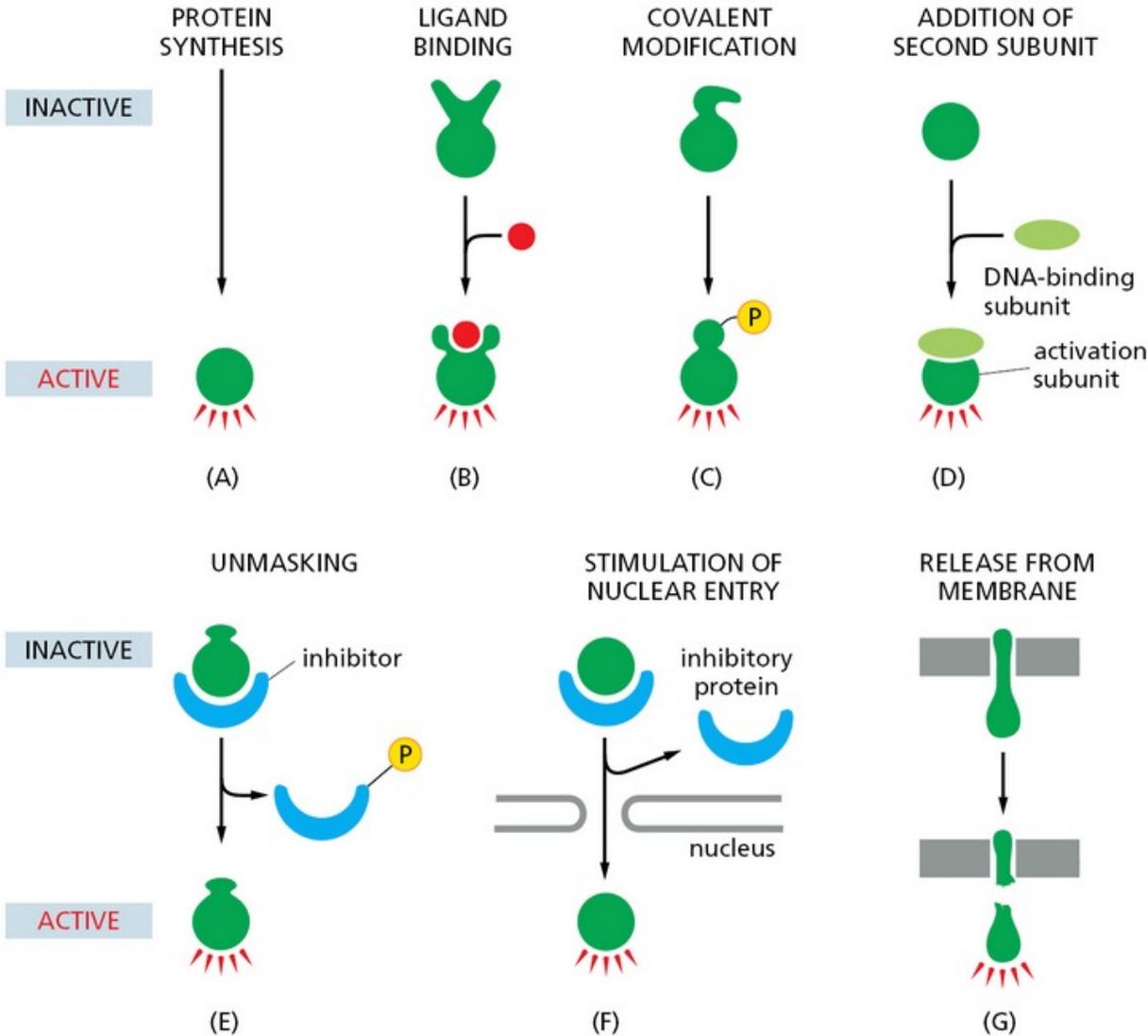
A RETENIR !



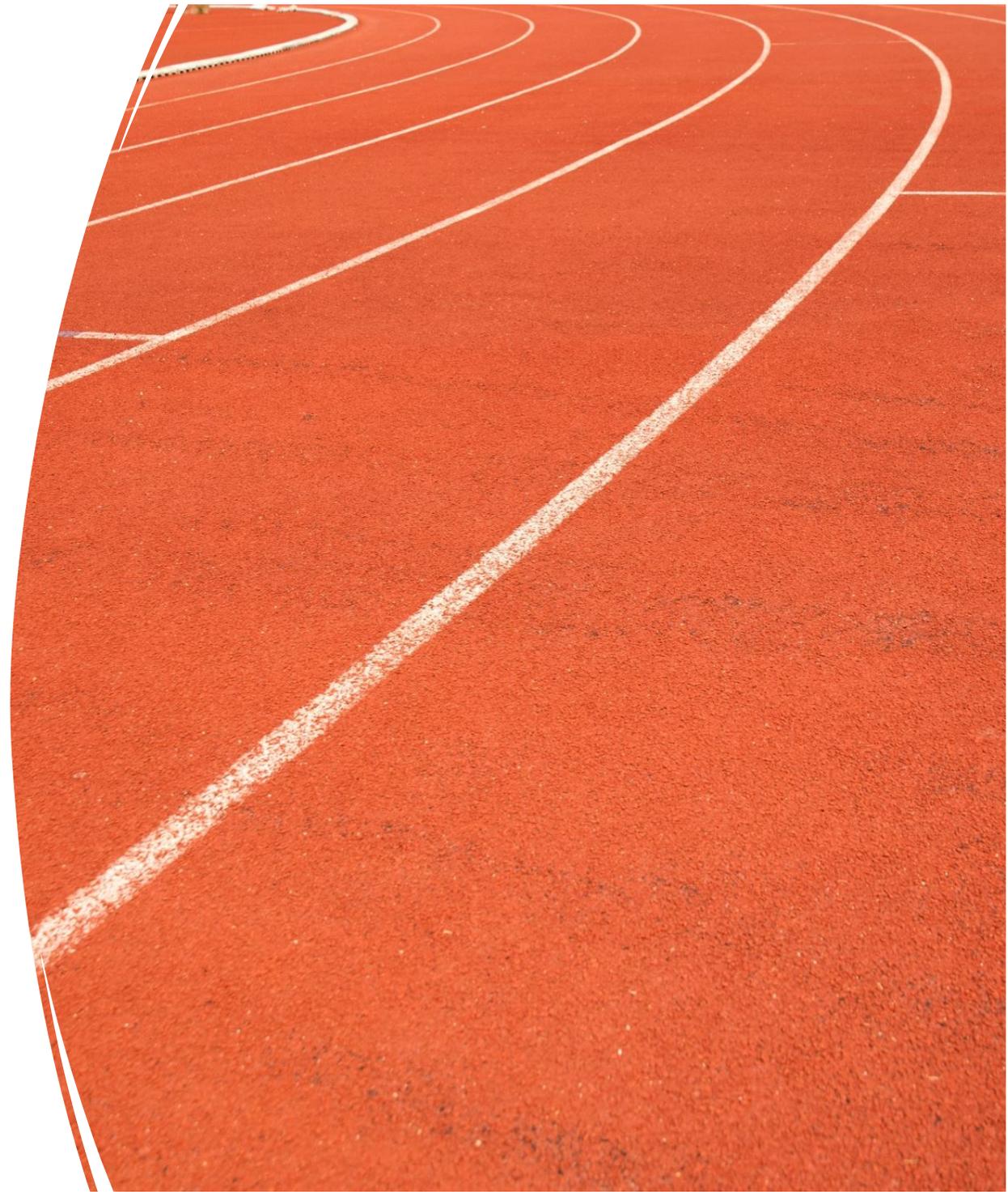
Mécanismes de maintien de l'identité cellulaire: B/ La méthylation de l'ADN



Différents niveaux de contrôles de l'activité des régulateurs de la transcription



Les voies de signalisation



Signalisation... un petit monde ?

Table 22–1 Some Signal Proteins That Are Used Over and Over Again as Inducers in Animal Development

SIGNALING PATHWAY	LIGAND FAMILY	RECEPTOR FAMILY
Receptor tyrosine kinase (RTK)	EGF FGF (Branchless)	EGF receptors FGF receptors (Breathless)
TGF β superfamily	TGF β BMP (Dpp) Nodal	TGF β receptors BMP receptors
Wnt	Wnt (Wingless)	Frizzled
Hedgehog	Hedgehog	Patched, Smoothened
Notch	Delta	Notch

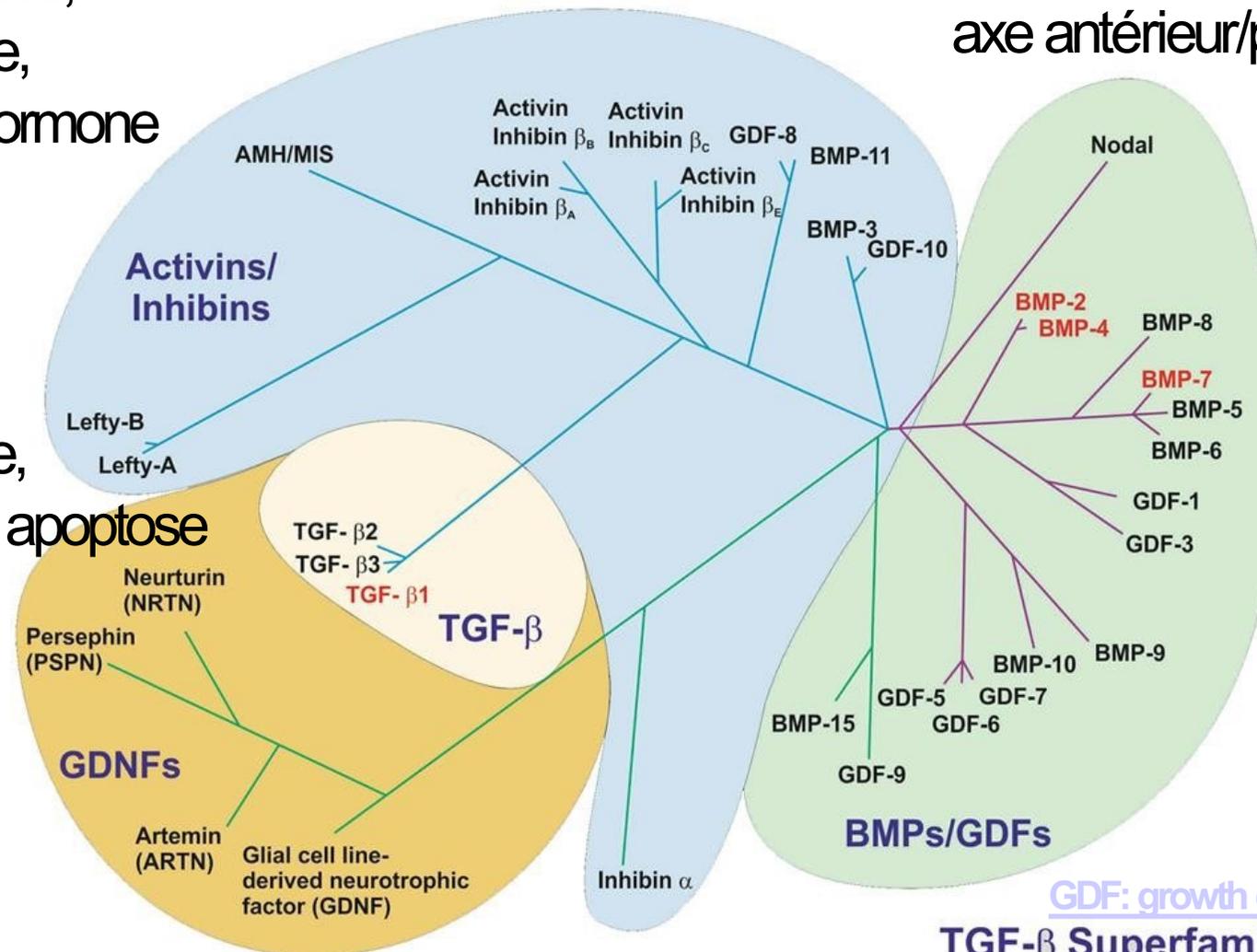
Un petit nombre de protéines constamment réutilisées en tant qu'inducteurs dans le développement animal !

Ex: superfamille TGF β (35 membres)

embryogénèse,
ostéogénèse,
régulation hormone

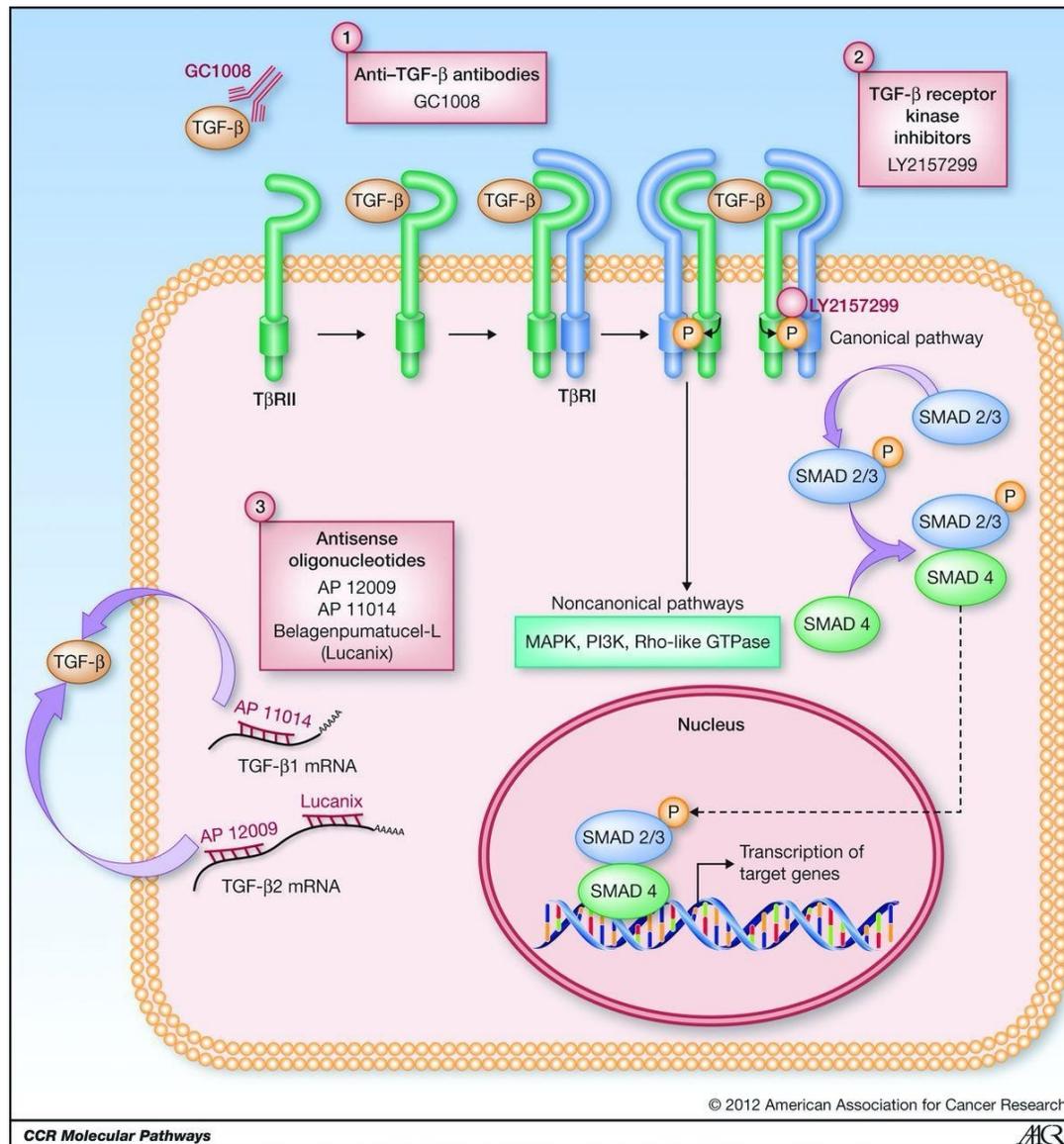
Ostéogénèse, différenciation,
axe antérieur/postérieur

embryogénèse,
différenciation, apoptose



embryogénèse

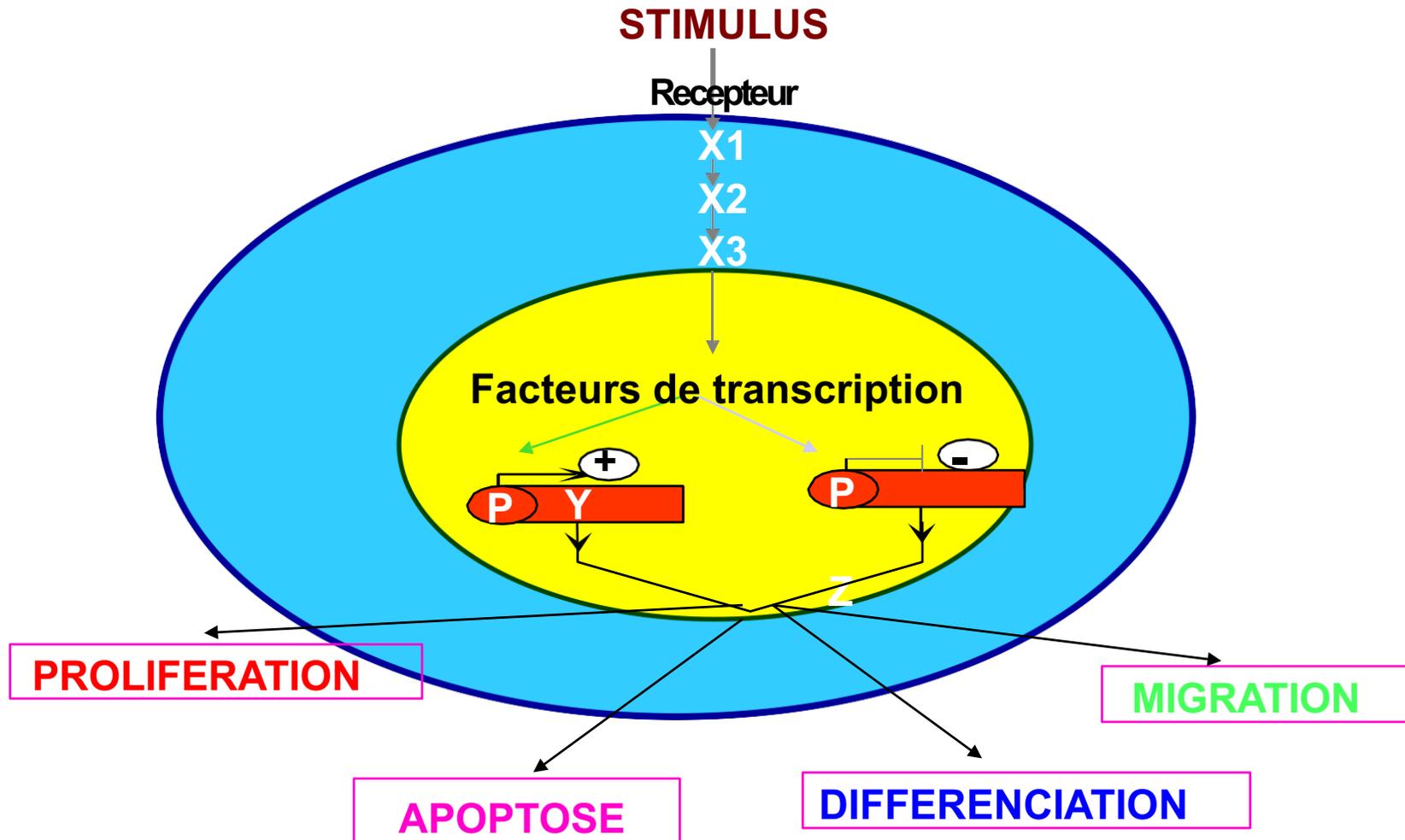
Voie de signalisation du TGF β



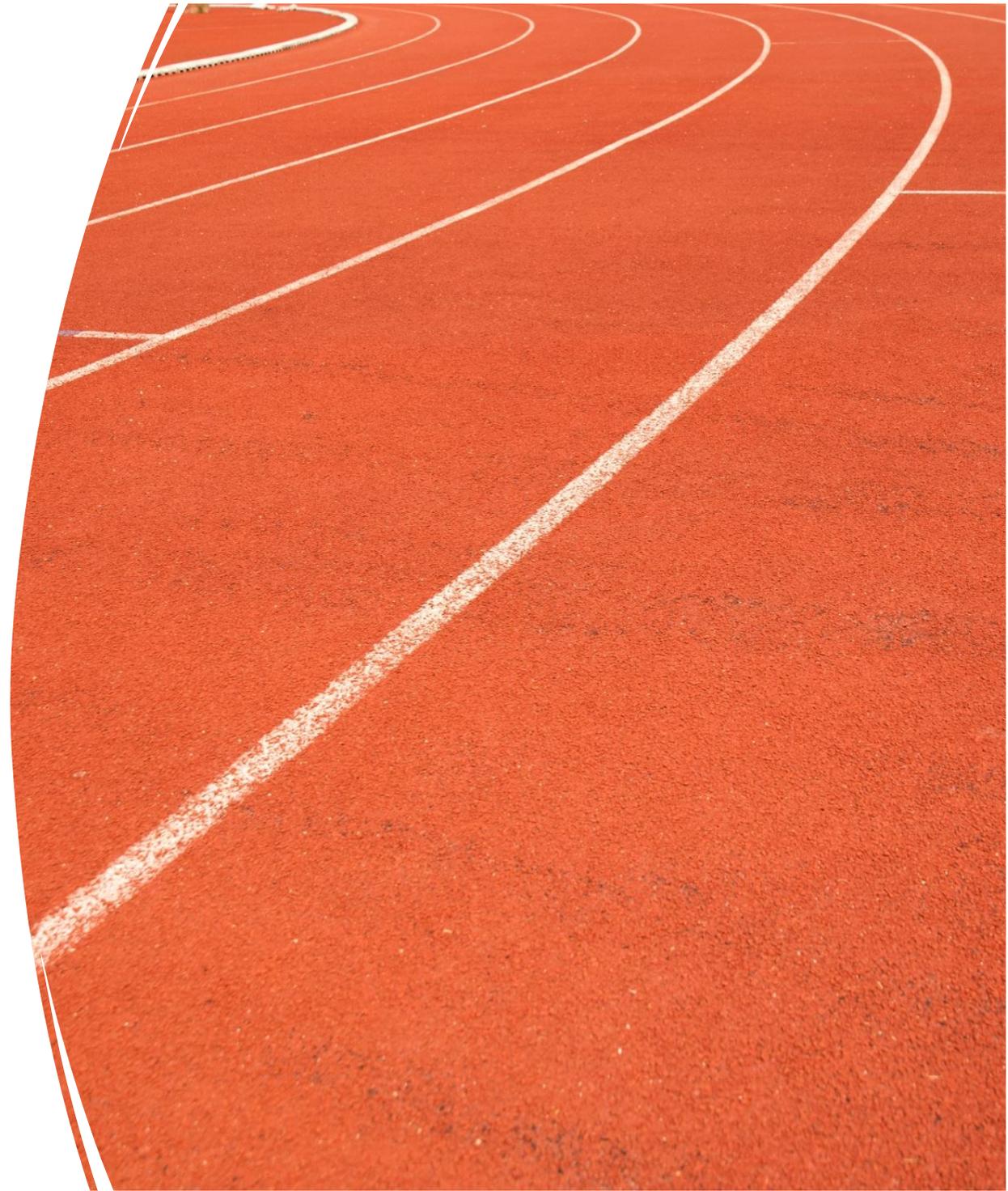
→ la réponse à la stimulation va dépendre des protéines en aval du récepteur

Smith et al., 2012

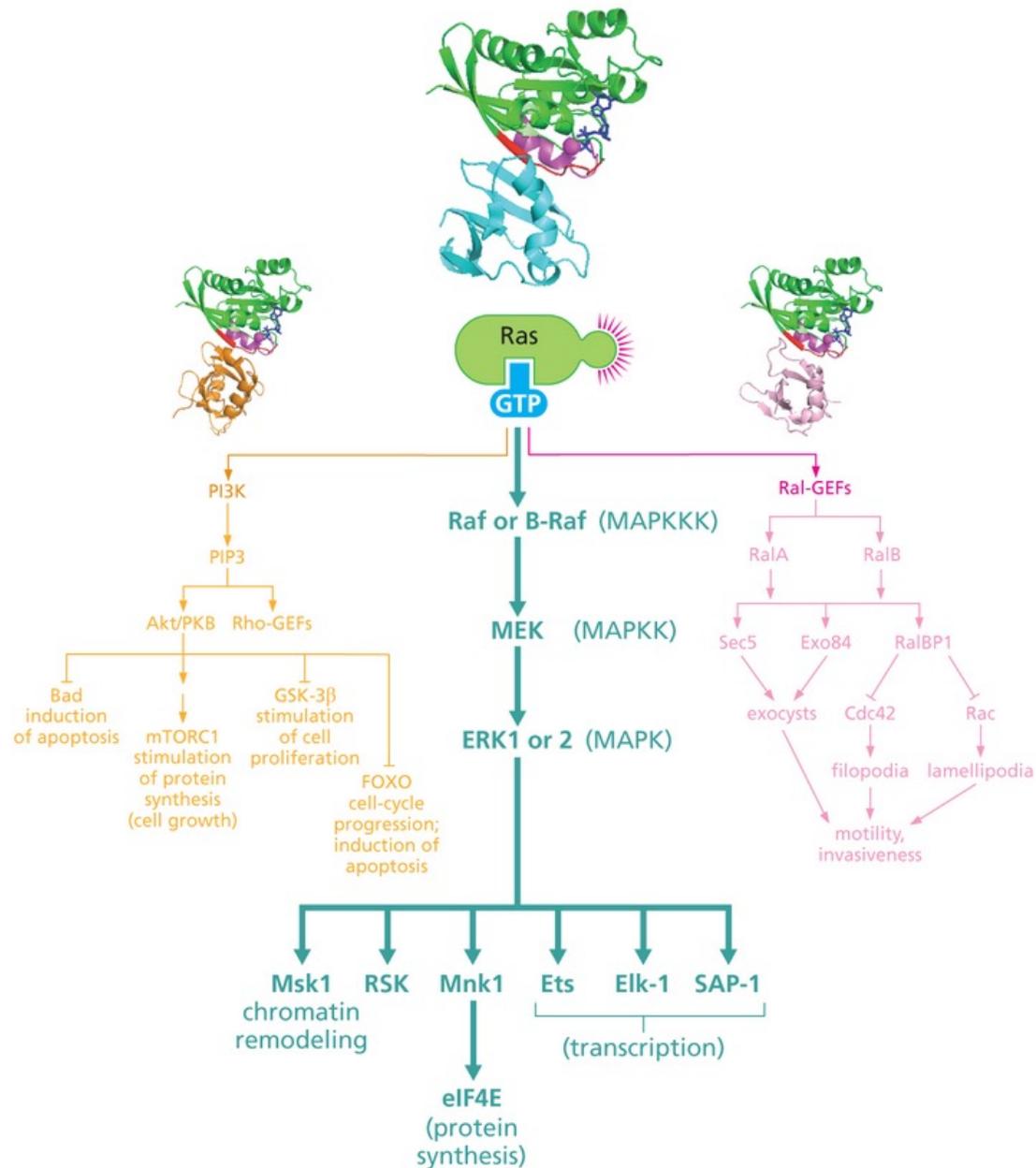
Des réponses différentes selon le contexte



Autres voies de signalisation



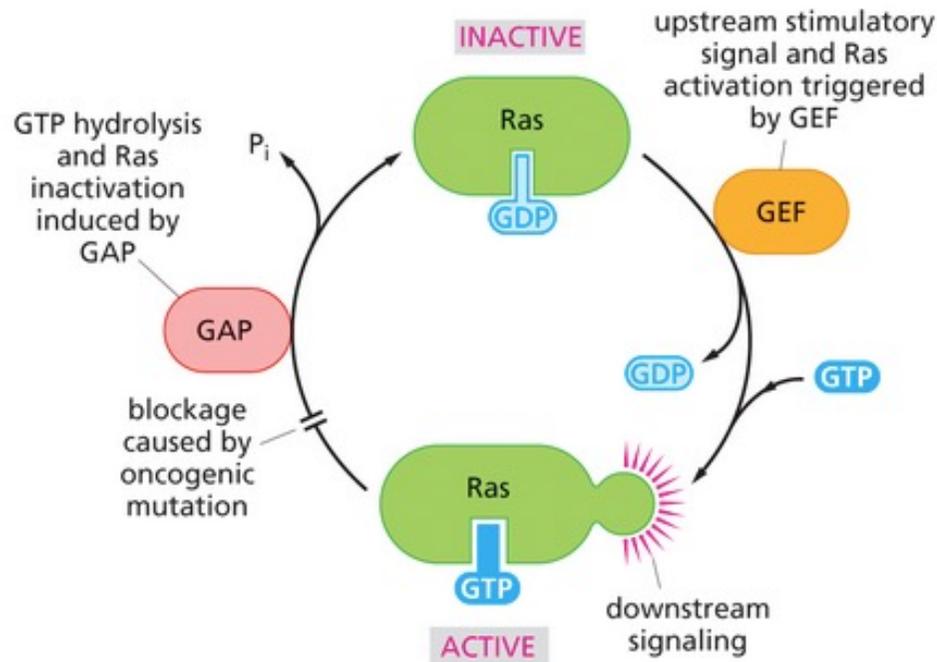
Les voies de signalisation régulées par Ras



Cycle d'activation des protéines Ras

A RETENIR !

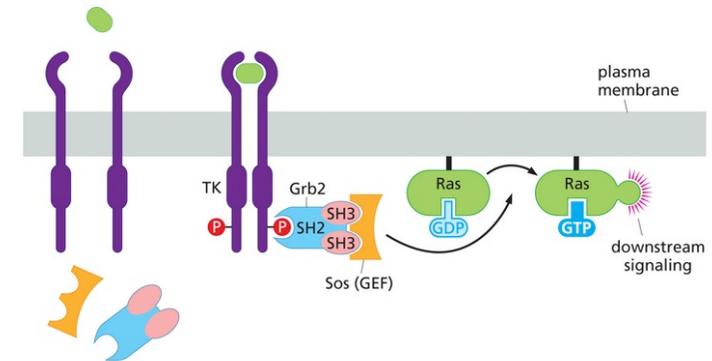
A/ Le cycle d'activation des protéines Ras



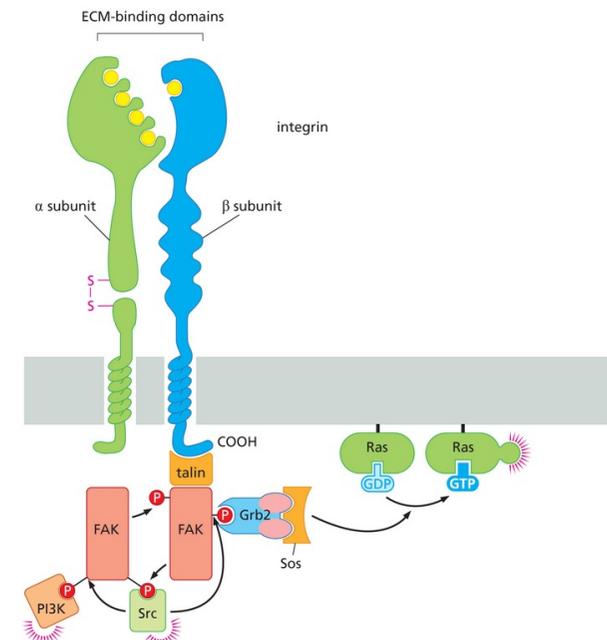
GAP: GTPase Activating Protein

GEF : Guanine nucleotide Exchange Factor

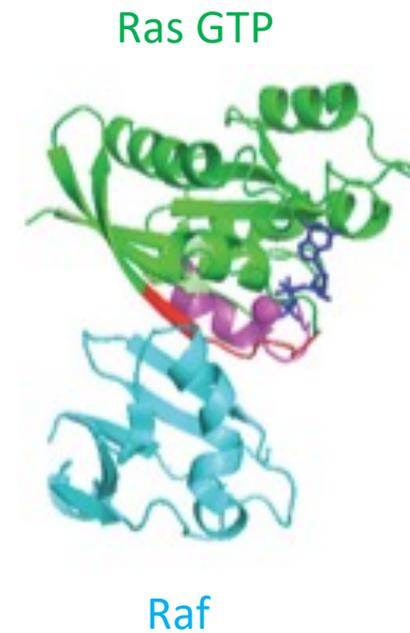
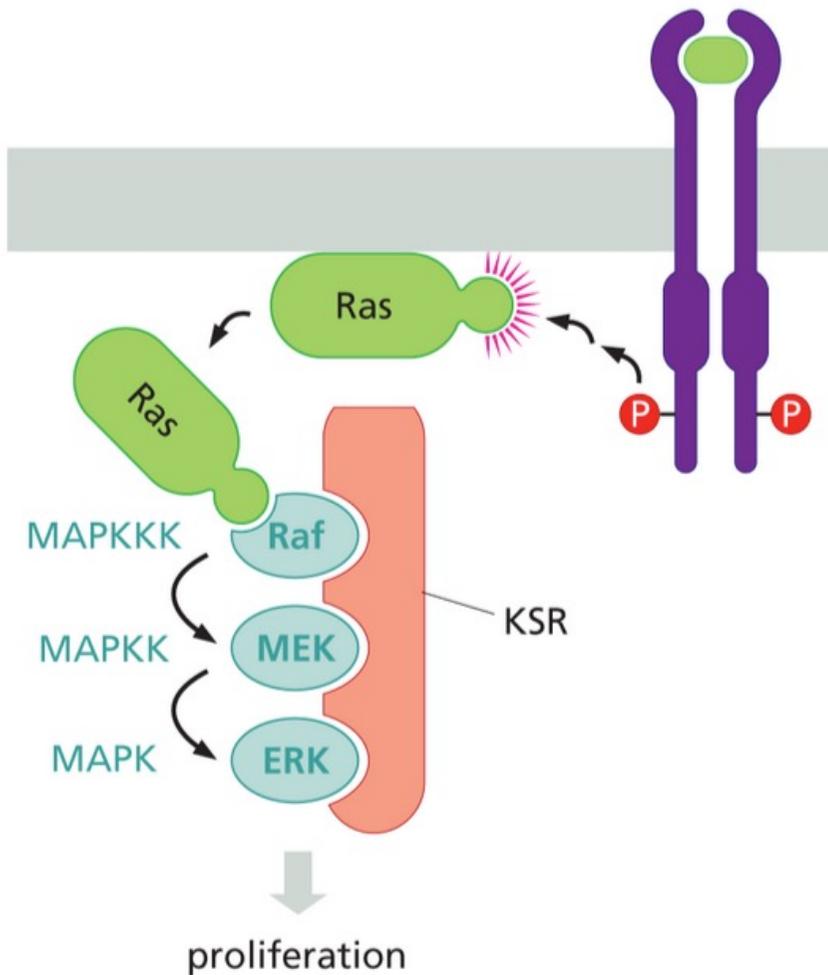
B/ Activation des Ras via les récepteurs à activité Tyrosine Kinase (ex EGFR)



C/ Activation de Ras via les intégrines

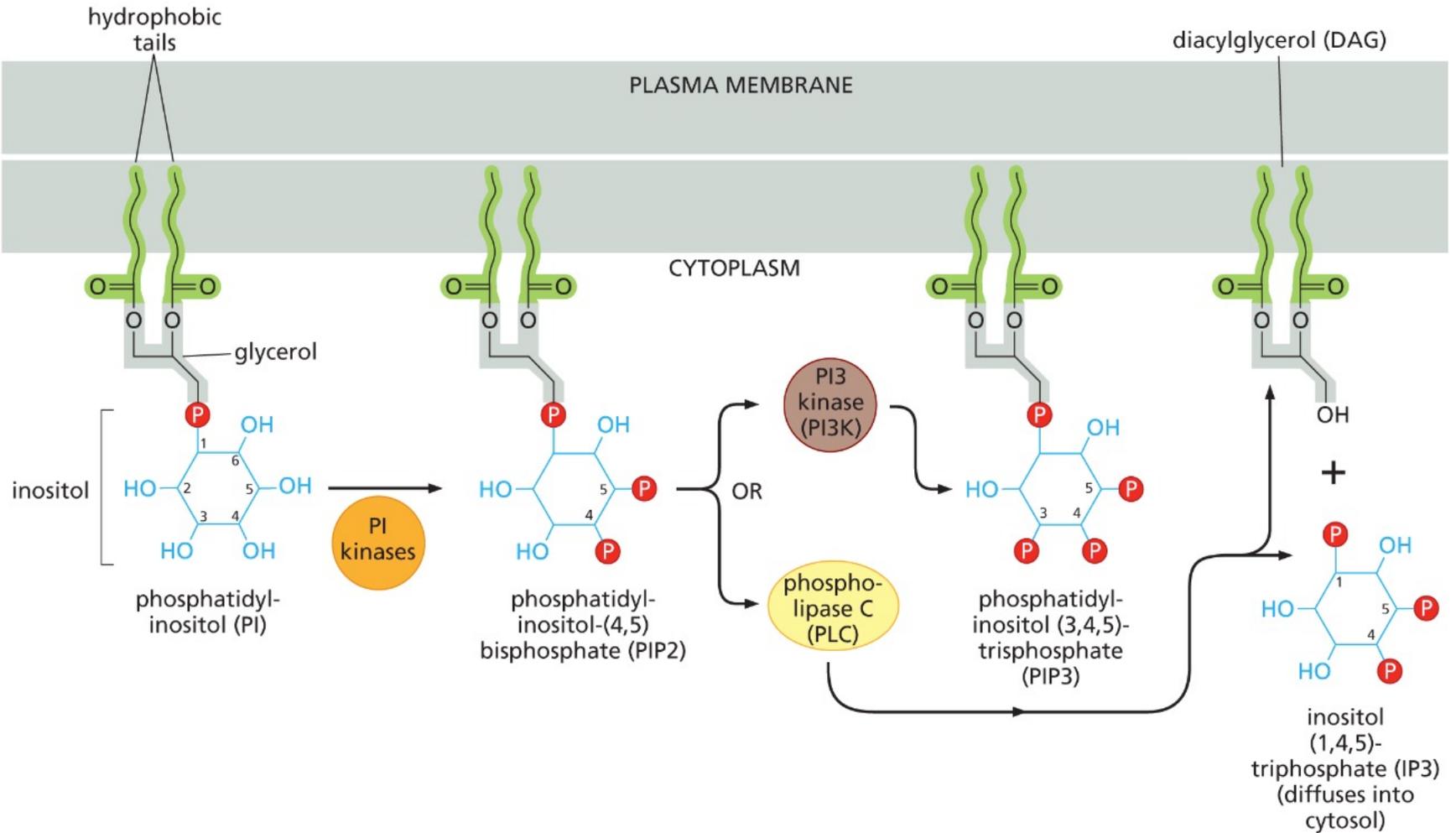
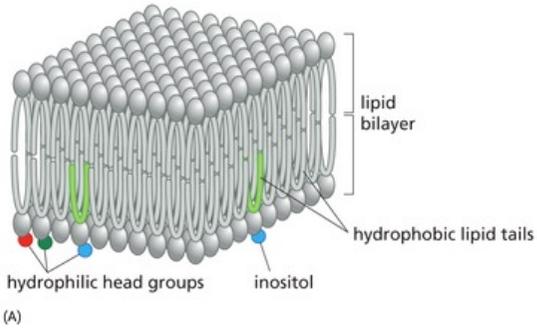


La voie de signalisation des « Mitogen Activated Protein Kinases » (MAPK)

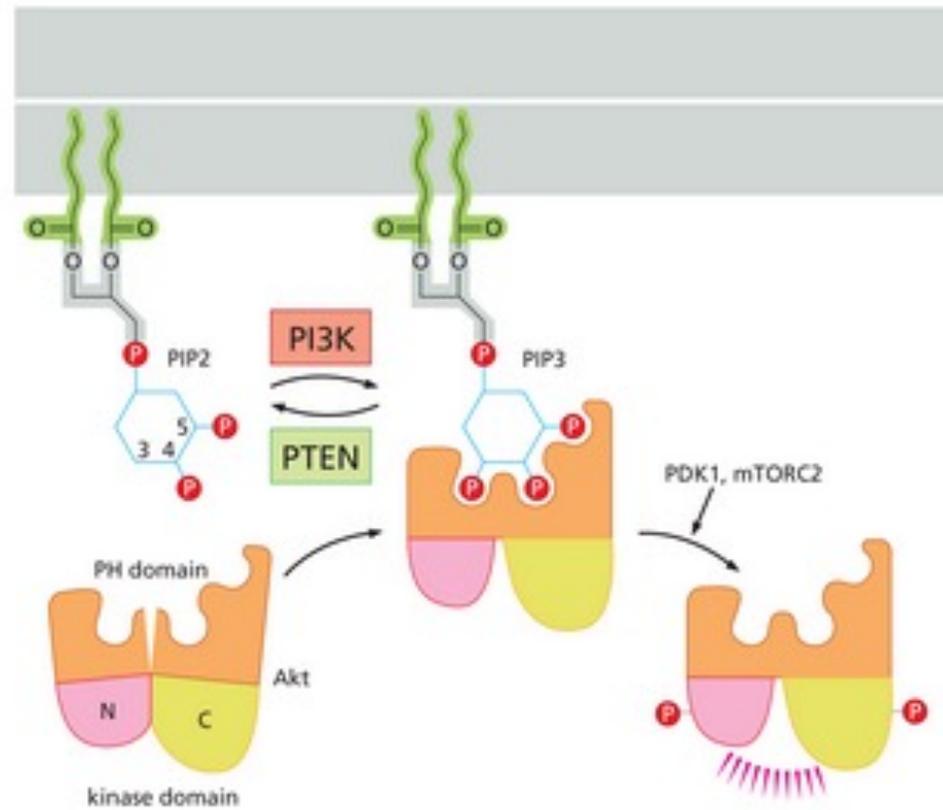


MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase

Voies de signalisation dépendantes des phosphatidyl-inositols

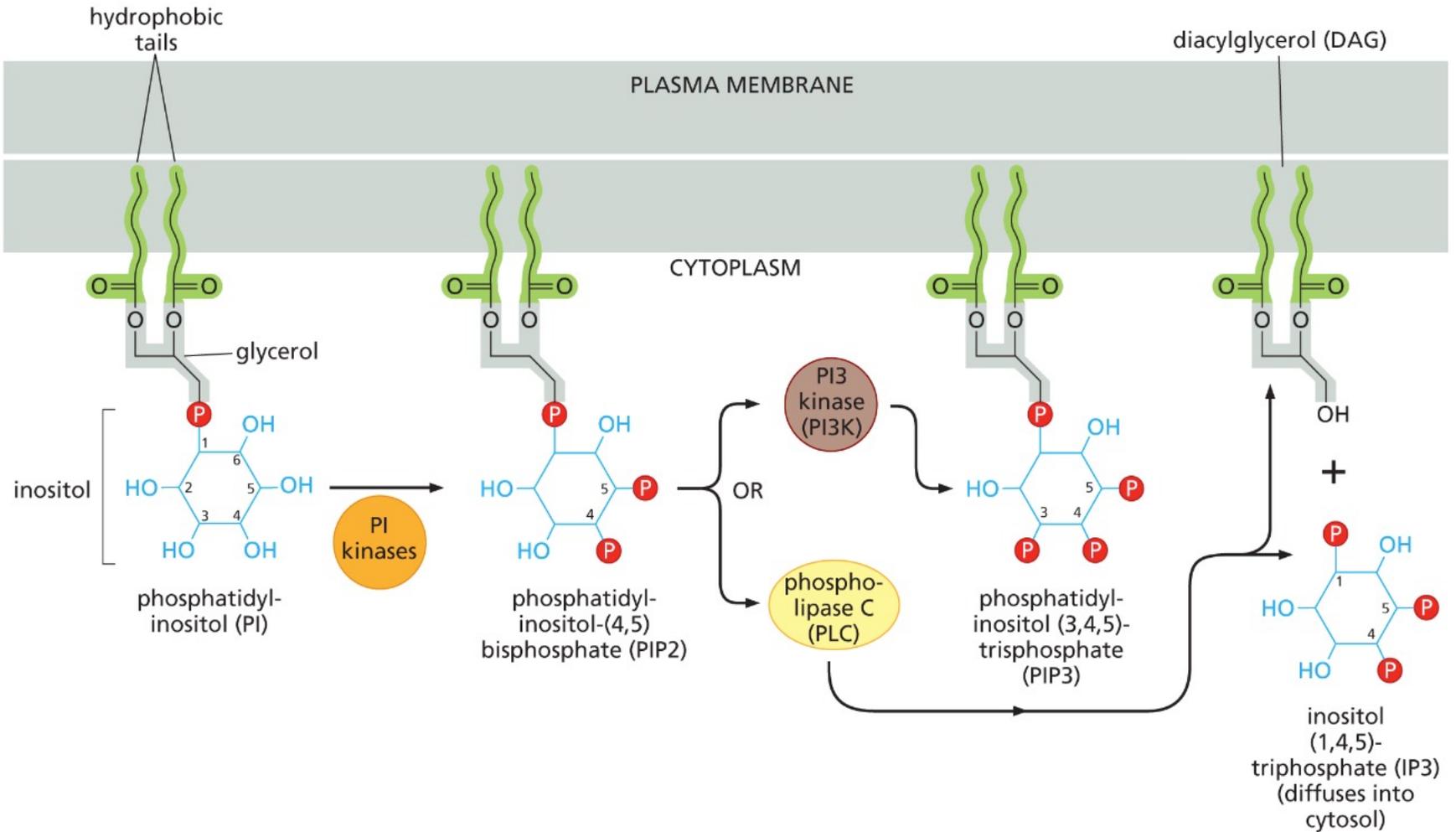
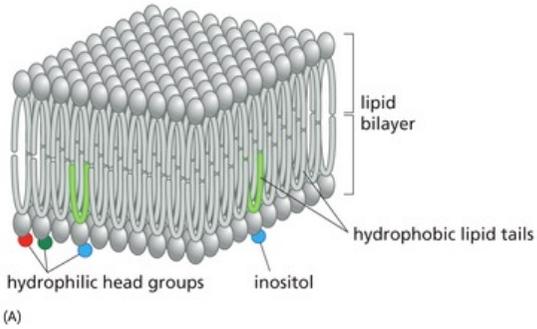


PIP3 et activation de la kinase AKT

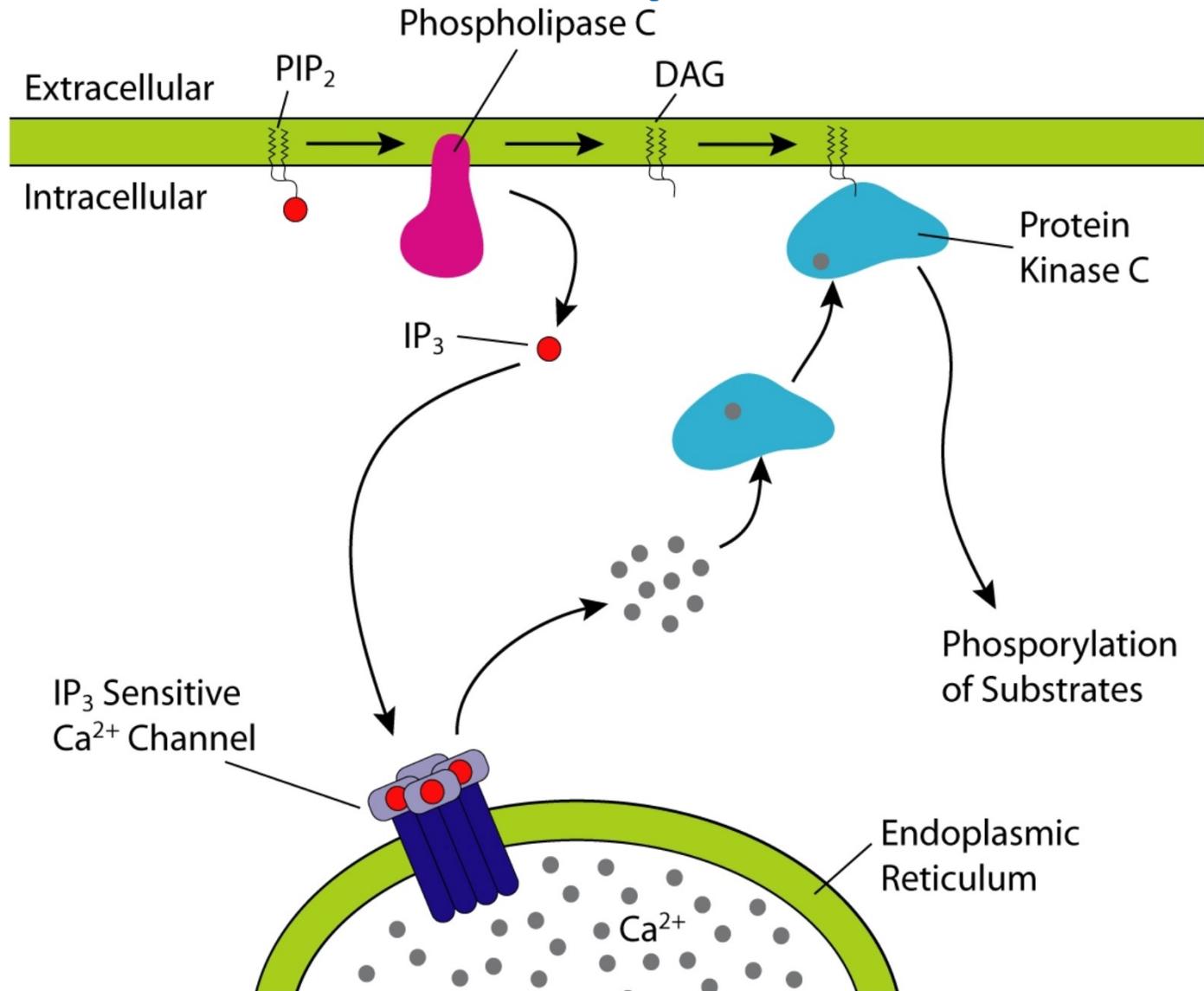


(A)

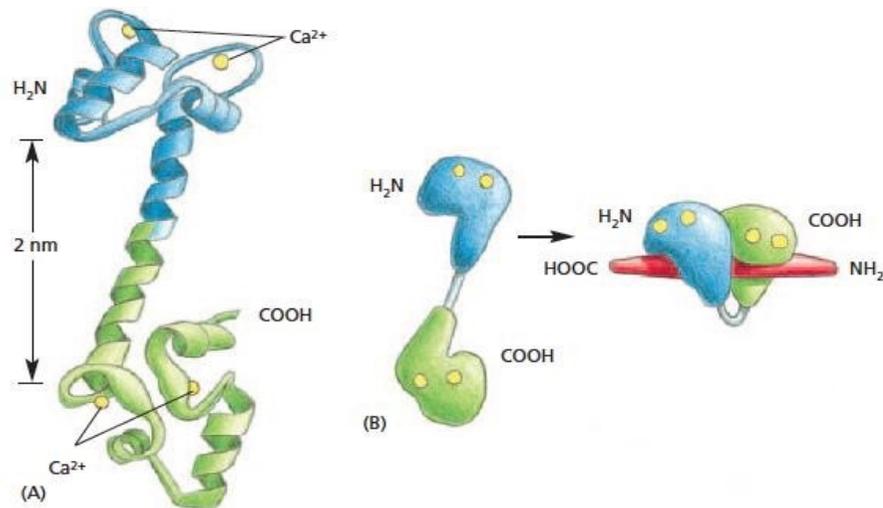
Voies de signalisation dépendantes des phosphatidyl-inositols



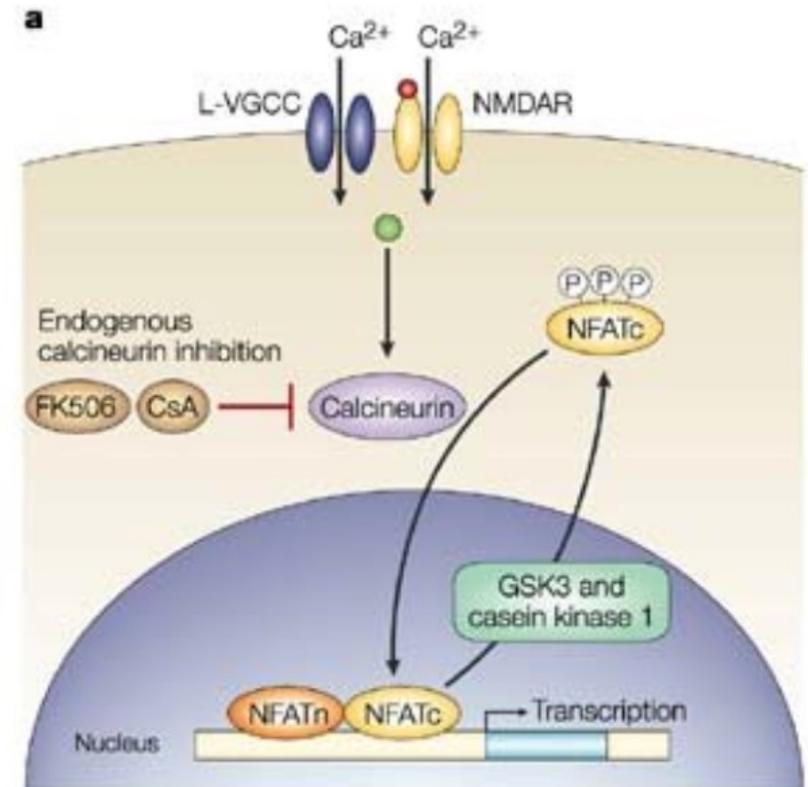
L'inositol triphosphate favorise le relargage d'ions Ca^{2+} par le RE



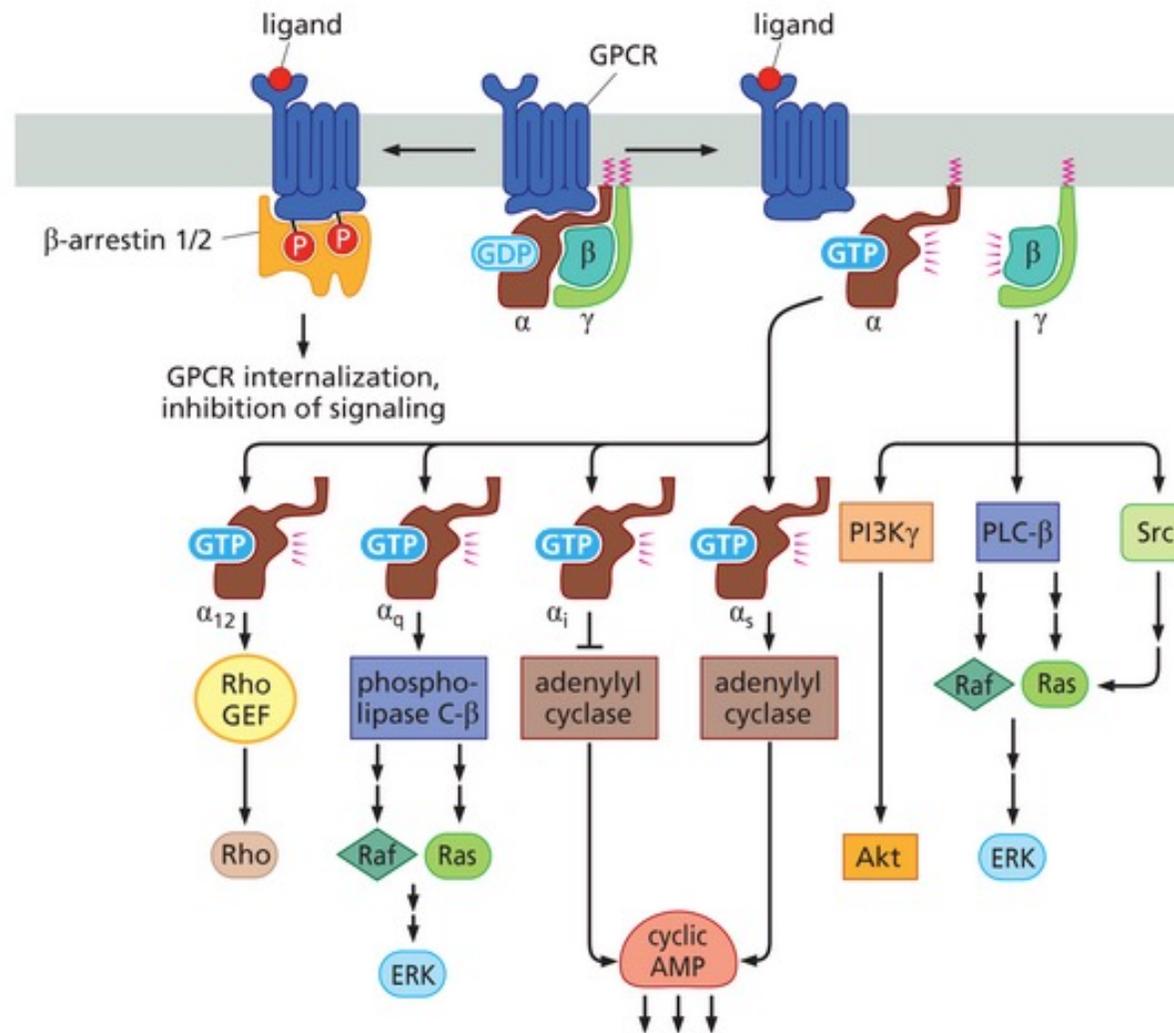
La Calcineurin est une phosphatase activée par Ca^{2+} qui régule l'import de NFAT dans le noyau



La Calcineurin



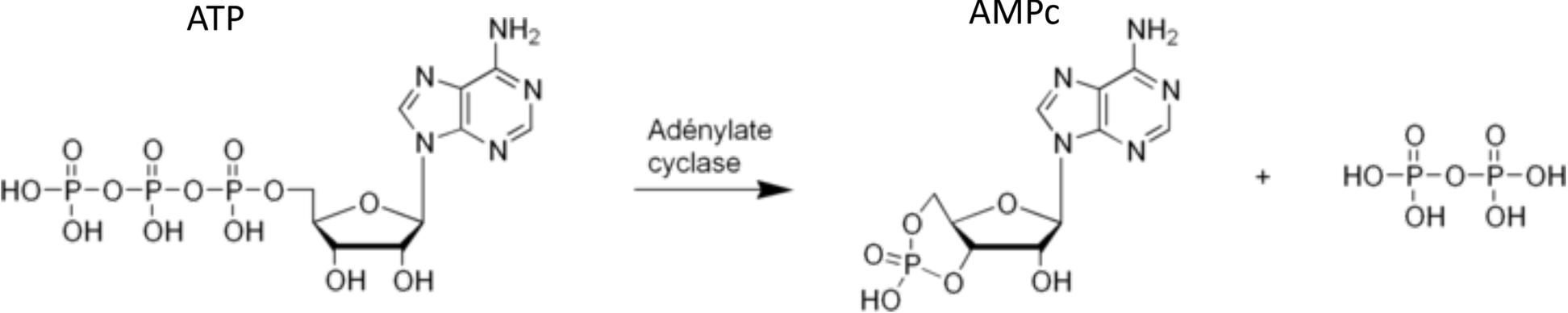
Les voies de signalisation régulées par les récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques (GPCR)



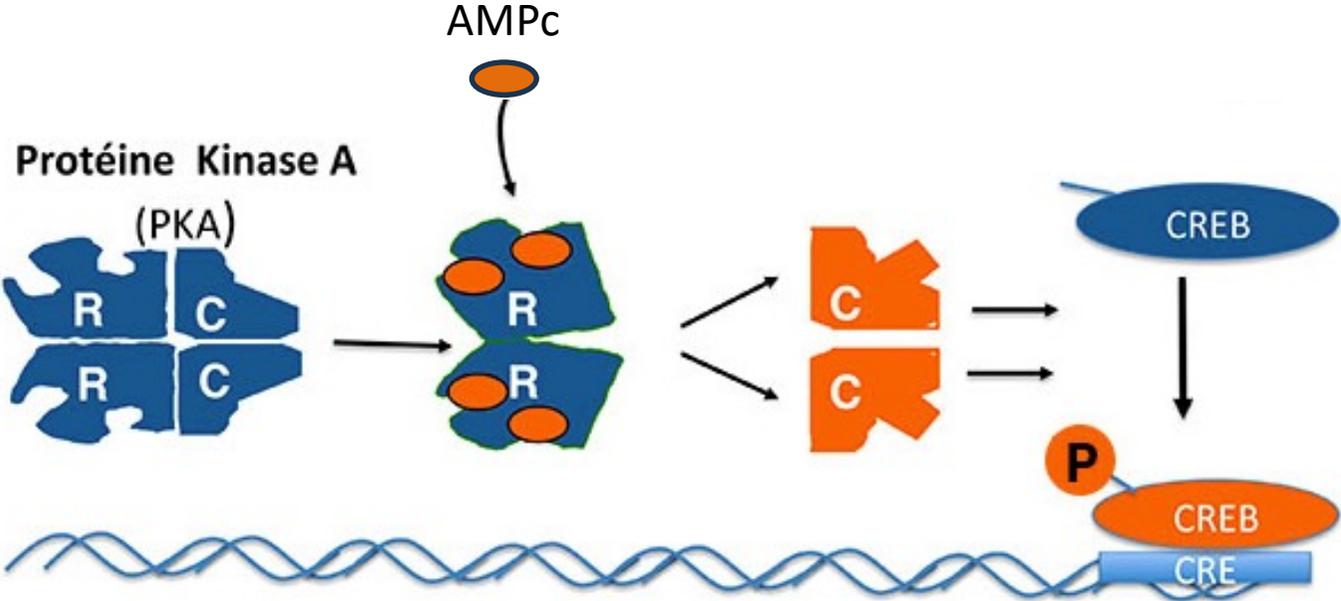
Les GPCR liés à leurs ligands agissent comme des GEF vis-à-vis des protéines $G\alpha$

Signalisation médiée par l'AMPC

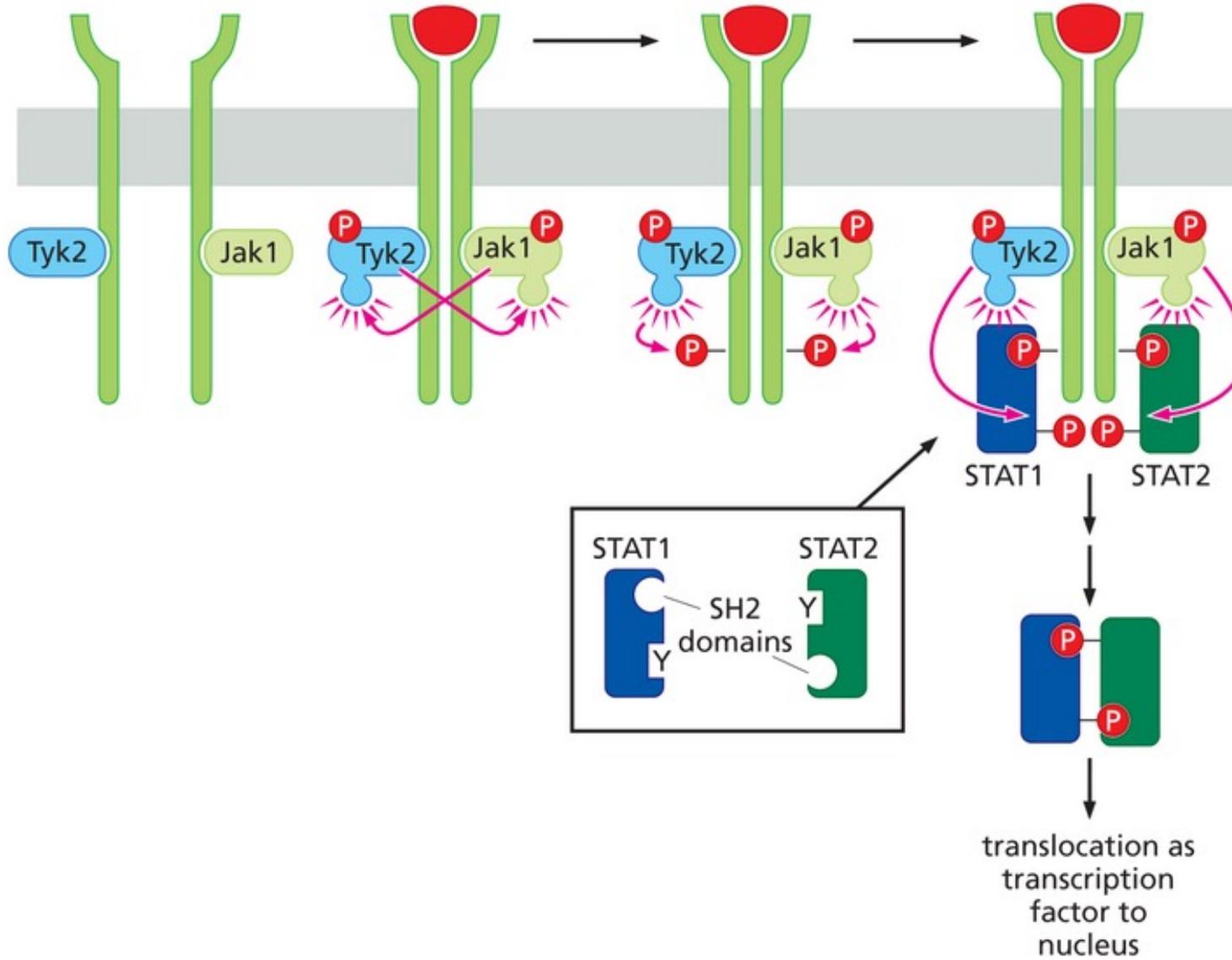
1/ Biosynthèse de l'AMPC par l'Adénylate cyclase



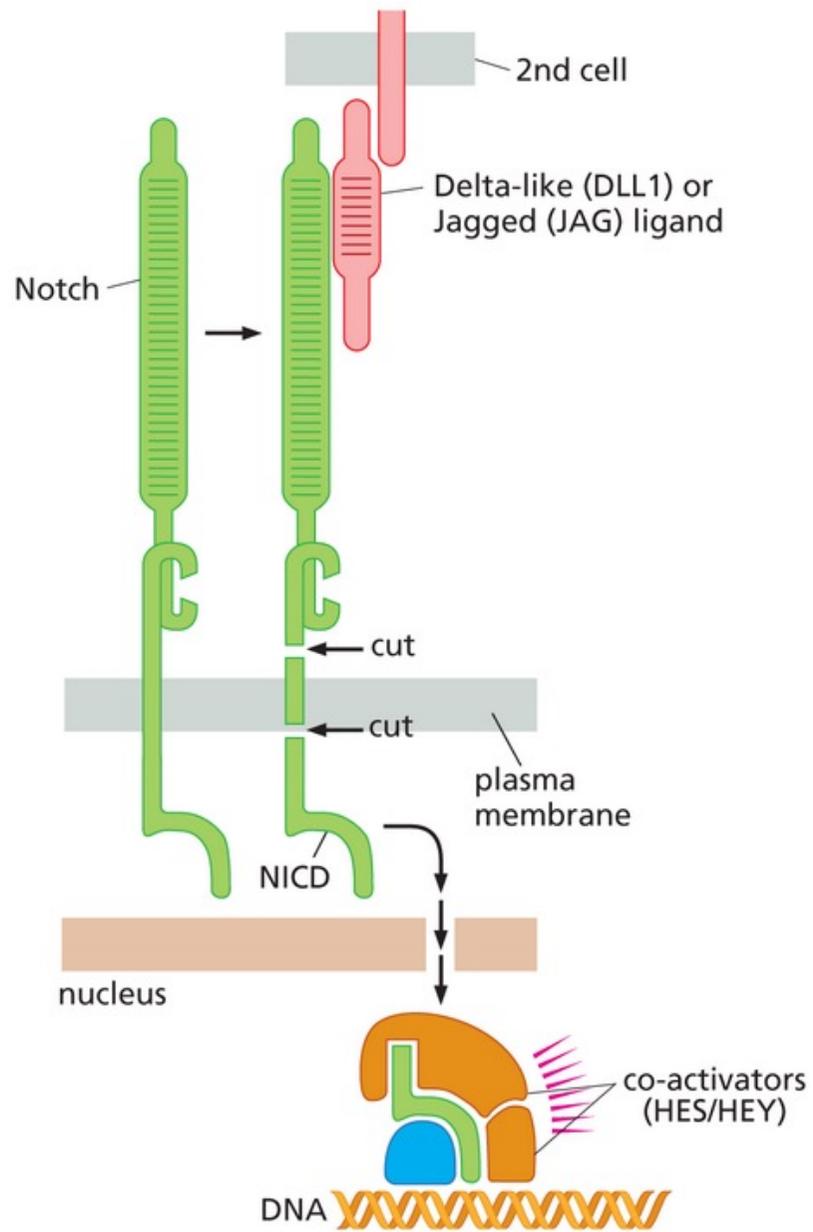
2/ Activation de la protéine kinase A (PKA) par l'AMPC



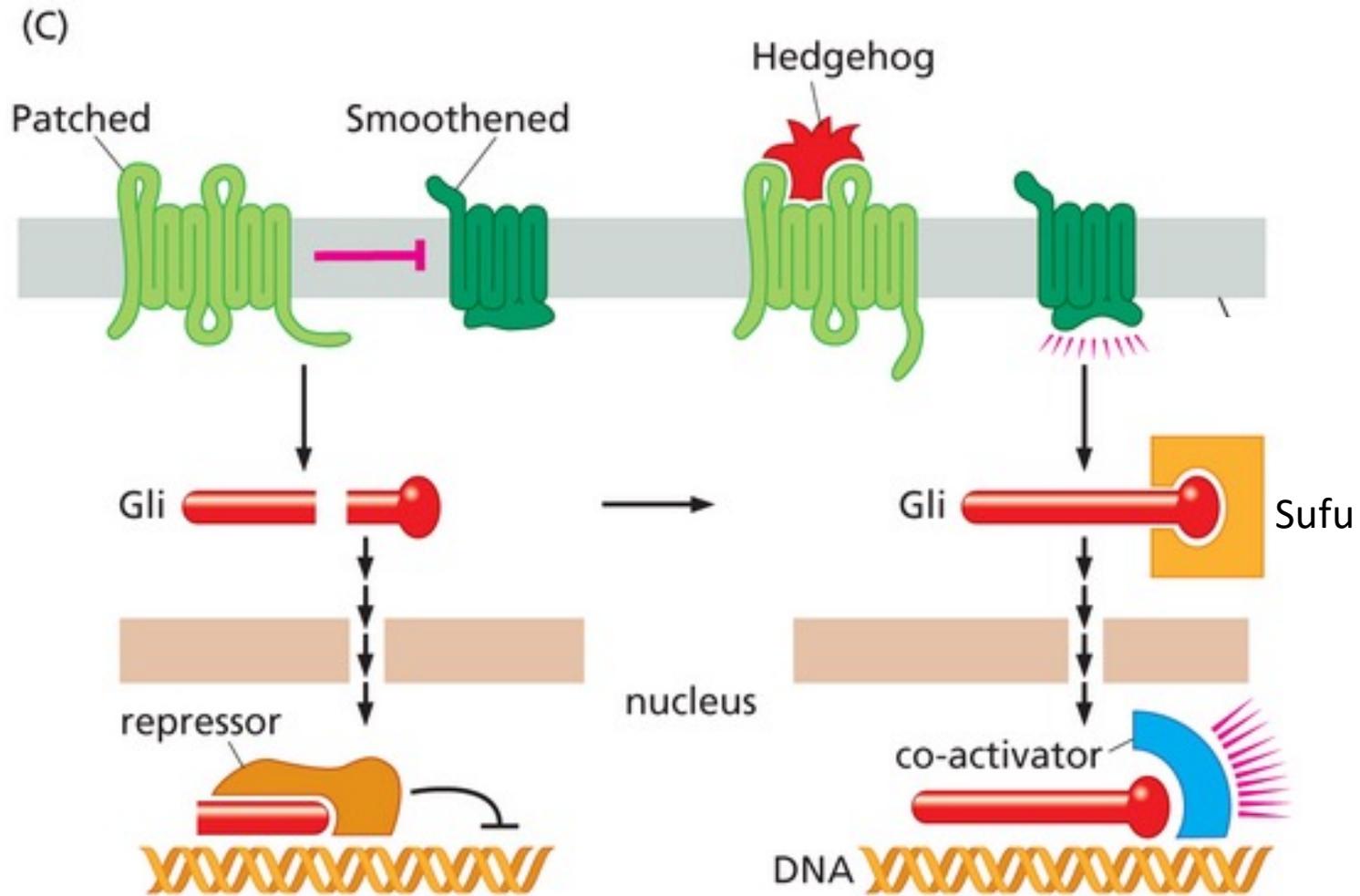
La voie Jak/STAT



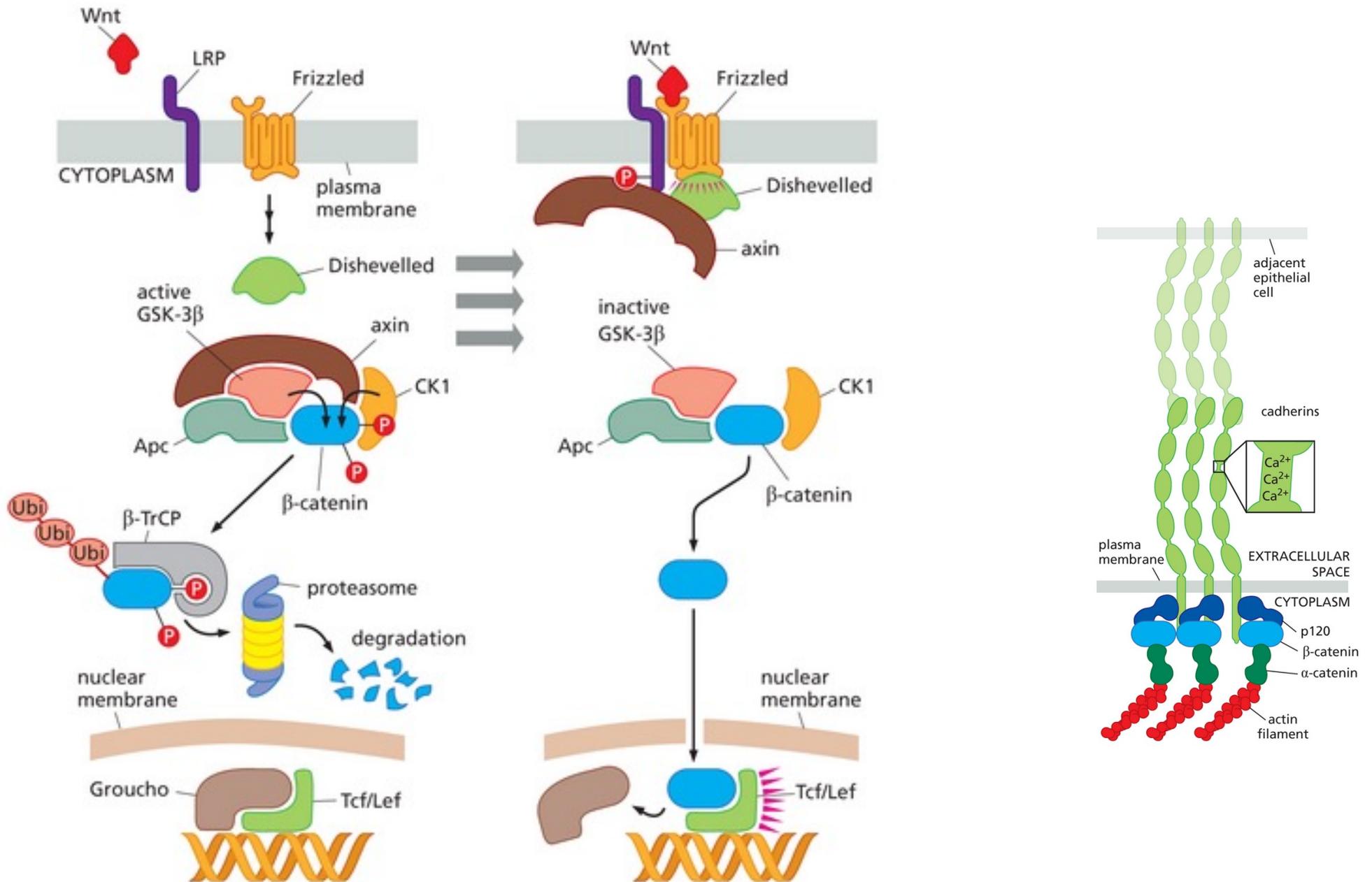
La voie Notch



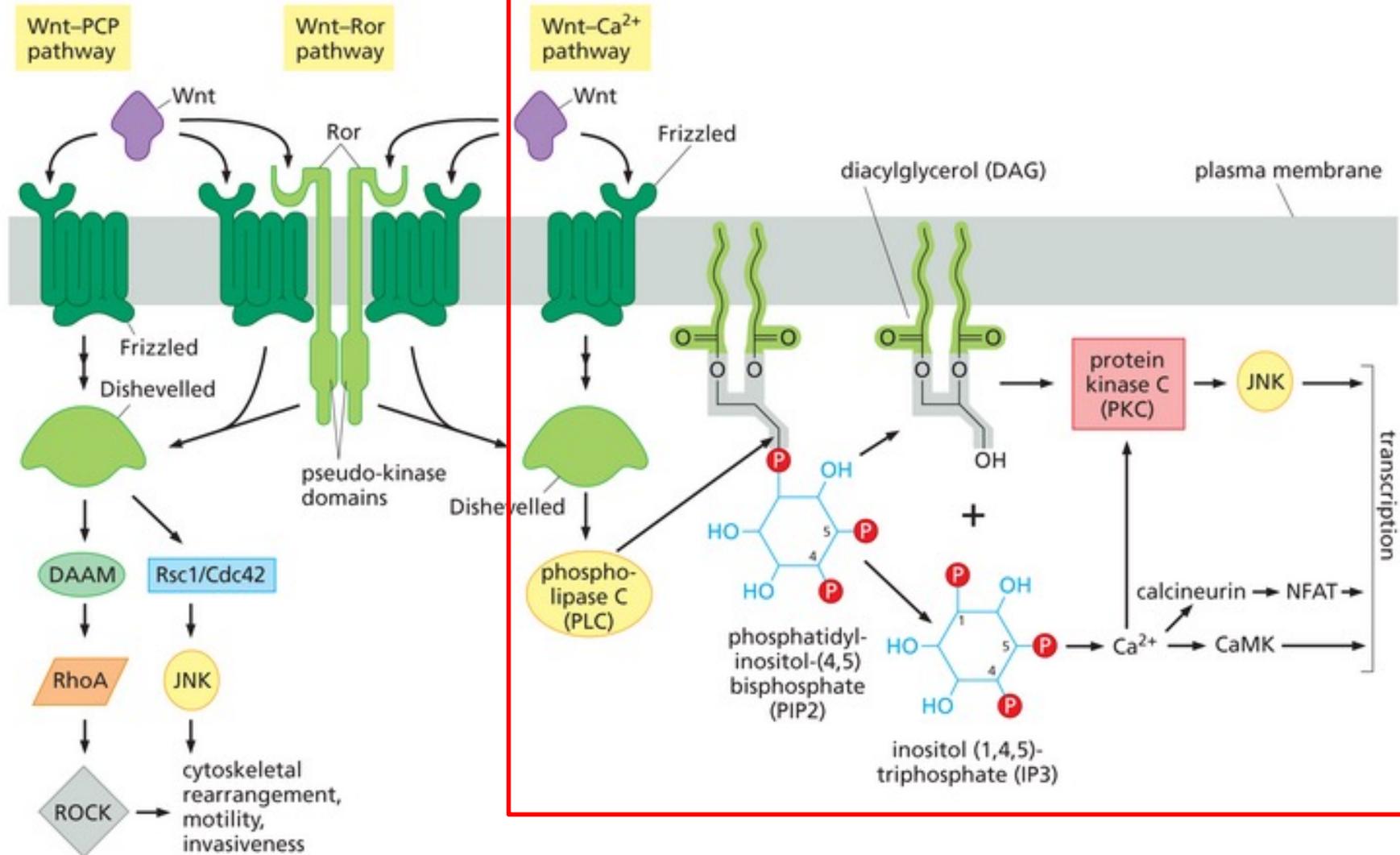
La voie Hedgehog



La voie Wnt/ β -Catenin (voie canonique)

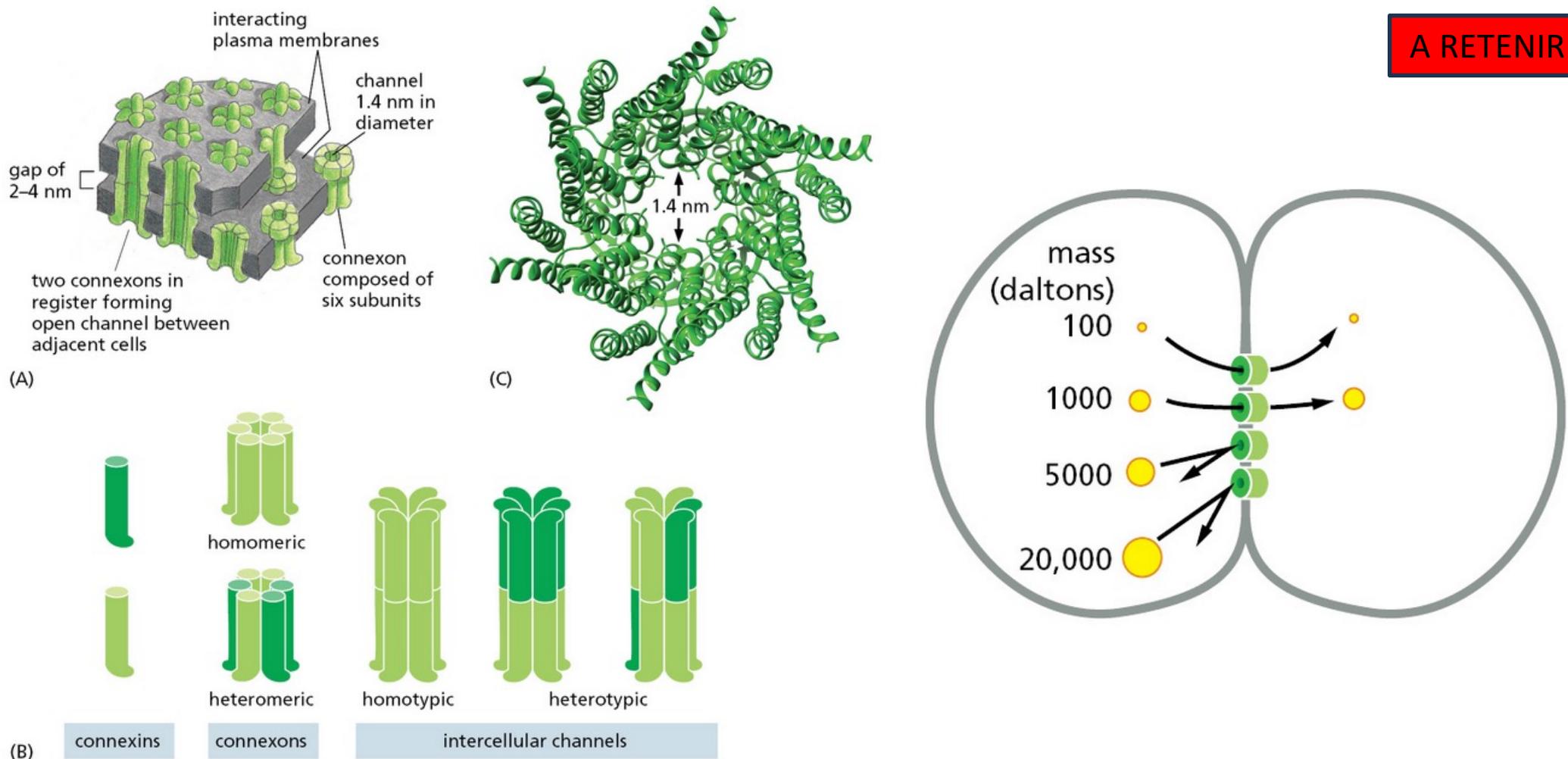


Les voies Wnt non canoniques



Les jonctions GAP et la diffusion de petites molécules de signalisation

A RETENIR !

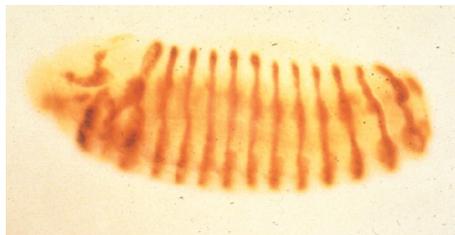


Les jonctions GAP permettent la diffusion d'une cellule à l'autre de petites molécules comme les ions Ca^{2+} ou l'inositol triphosphate (IP3) ou l'AMPc et donc la propagation rapide de signaux de communication intracellulaire au sein d'un ensemble de cellules !



Voies de signalisation
et
développement

Interactions entre les voies Wingless et Hedgehog pendant la segmentation chez la drosophile



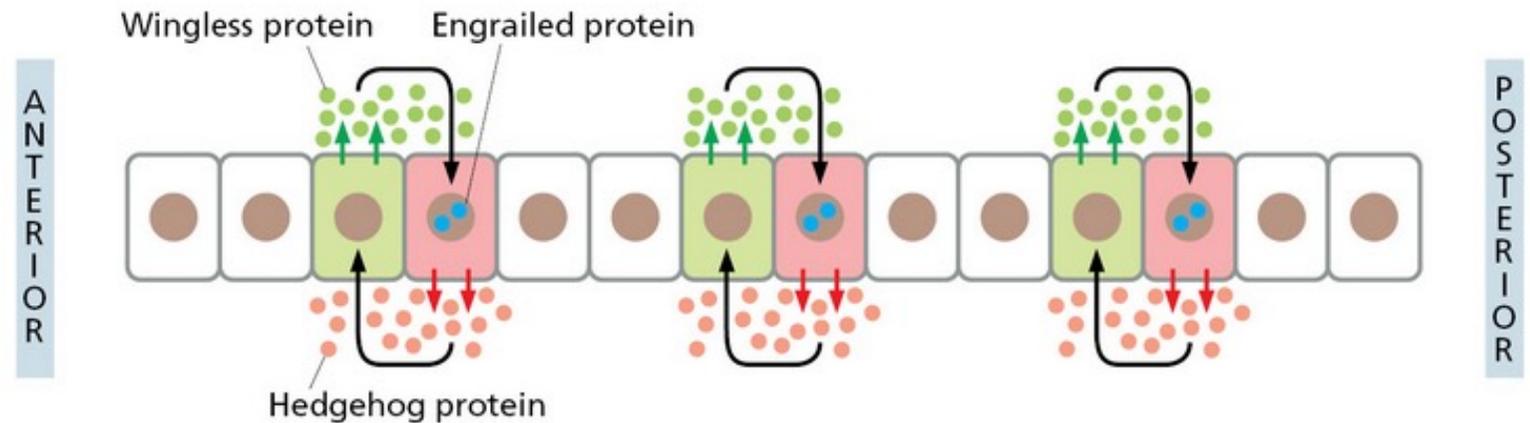
10-hour embryo

100 μ m



adult

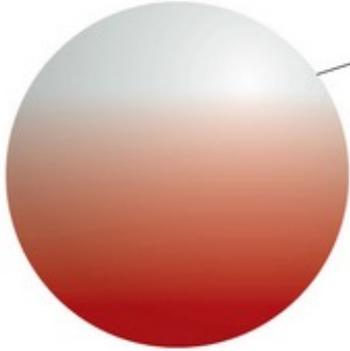
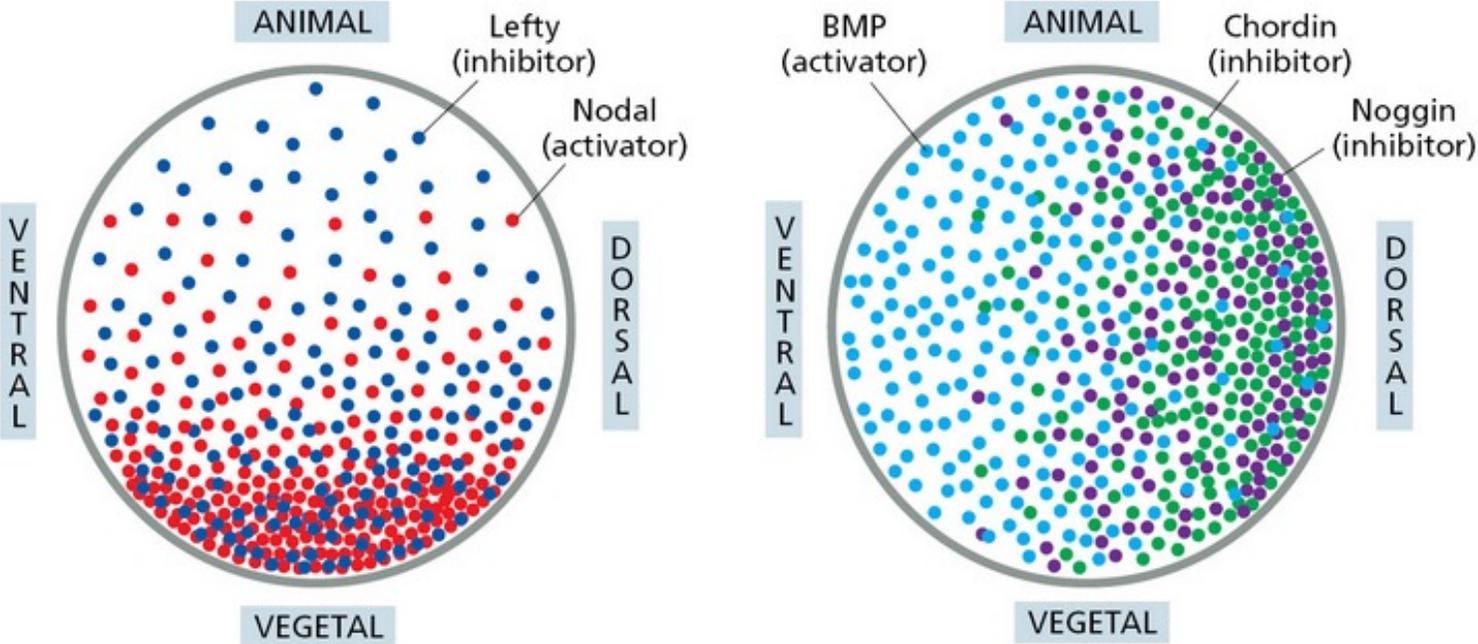
500 μ m



Engrailed-LacZ fly

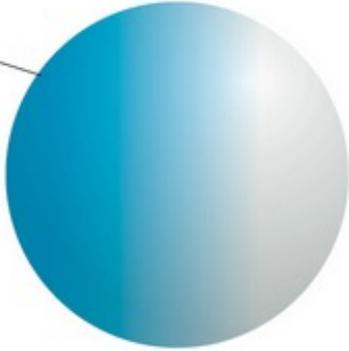
Engrailed, un facteur de transcription à homéodomaine, active l'expression du ligand Hedgehog

Gradients d'activités et définition des axes embryonnaires



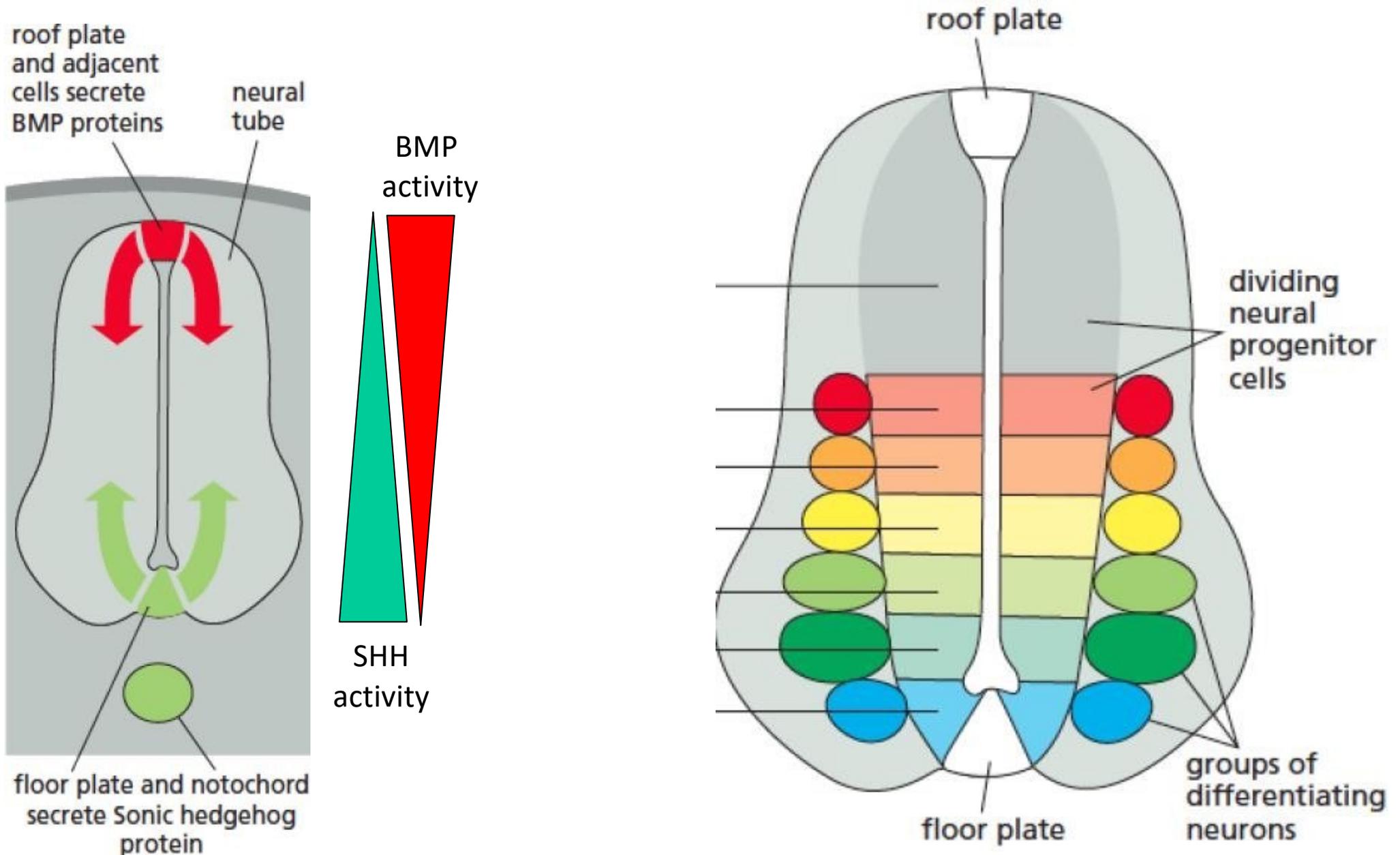
(A) resulting Nodal activity

frog embryo

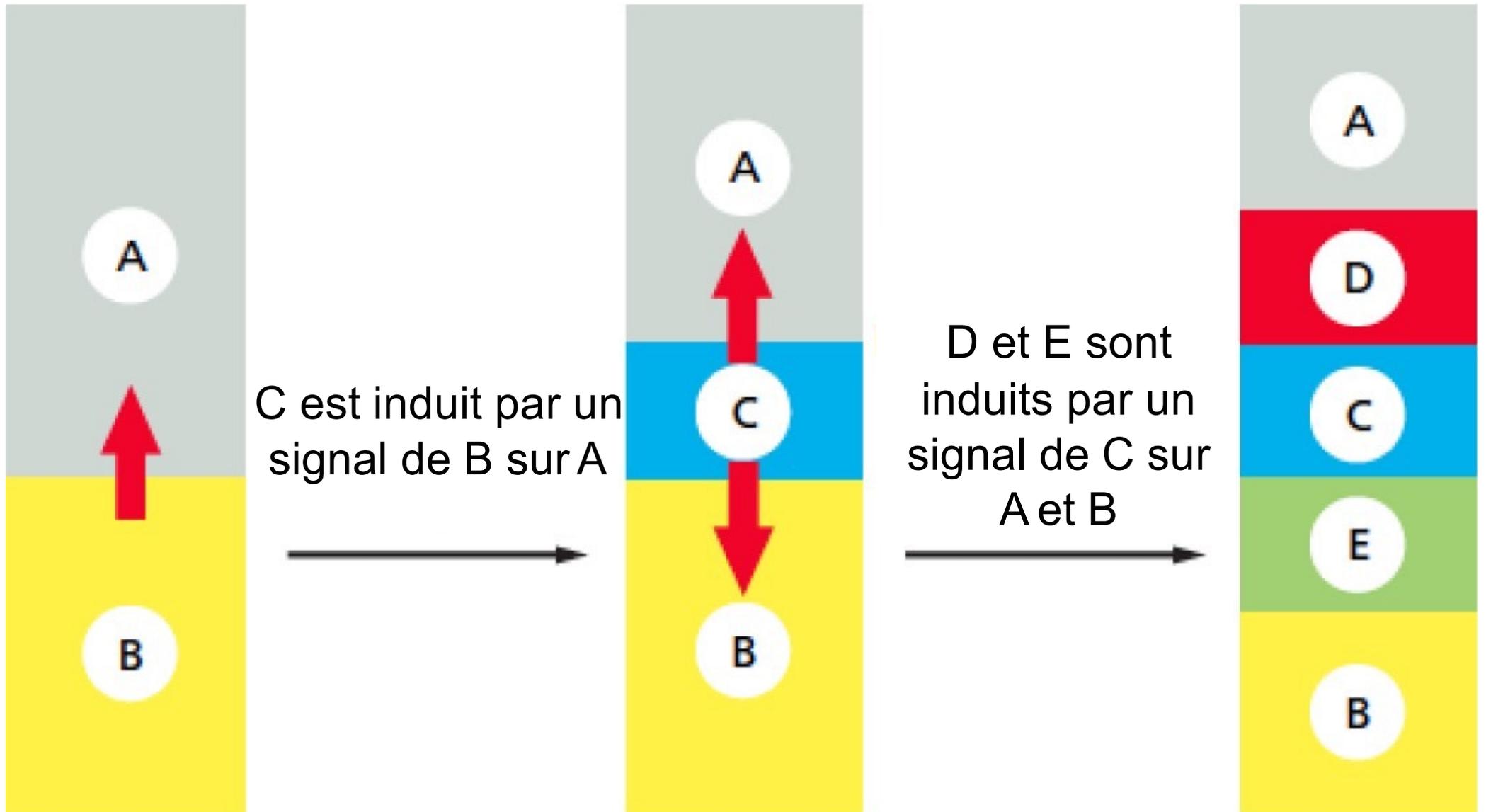


(B) resulting BMP activity

Gradients d'activités et spécification cellulaire



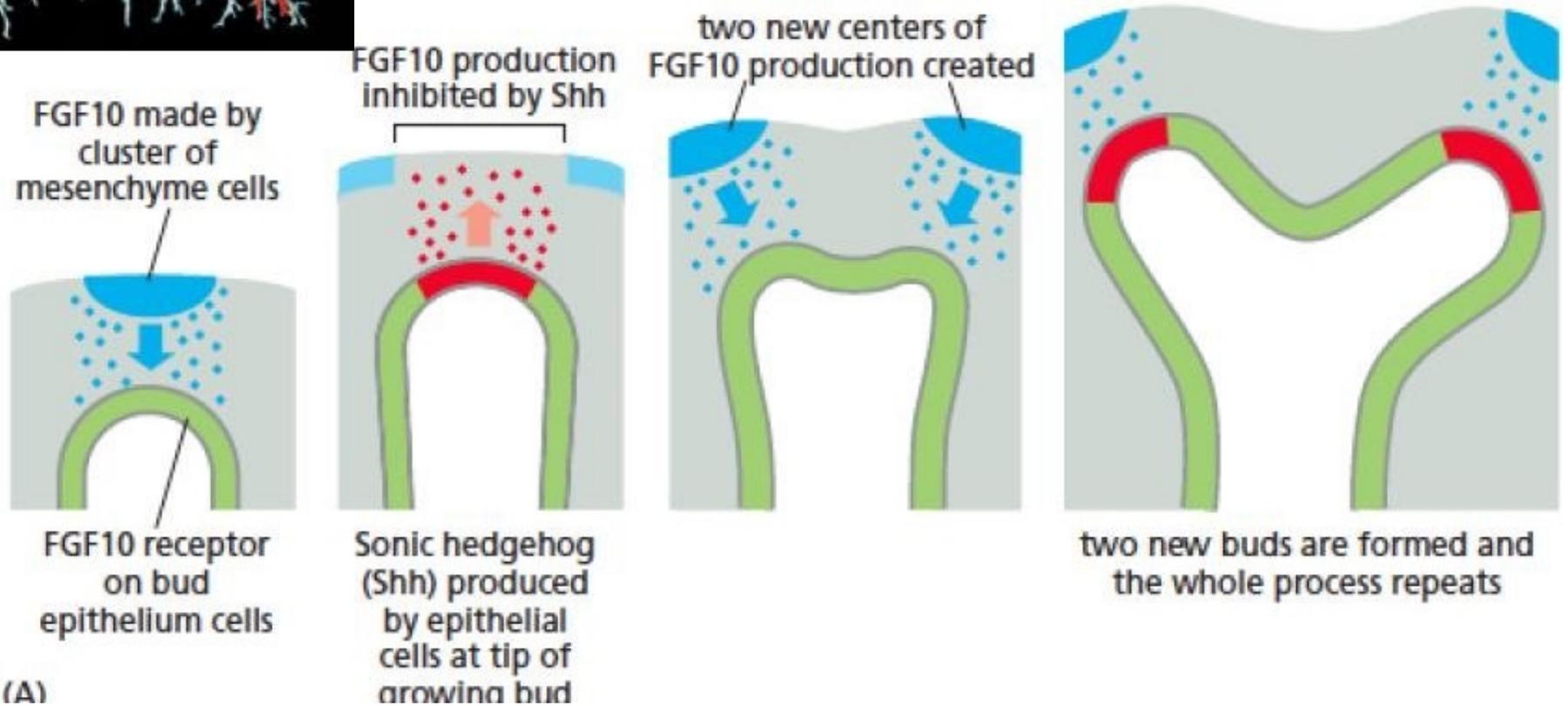
Produire un inducteur de stimulus



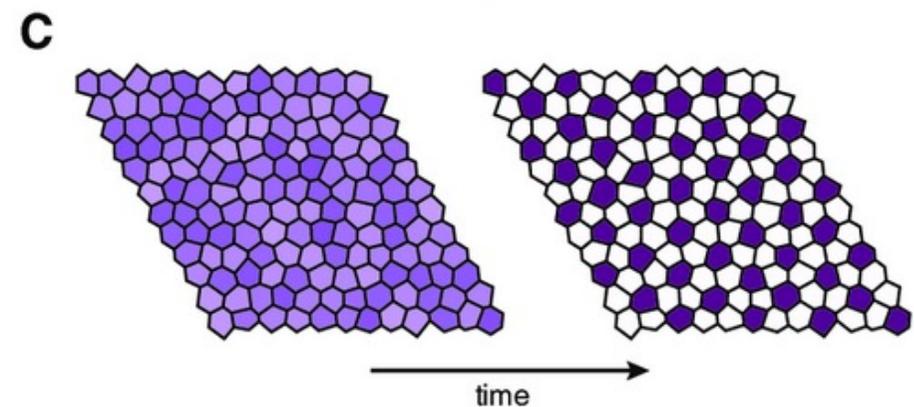
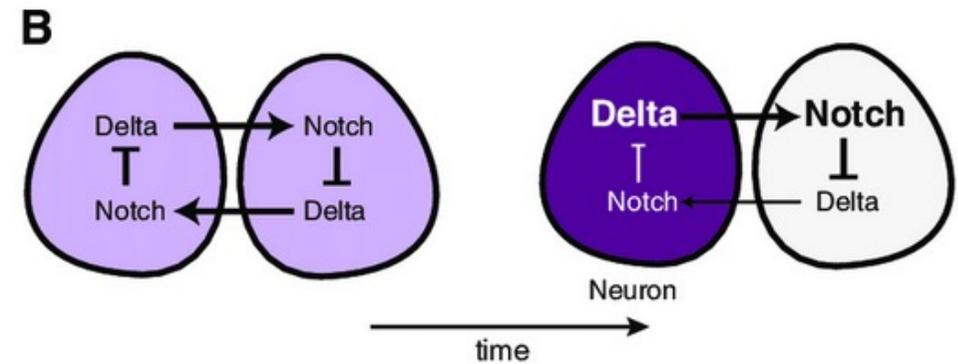
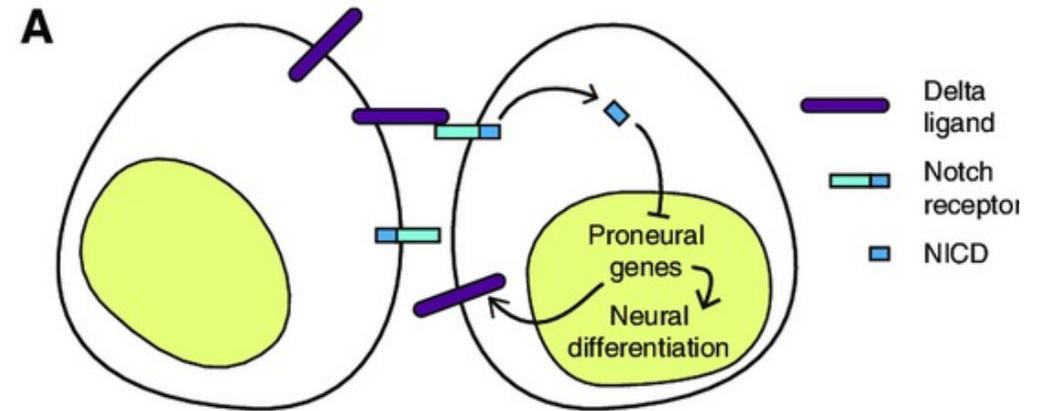
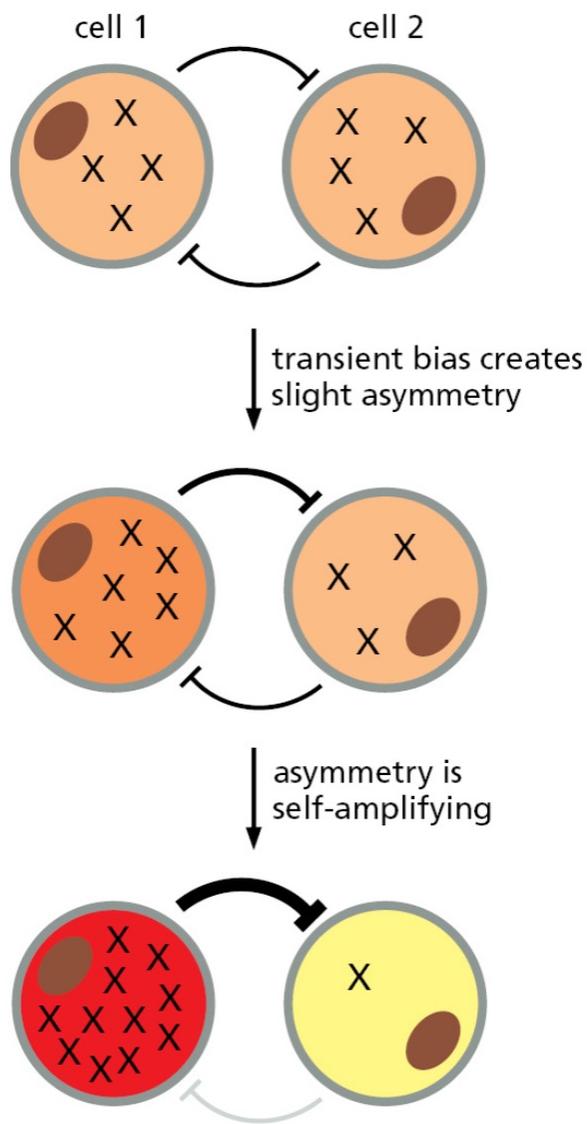
→ série d'interactions inductrices engendre de nombreux types de cellules



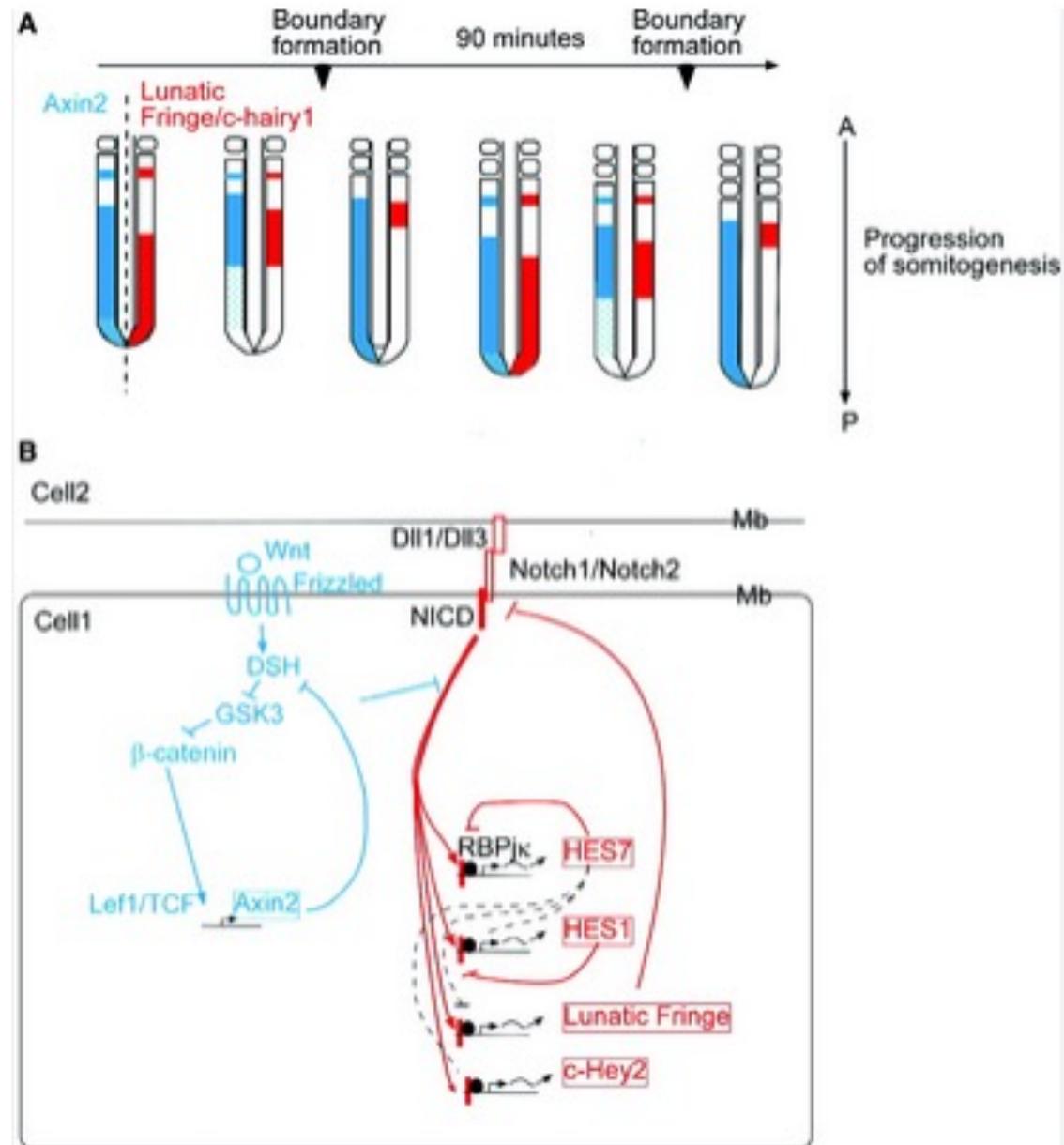
Comment créer un système ramifié (arbre bronchique)



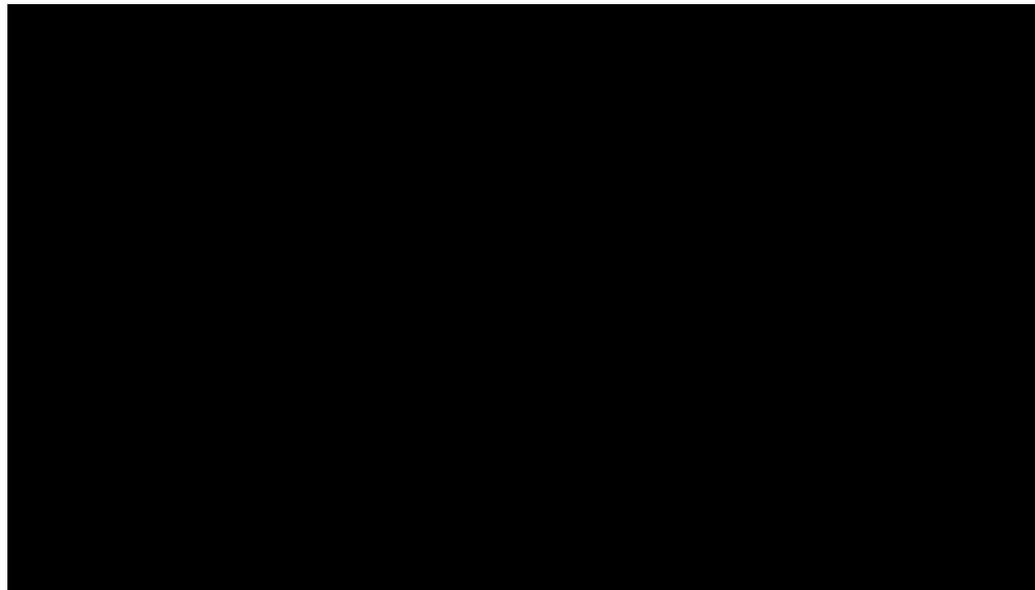
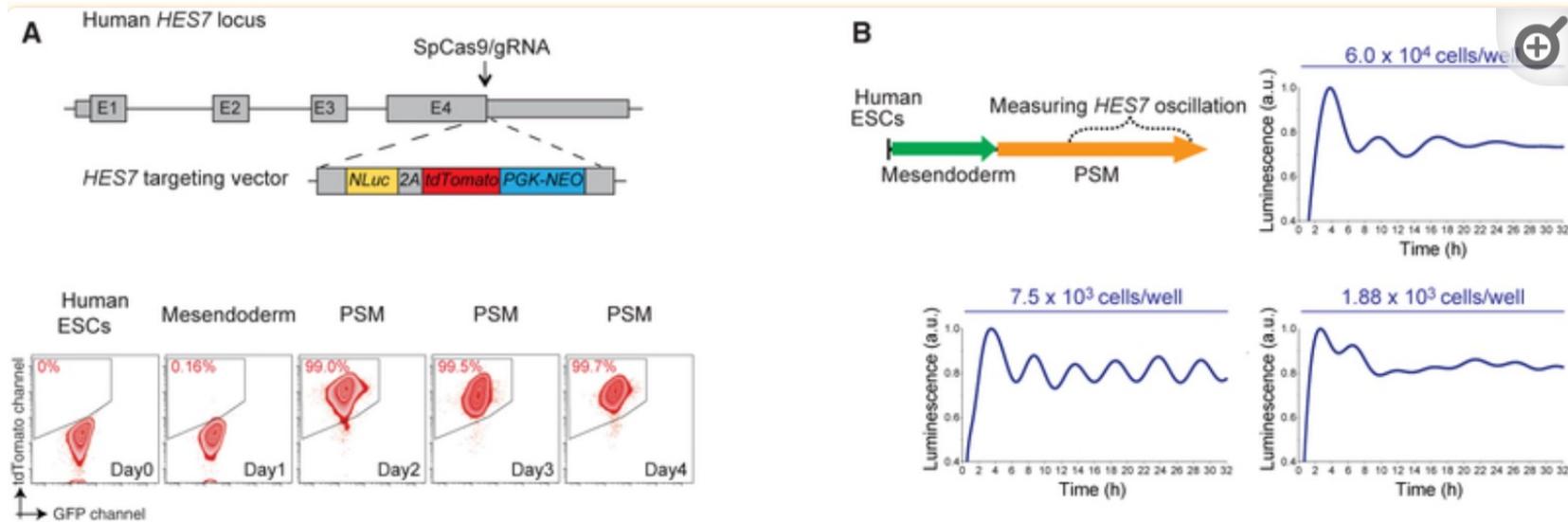
Voie de signalisation Delta/Notch et inhibition latérale



Voie Notch et l'horloge de segmentation au cours de la somitogénèse



Ex: Oscillation de l'expression du répresseur de la transcription Hes7 dans des cellules de mésoderme présomitique dérivées d'iPS humaines

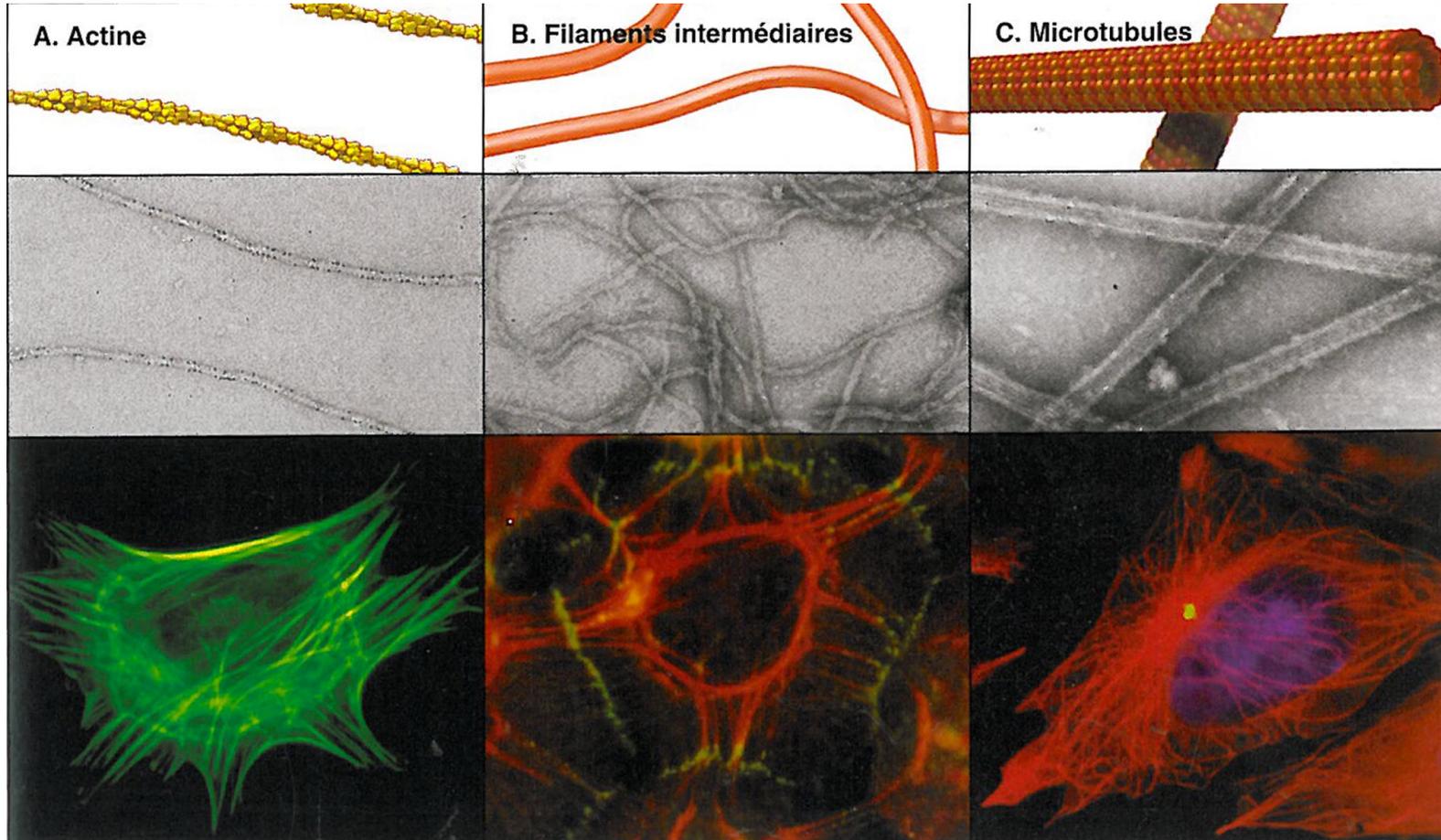


A photograph of a red running track with white lane markings curving into the distance. The track is the central focus, with the lanes curving from the foreground towards the background. The text is centered over the track.

**Cytosquelette et
signalisation cellulaire**

.... le(s) cytosquelette(s)

A RETENIR !



~ 8 nm
de diamètre

~ 10 nm
de diamètre
(6 types différents)

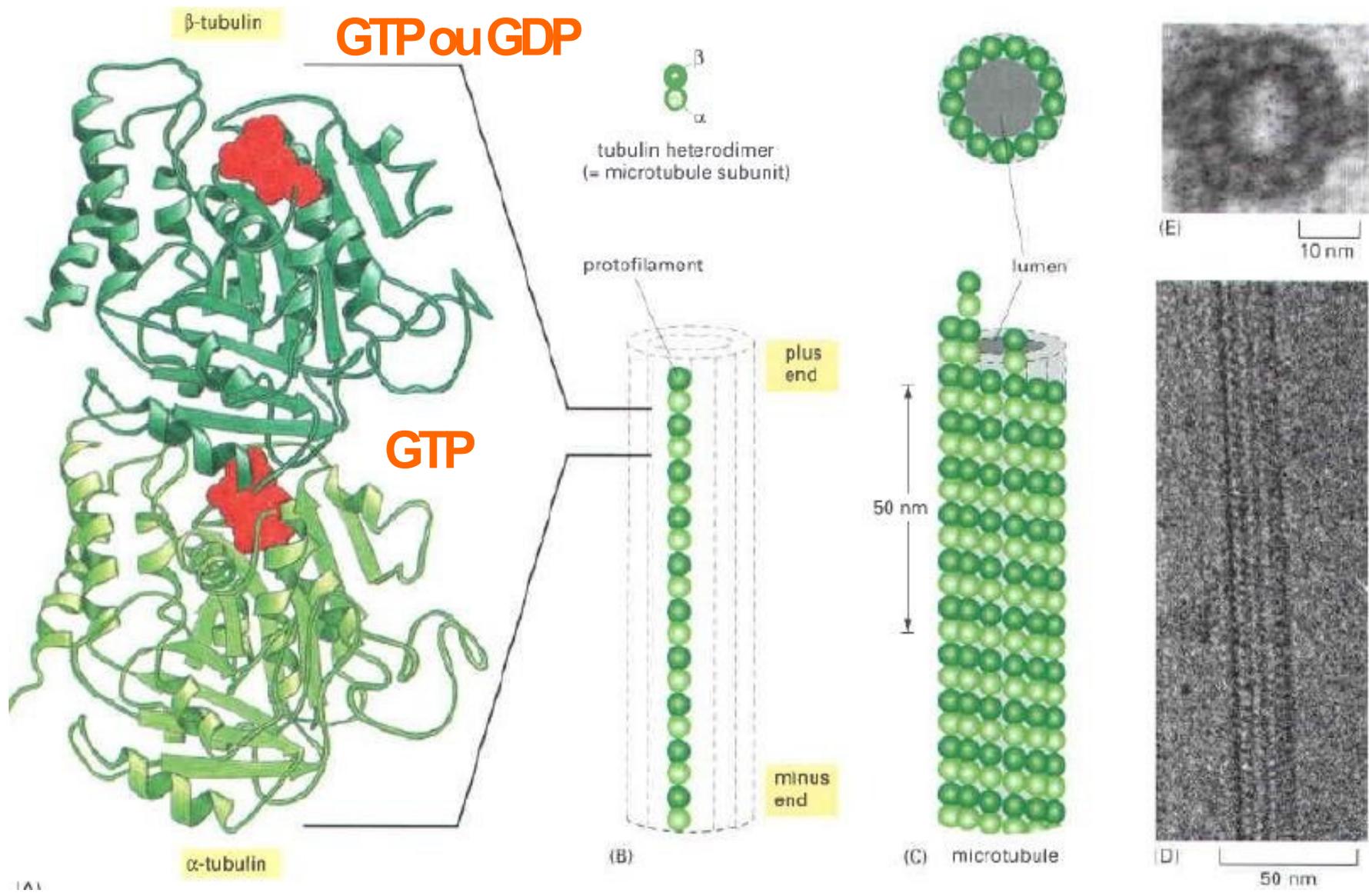
~ 25 nm
de diamètre

Microtubules et signalisation

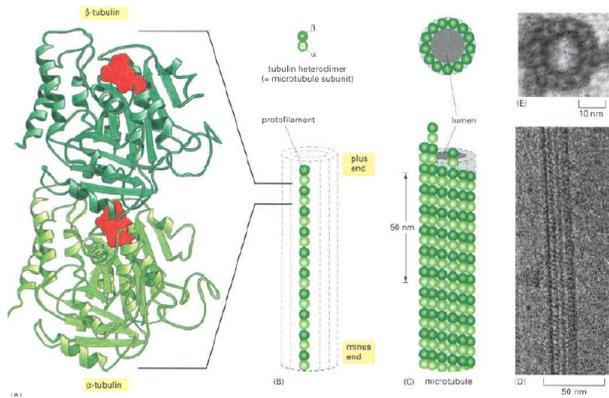


Les microtubules

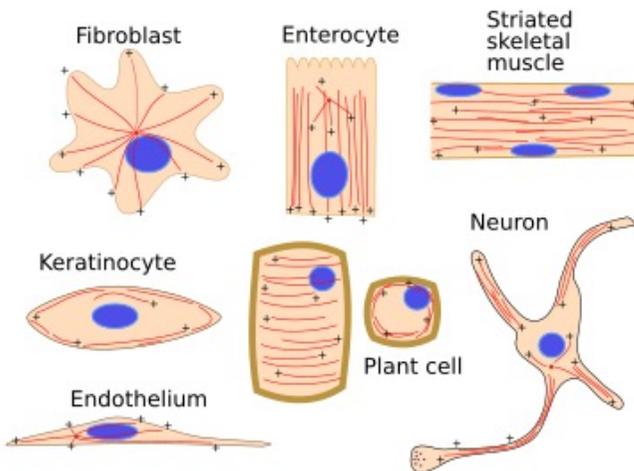
A RETENIR !



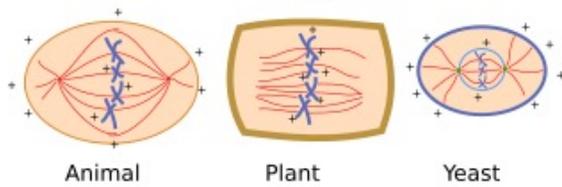
Les microtubules



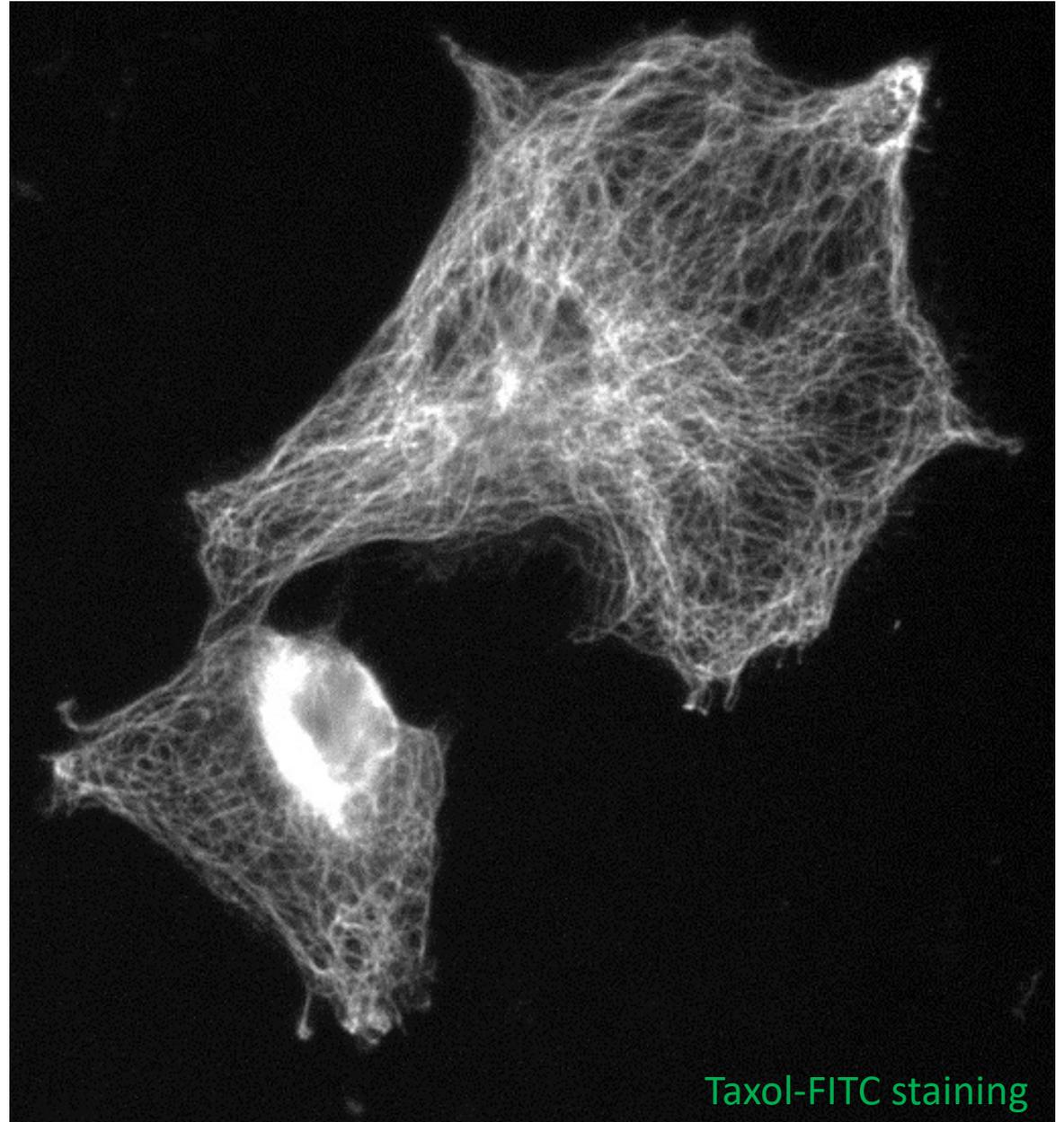
Interphase



Mitosis

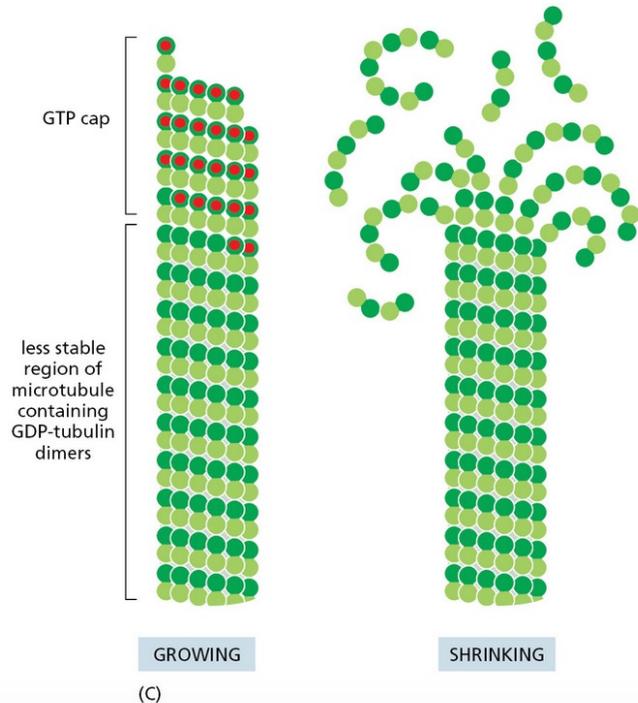
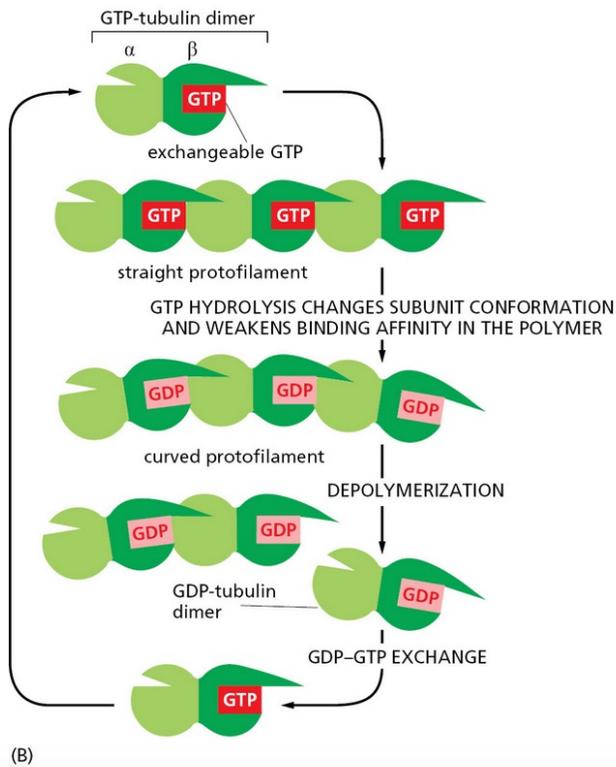
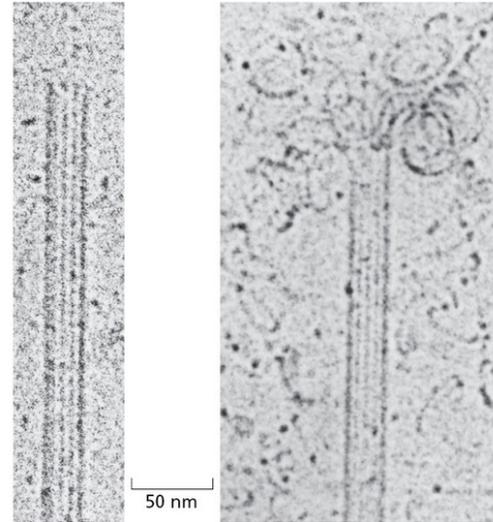
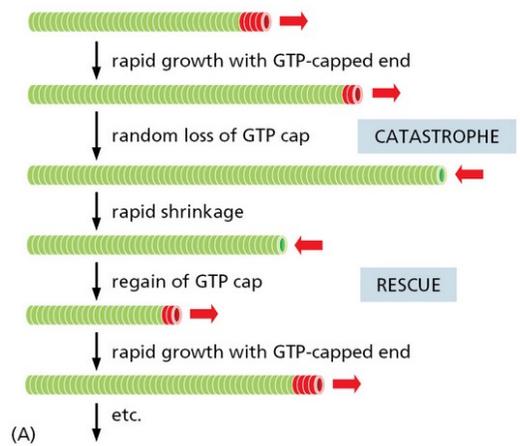


+ cils et flagelles

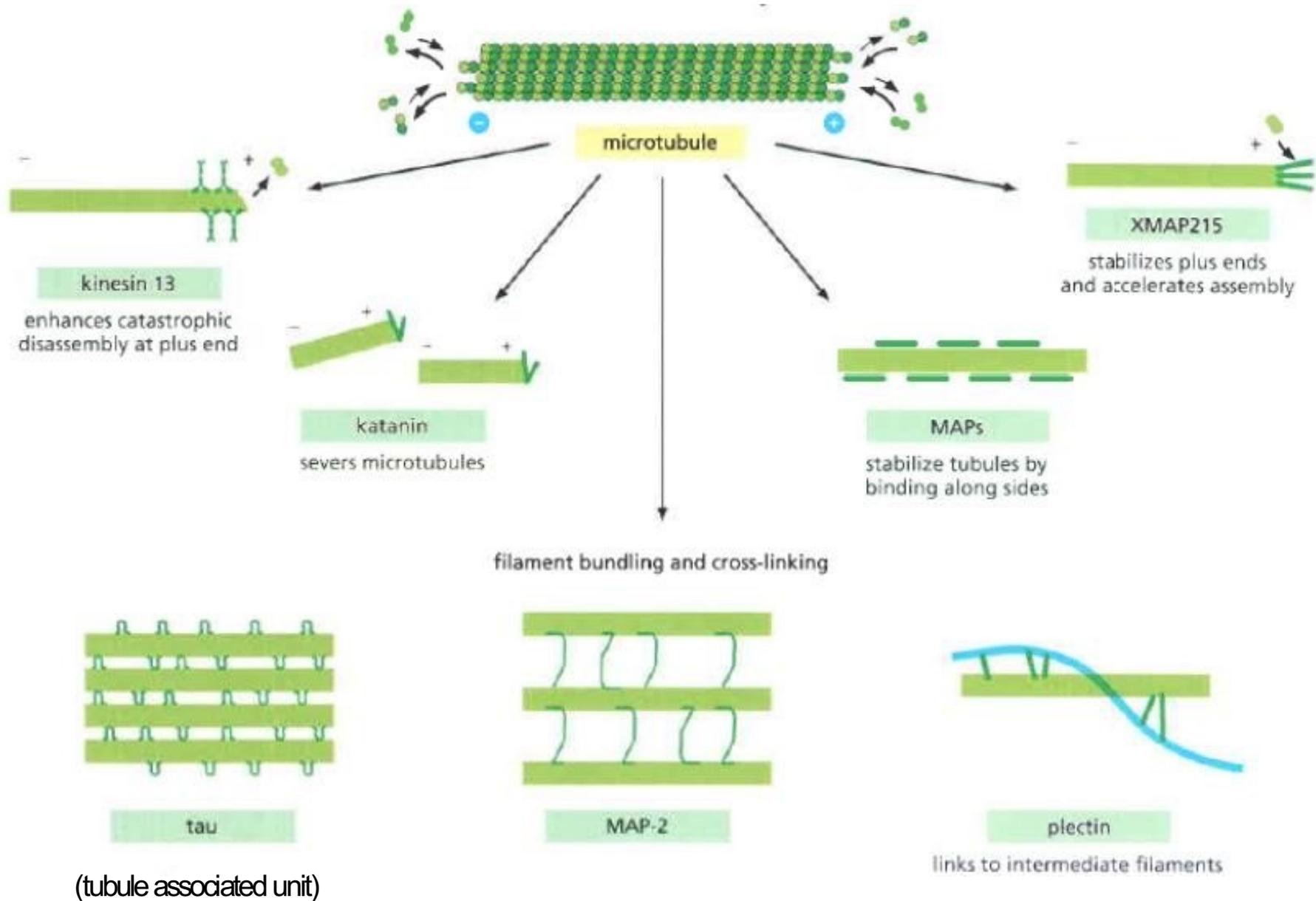


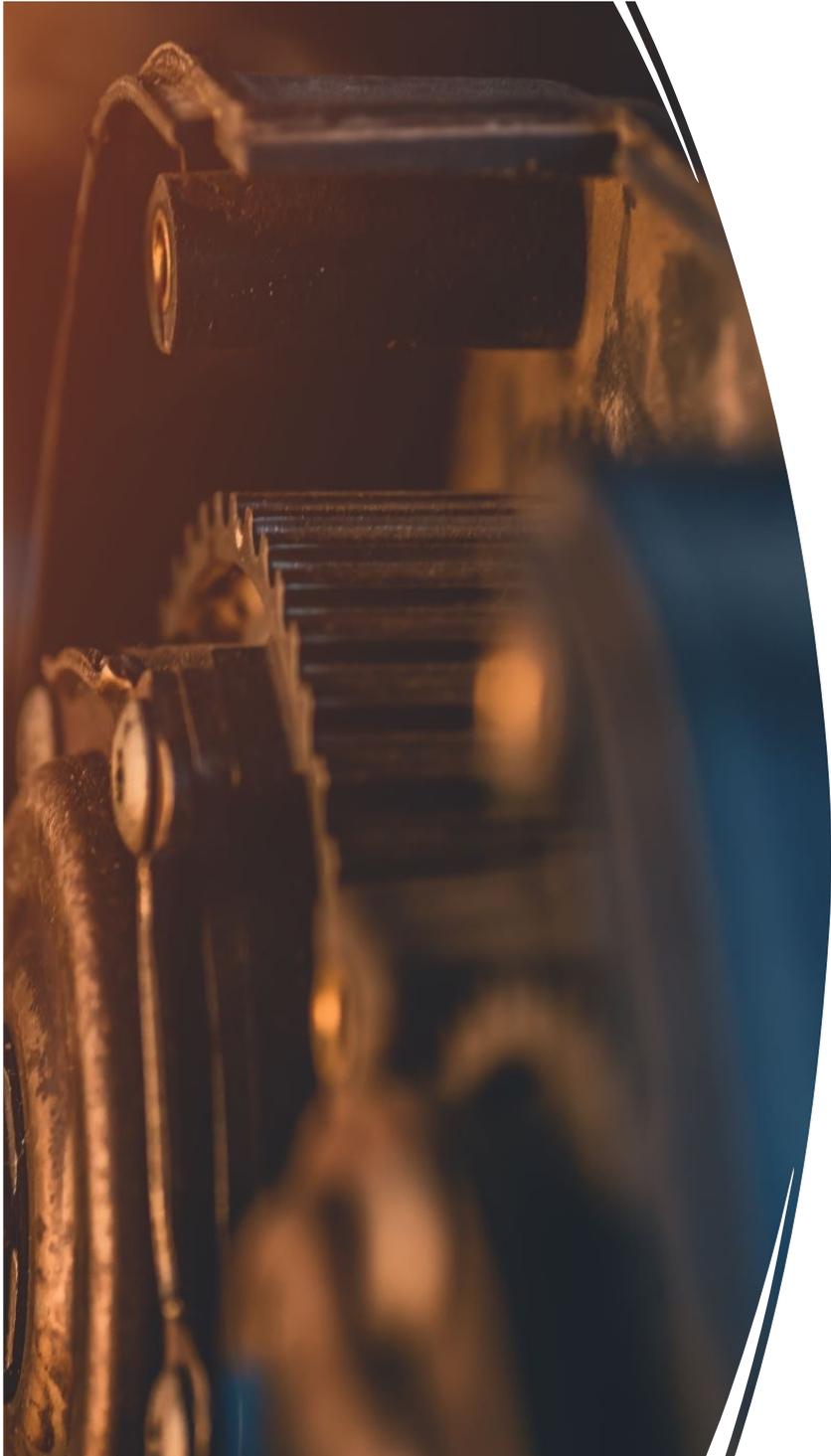
Dynamique des microtubules

A RETENIR !



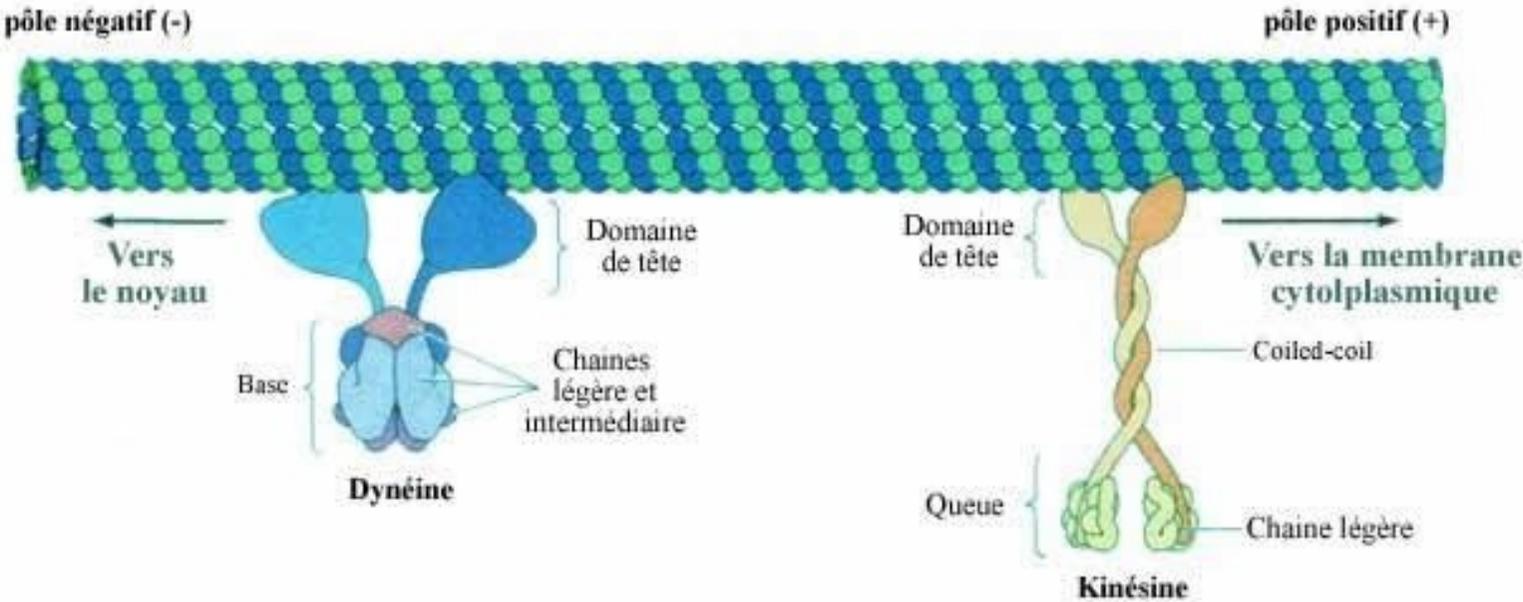
(Dé-)Stabilisation des microtubules





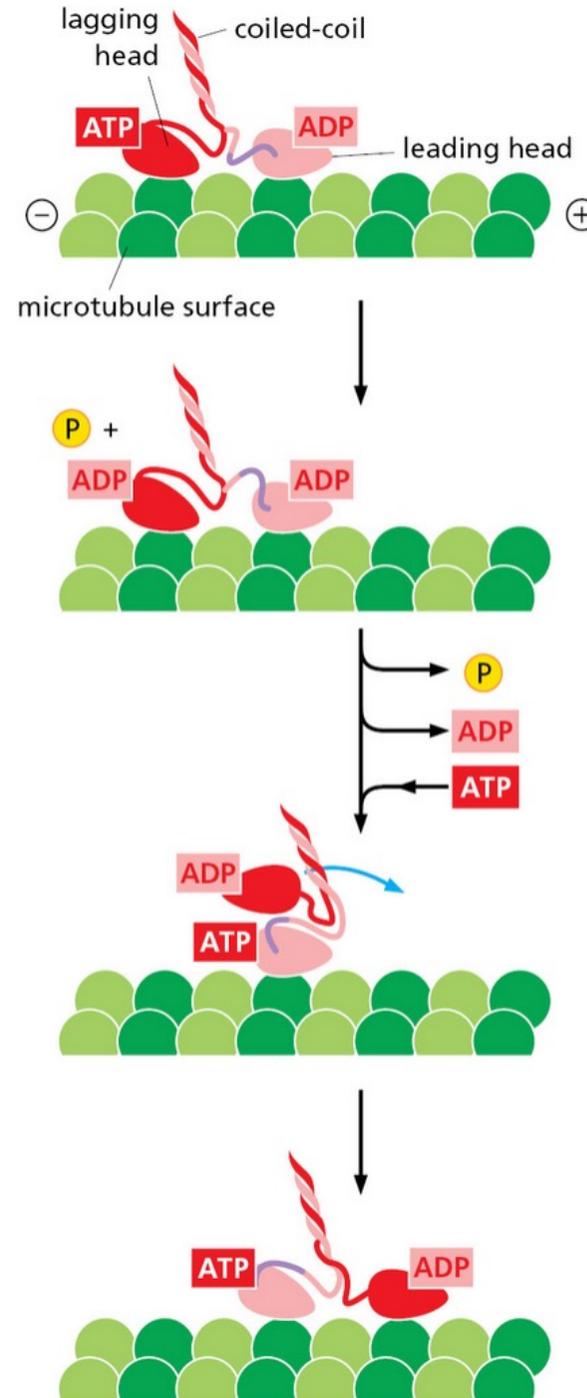
**Moteurs
moléculaires:
Kinésines et
Dynéines**

Les kinésines et les dynéines



Le déplacement des kinésines

Ex kinésines $\rightarrow 0.8 \mu\text{m/s}$



A RETENIR !

Gradient de Bicoid et spécification de l'axe A/P de l'embryon chez la drosophile

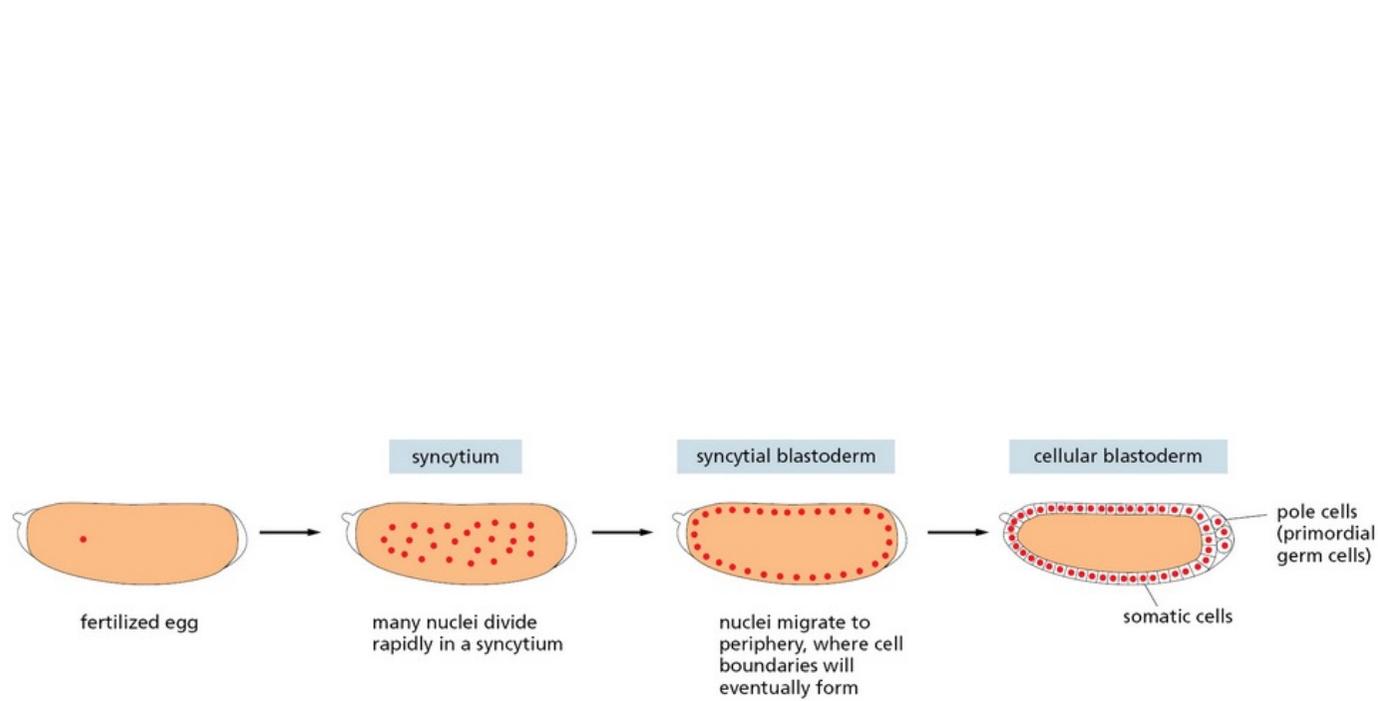
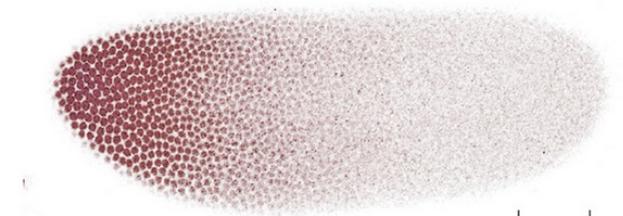


Figure 21-14 Development of the *Drosophila* egg from fertilization to the cellular blastoderm stage.

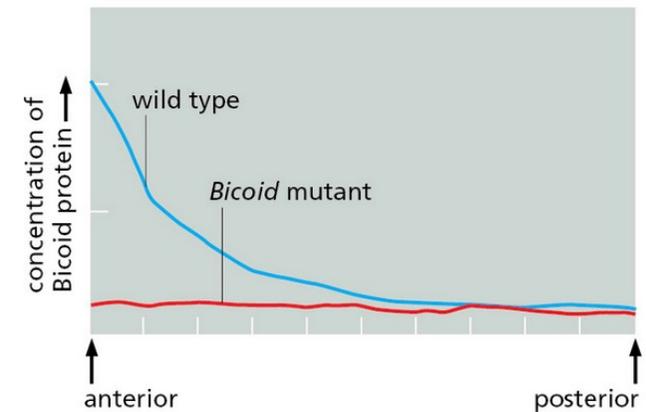


(A) *Bicoid* mRNA



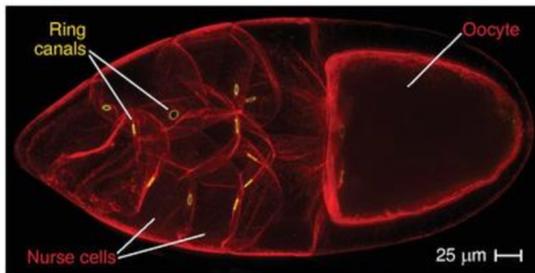
(B) Bicoid protein

0.1 mm



(C)

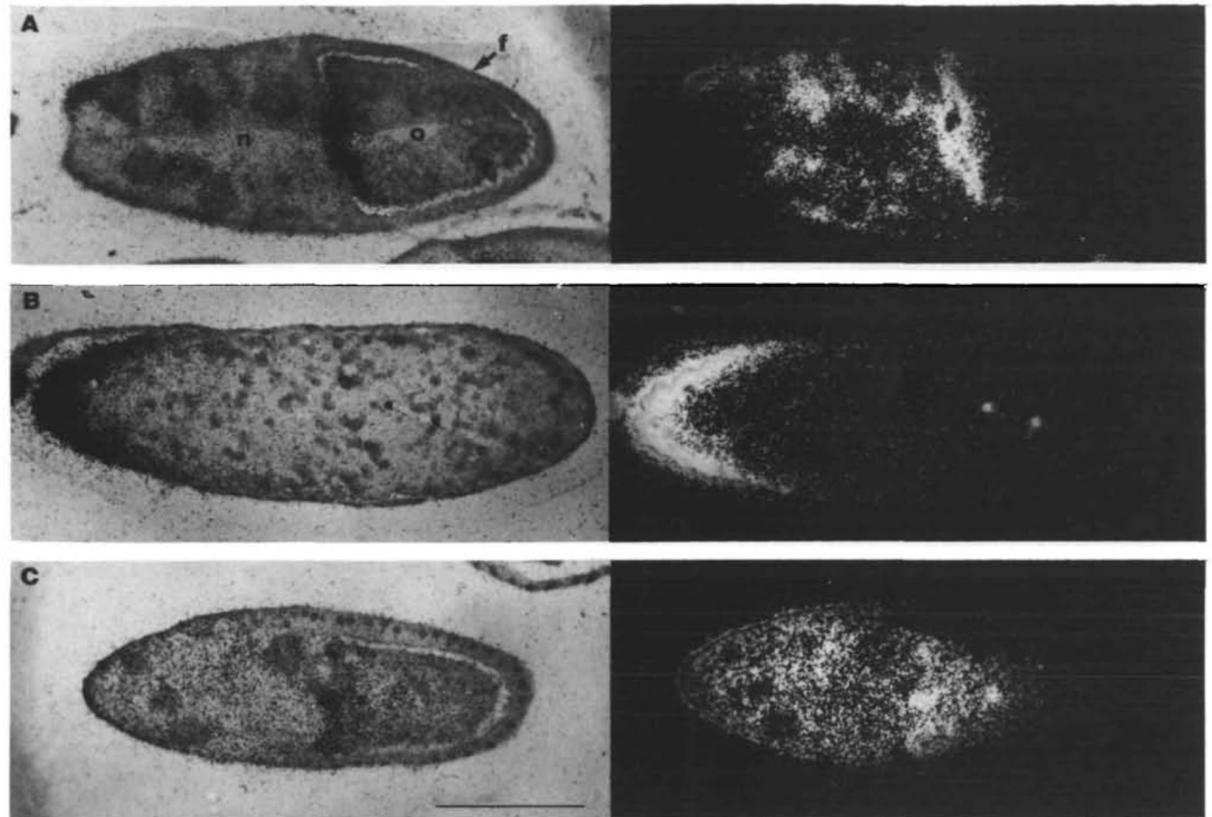
Les microtubules (et les dynéines) sont nécessaires pour l'accumulation des ARNm de Bicoïd au pôle antérieur de l'embryon de Drosophile



WT stage 10
egg chamber

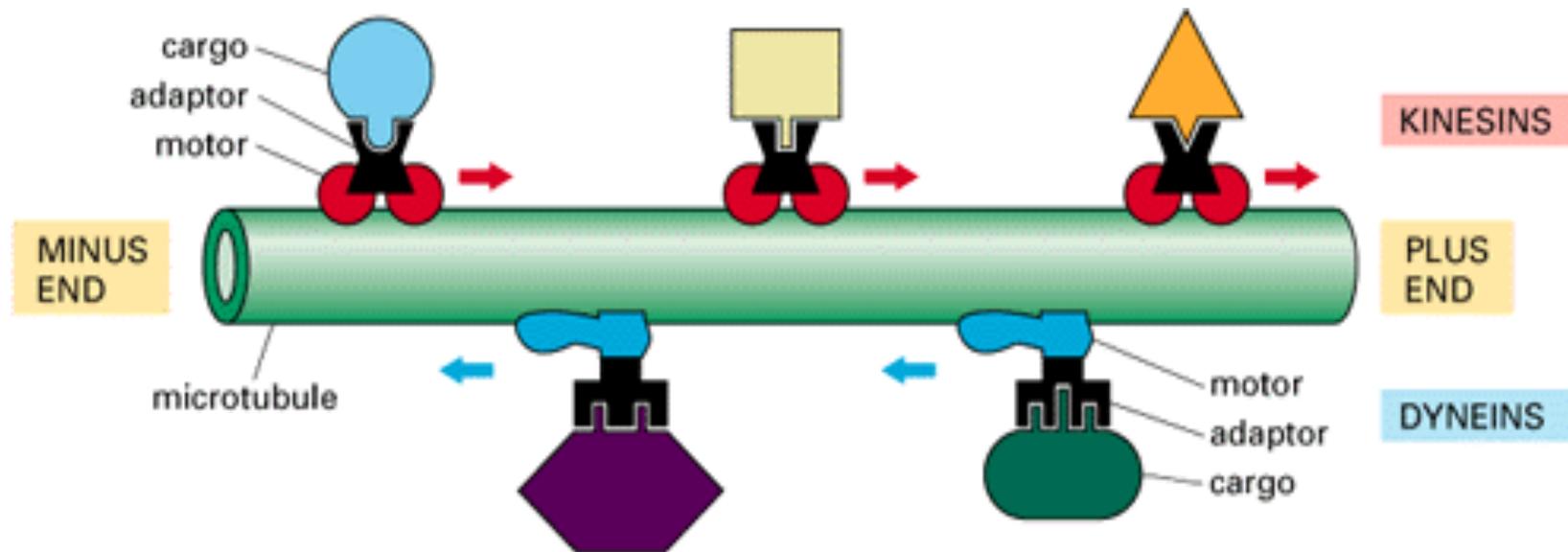
WT stage 14
embryo

Nocodazole treated
stage 14
embryo



A RETENIR !

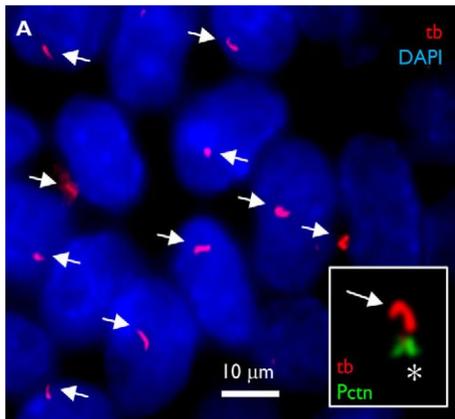
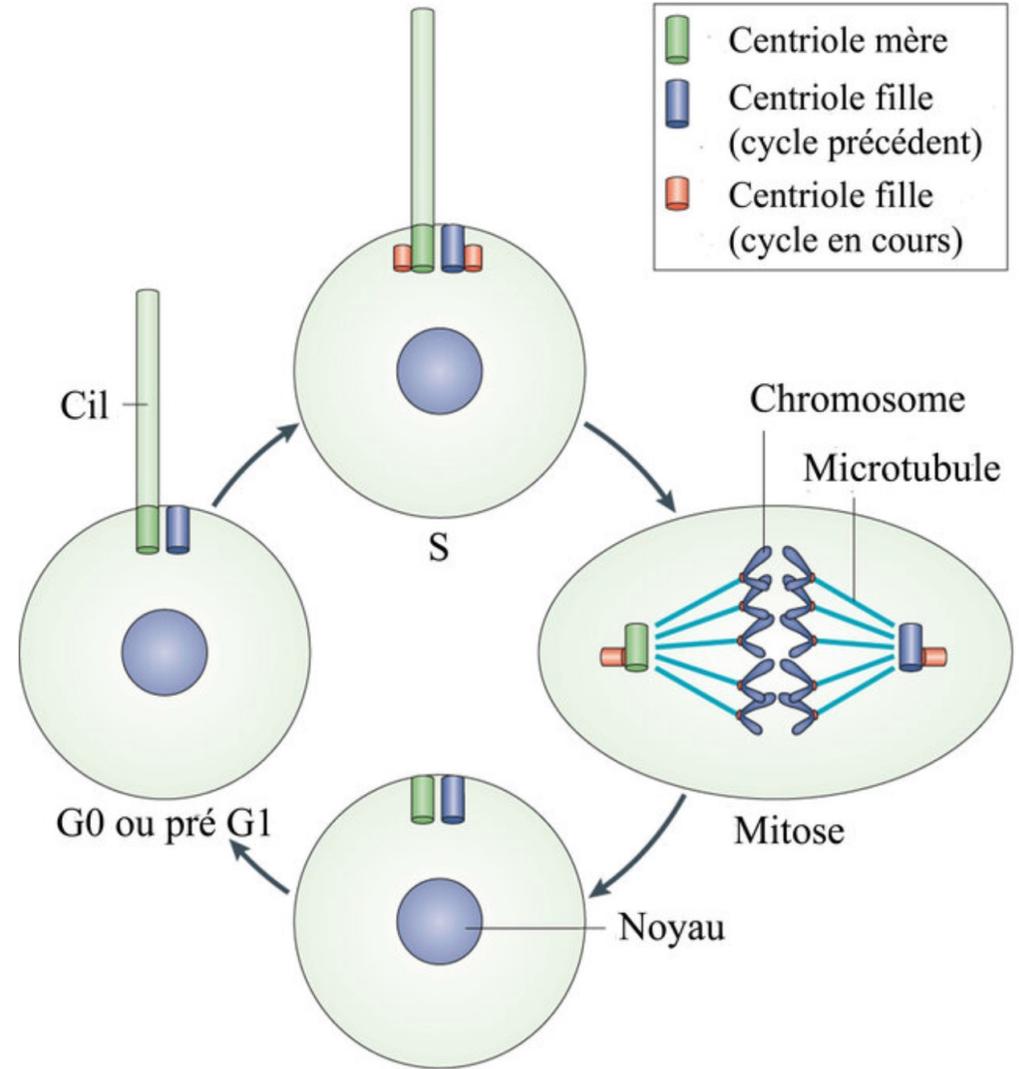
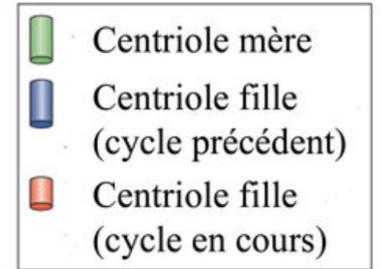
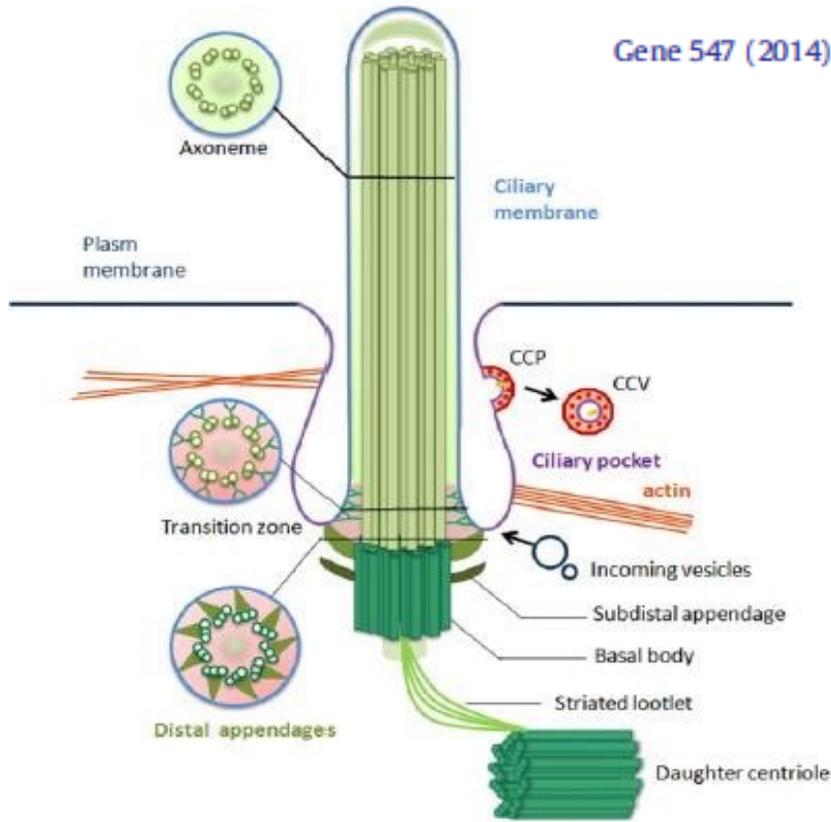
Rappel: Dynéines et Kinésines sont des moteurs moléculaires pouvant transporter des molécules (ARN, Protéines) ou des vésicules le long des microtubules



Cil primaire et activation de la voie Hedgehog

Le cil primaire

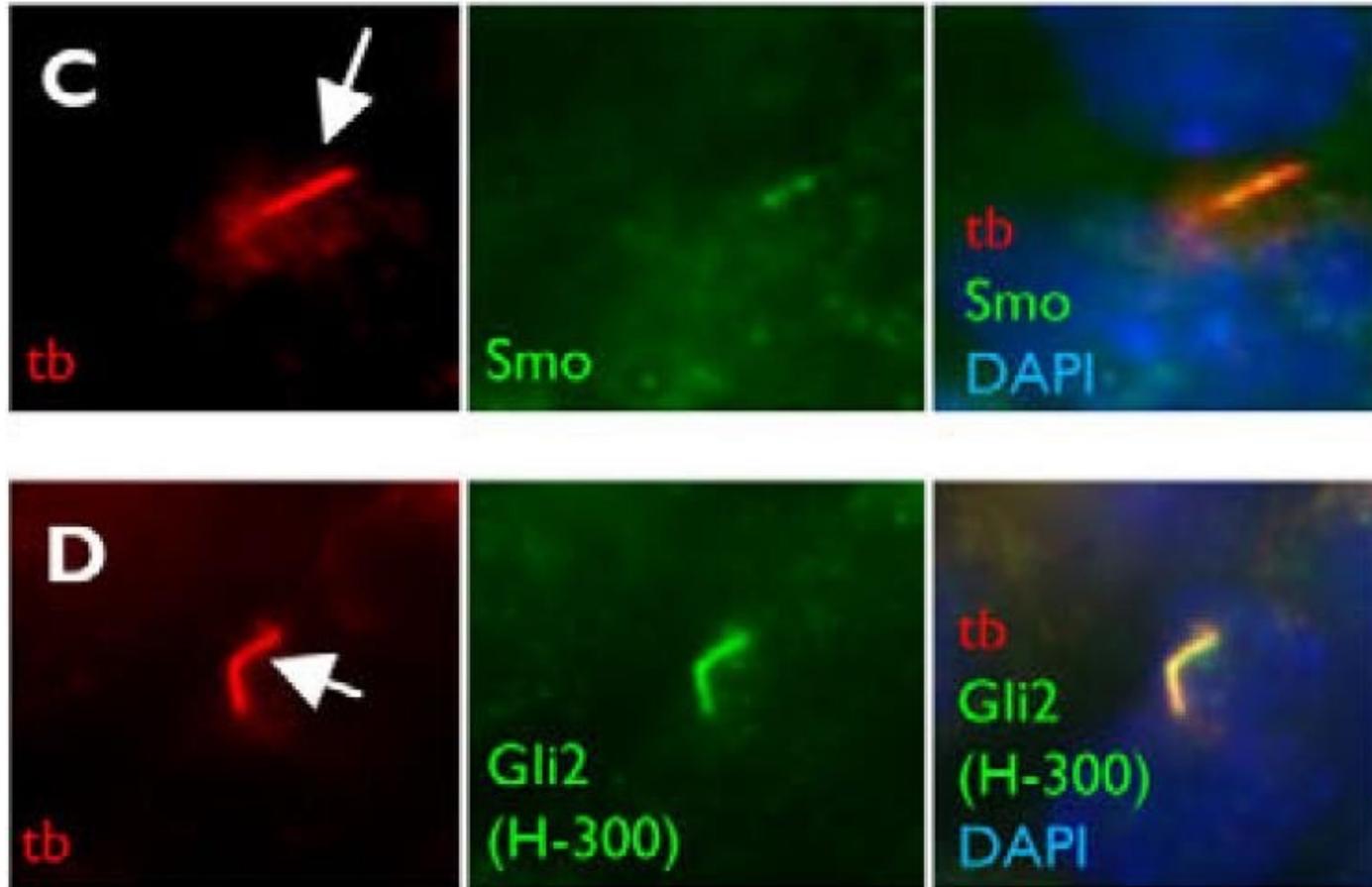
Gene 547 (2014) 175-185



**Tubuline
acetylée**

Journal of Cell Science 122, 3070-3082

Une fonction essentielle du cil primaire est de contrôler l'activation de la voie Hedgehog



Localisation des éléments de la voie Hh dans le cil primaire

Microfilaments d'actine et signalisation



Les microfilaments d'actines

A RETENIR !

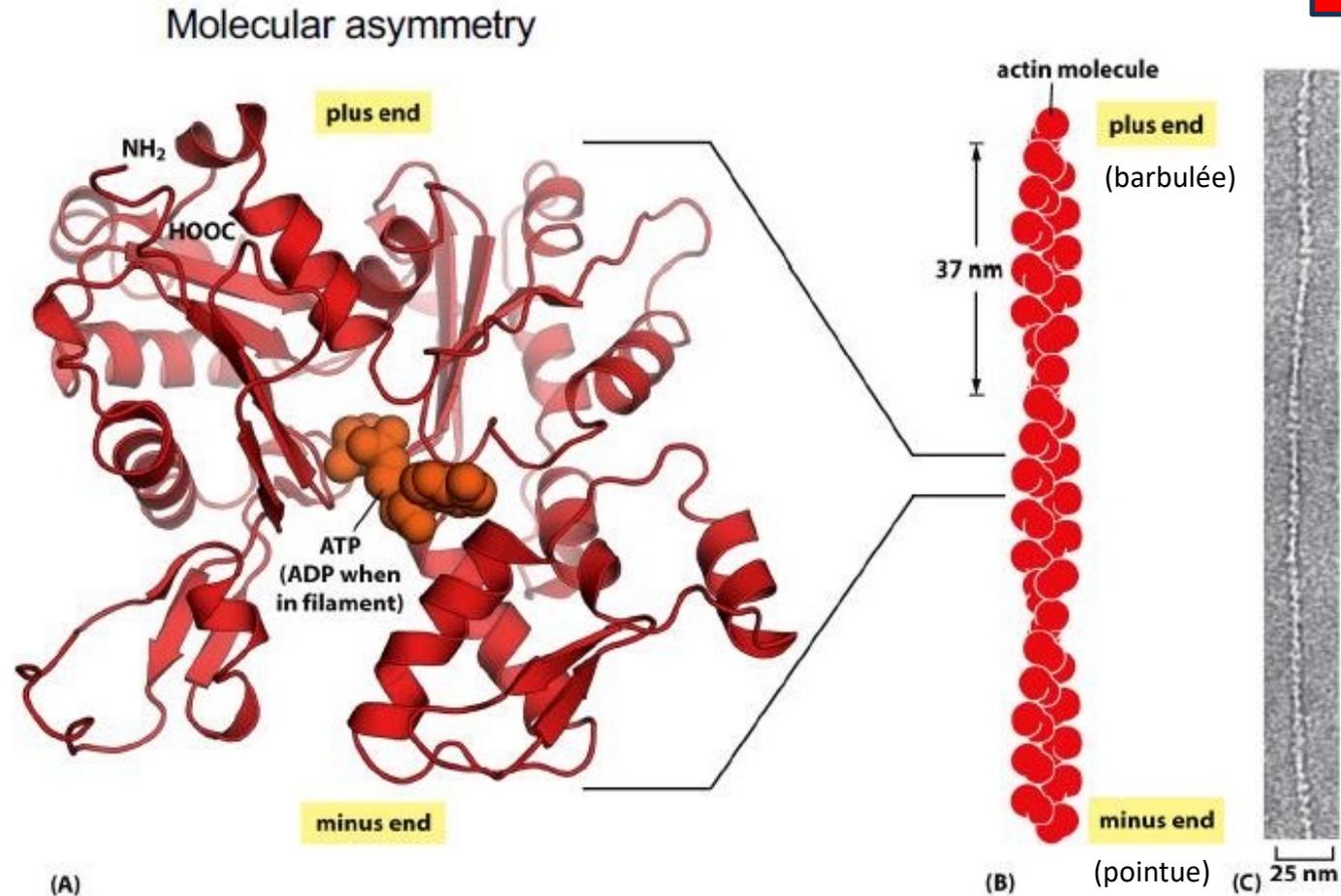
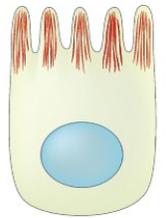
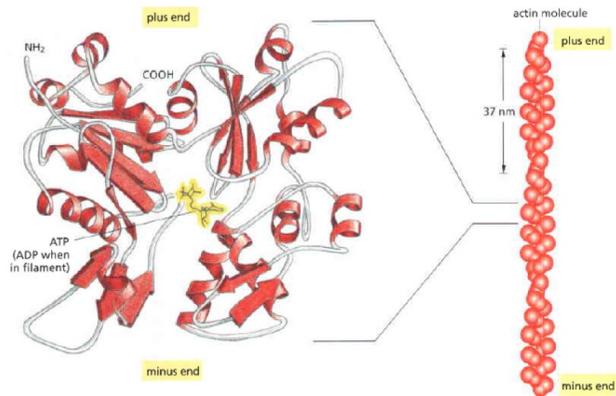


Figure 16-11 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

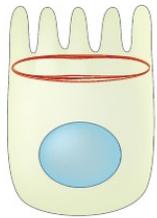
Actine globulaire « G » non polymerisée

Actine filamentaire « F » polymerisée

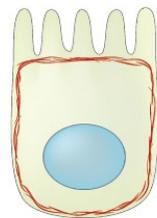
Les microfilaments d'actines



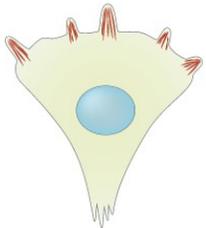
Microvilli



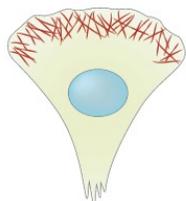
Adhesion belt



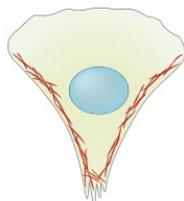
Cell cortex



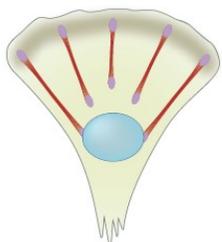
Filopodia



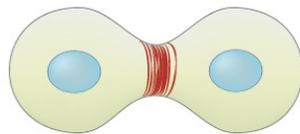
Lamellapodium



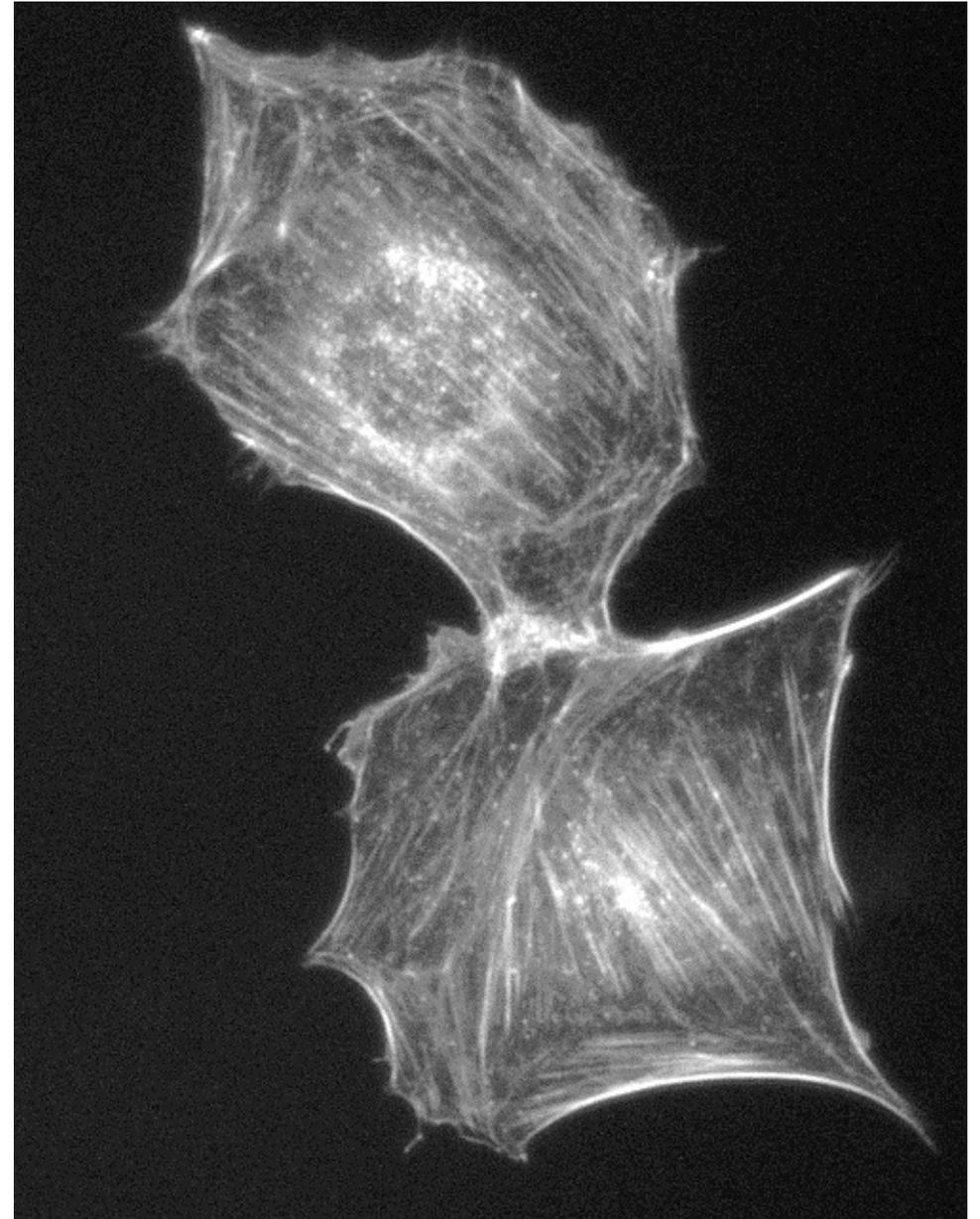
Cell cortex



Stress fibers

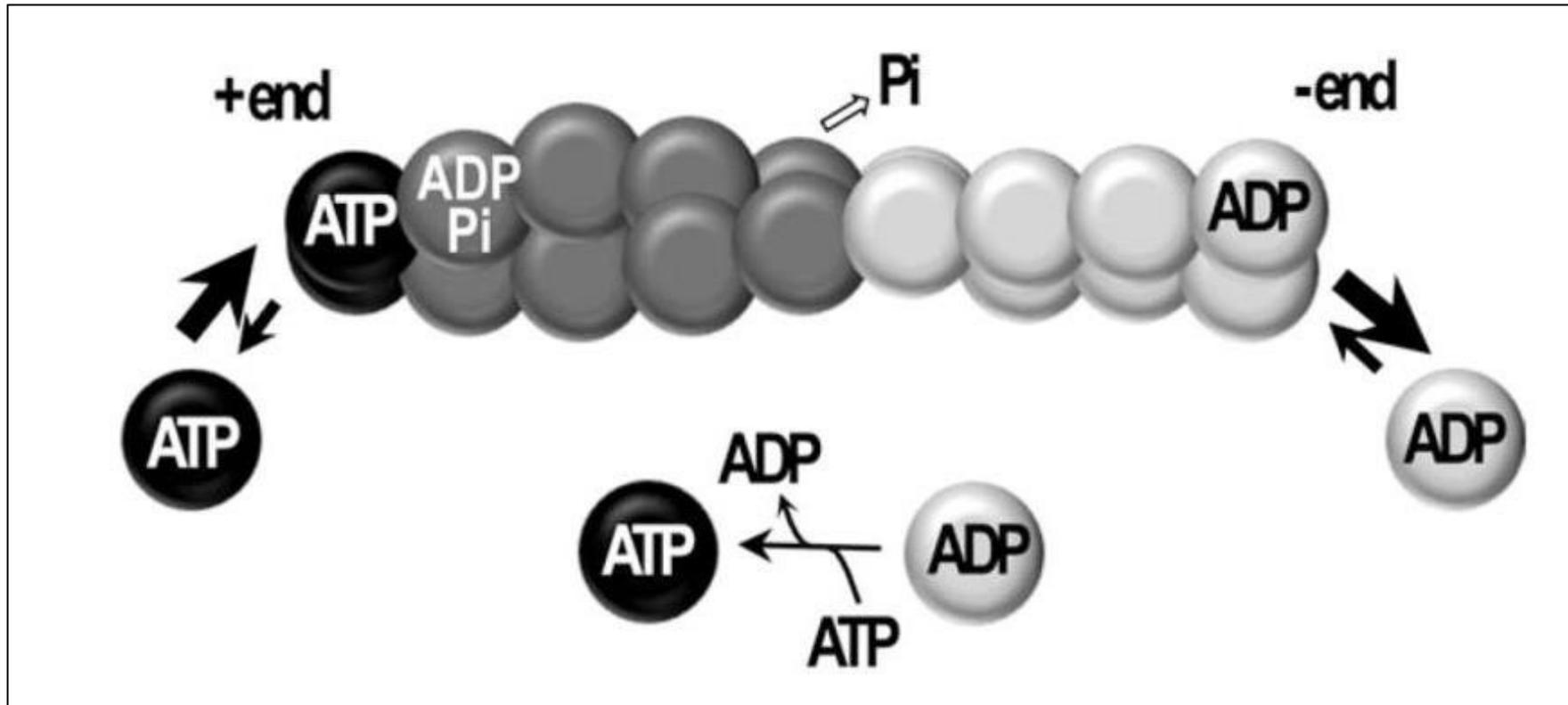


Contractile ring



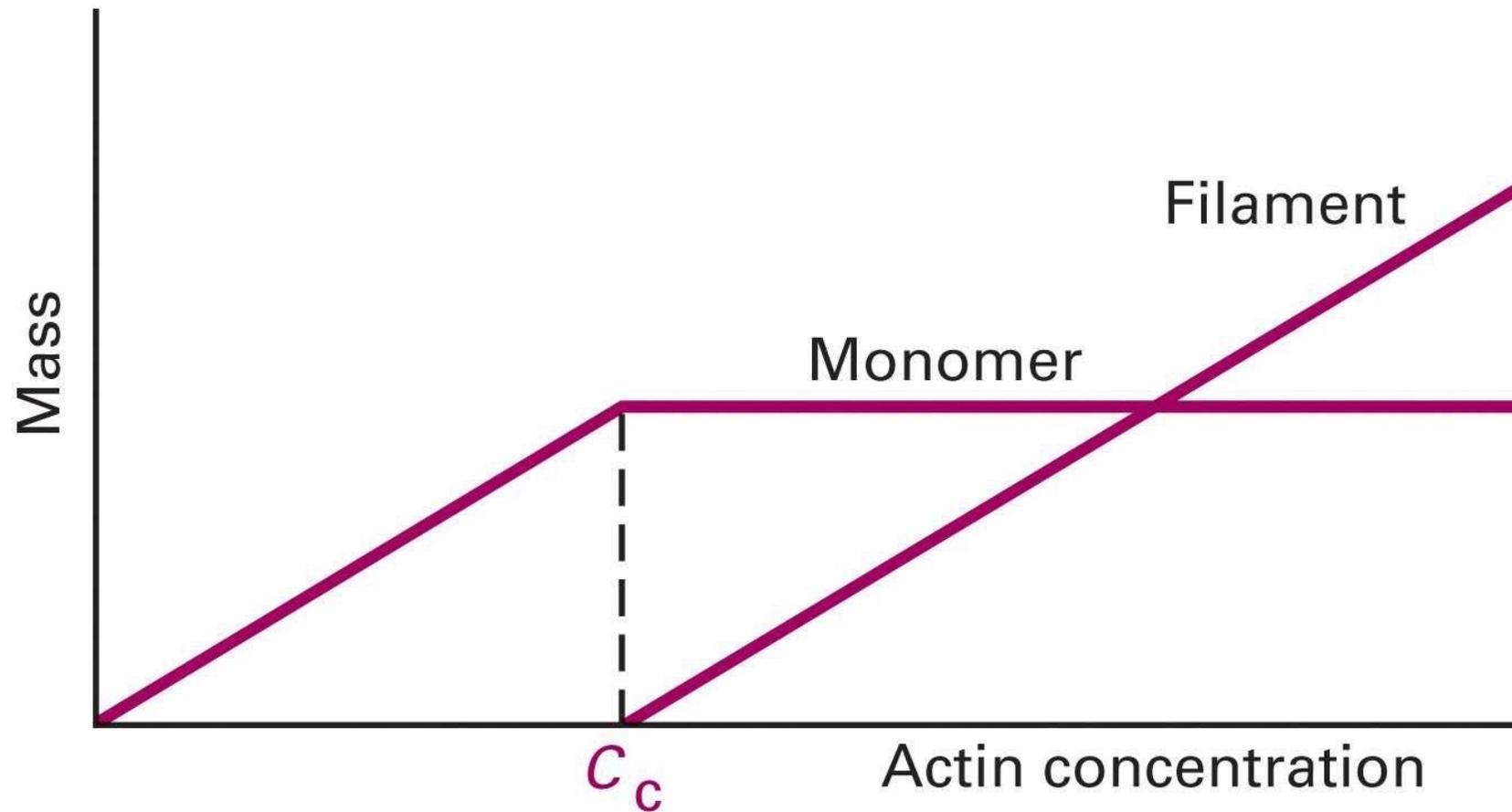
Assemblage des microfilaments d'actines

A RETENIR !



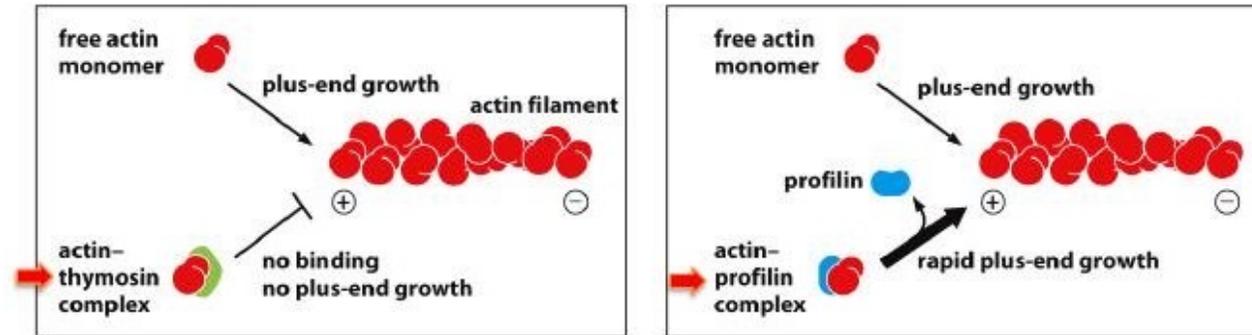
Actine F = microfilament = filament d'actine

Assemblage des microfilaments d'actines

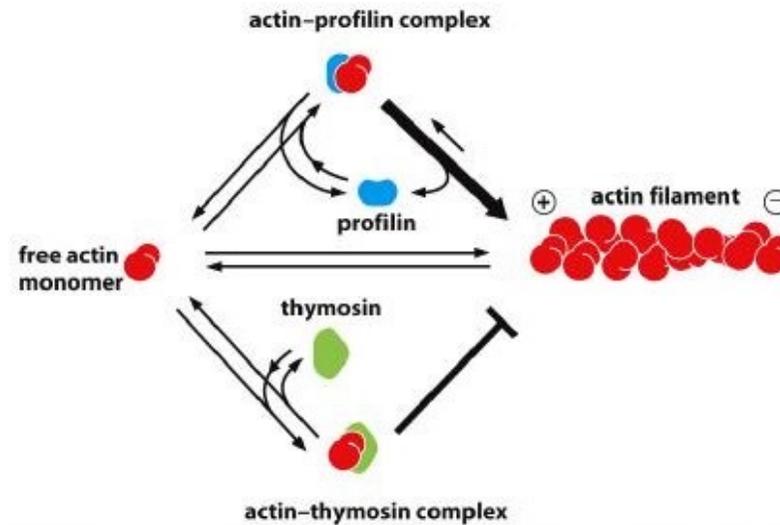


Concentration seuil de polymérisation !

Régulation de l'assemblage



A RETENIR !

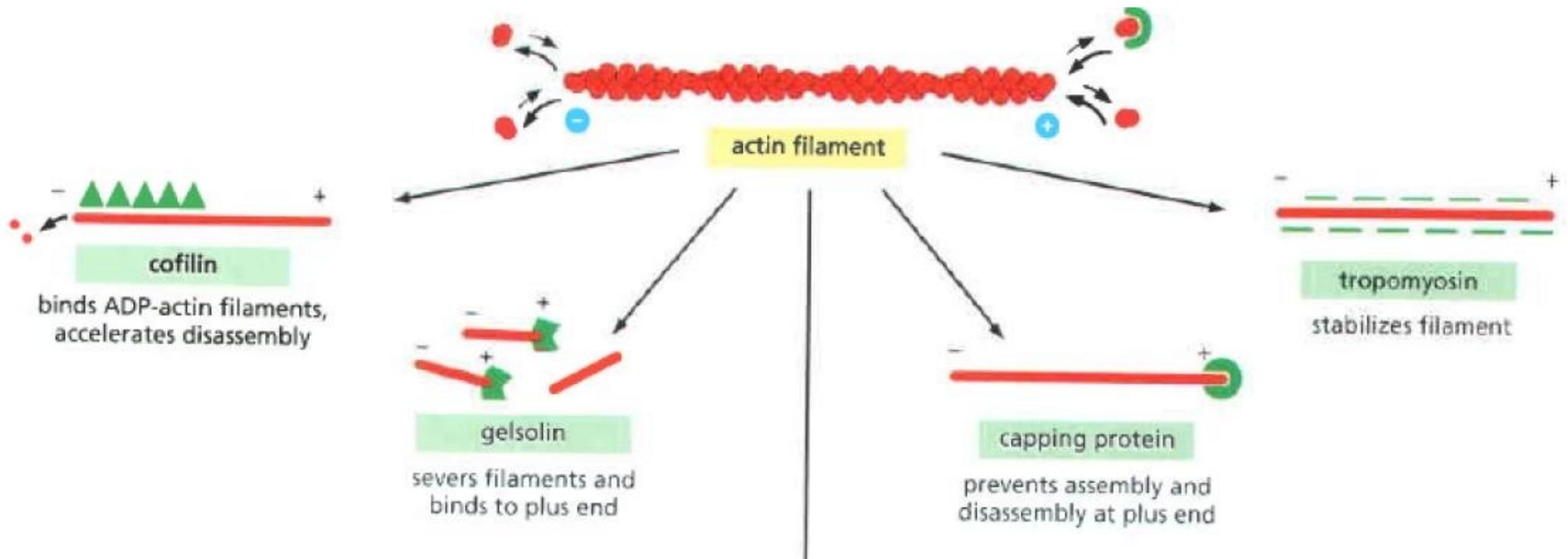


PROFILIN COMPETES WITH THYMOSIN FOR BINDING TO ACTIN MONOMERS AND PROMOTES ASSEMBLY

Figure 16-15 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Profiline et Thymosine régulent la vitesse d'élongation

(Dé)-Stabilisation de l'assemblage



→ Régulent les effets biologiques

4 types de construction de microfilaments

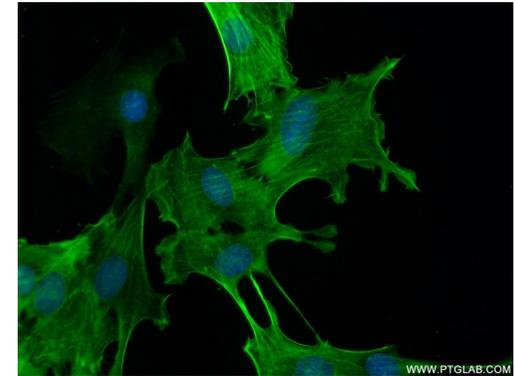
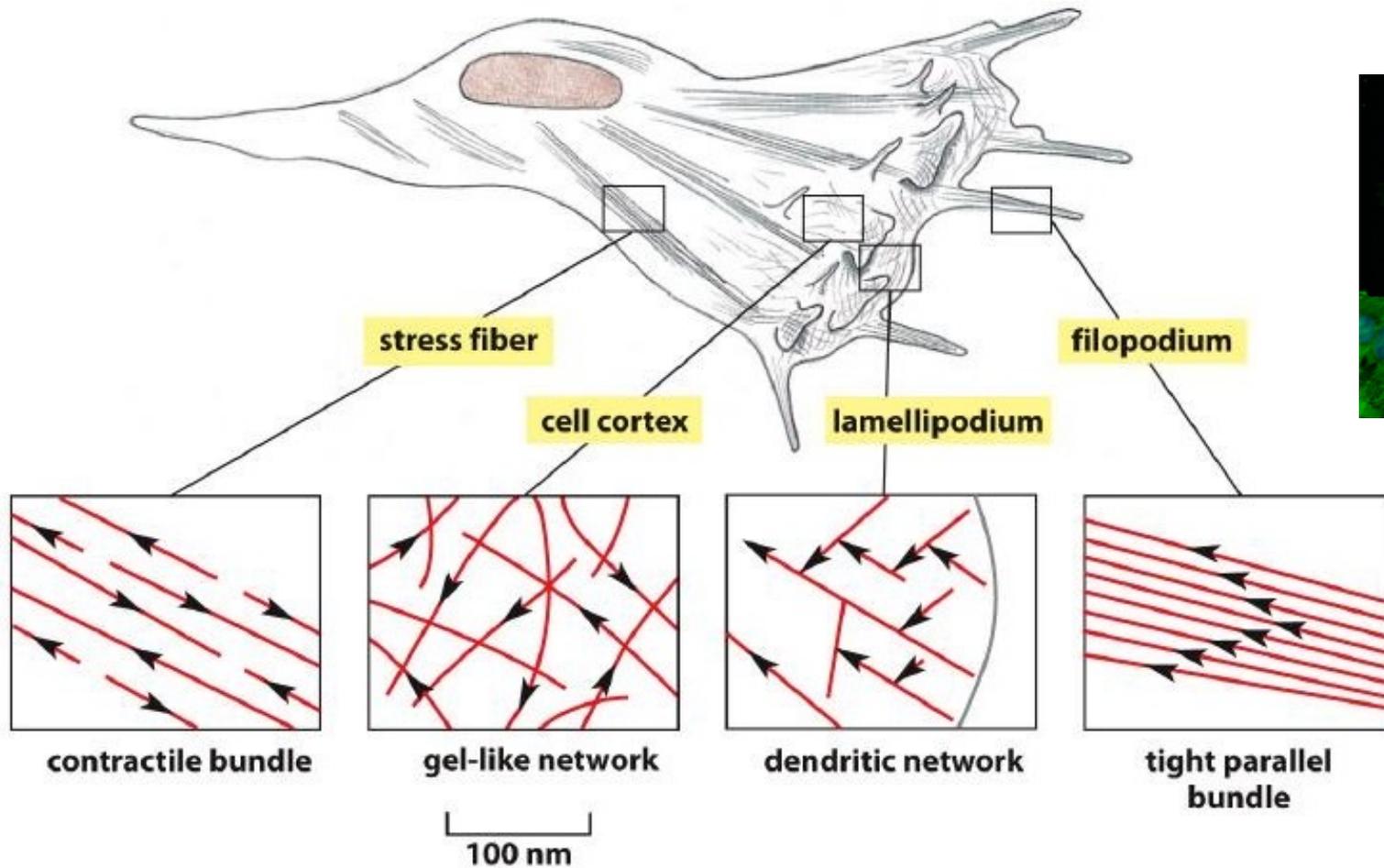


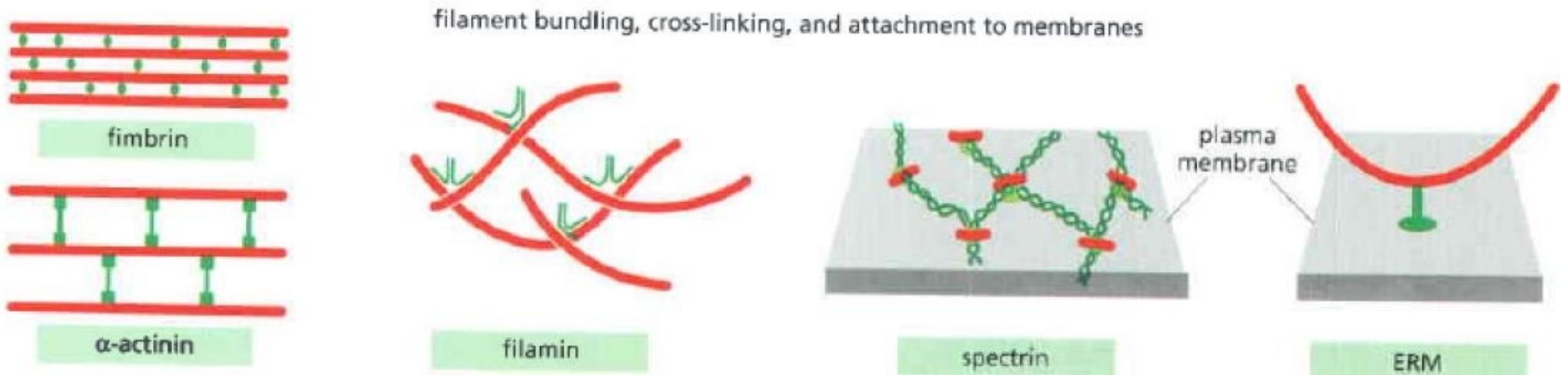
Figure 16-21 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Filaments disposés avec des polarités opposées

Embranchement

Filaments disposés avec des polarités identiques

Autres protéines en interaction avec l'actine F



(Ezrin, Radixin, Moesin)

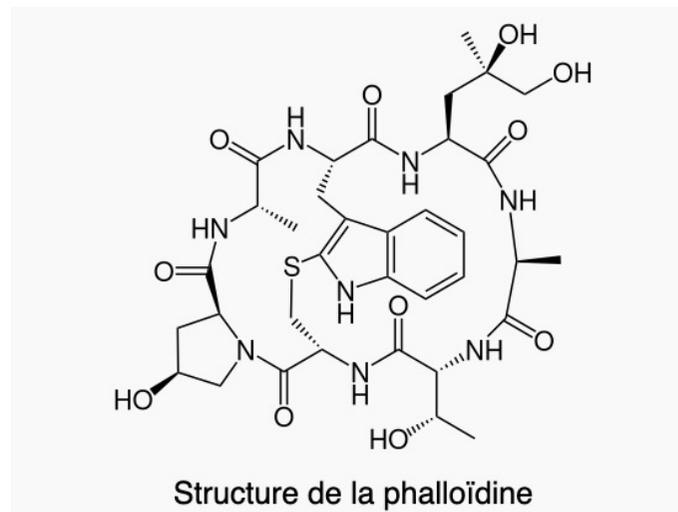
→ Régulent les effets biologiques de l'actine F

A RETENIR !

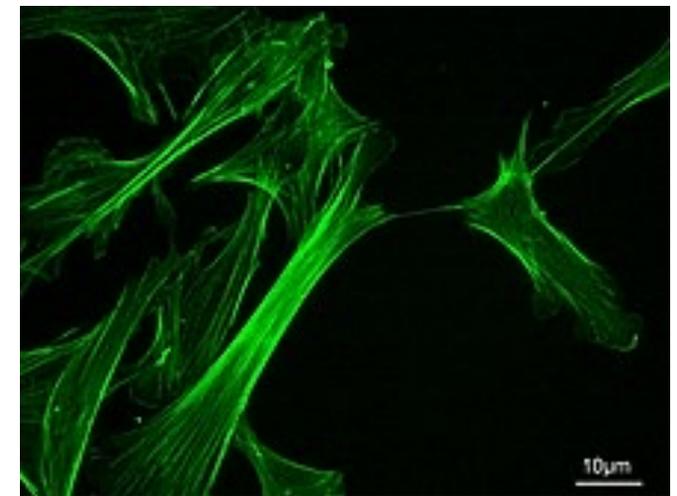
La phalloïdine, une toxine extraite de champignons tel que l'Amanite Phalloïde, se lie à l'actine, empêchant sa dépolymérisation et empoisonnant la cellule



Amanita phalloïdes

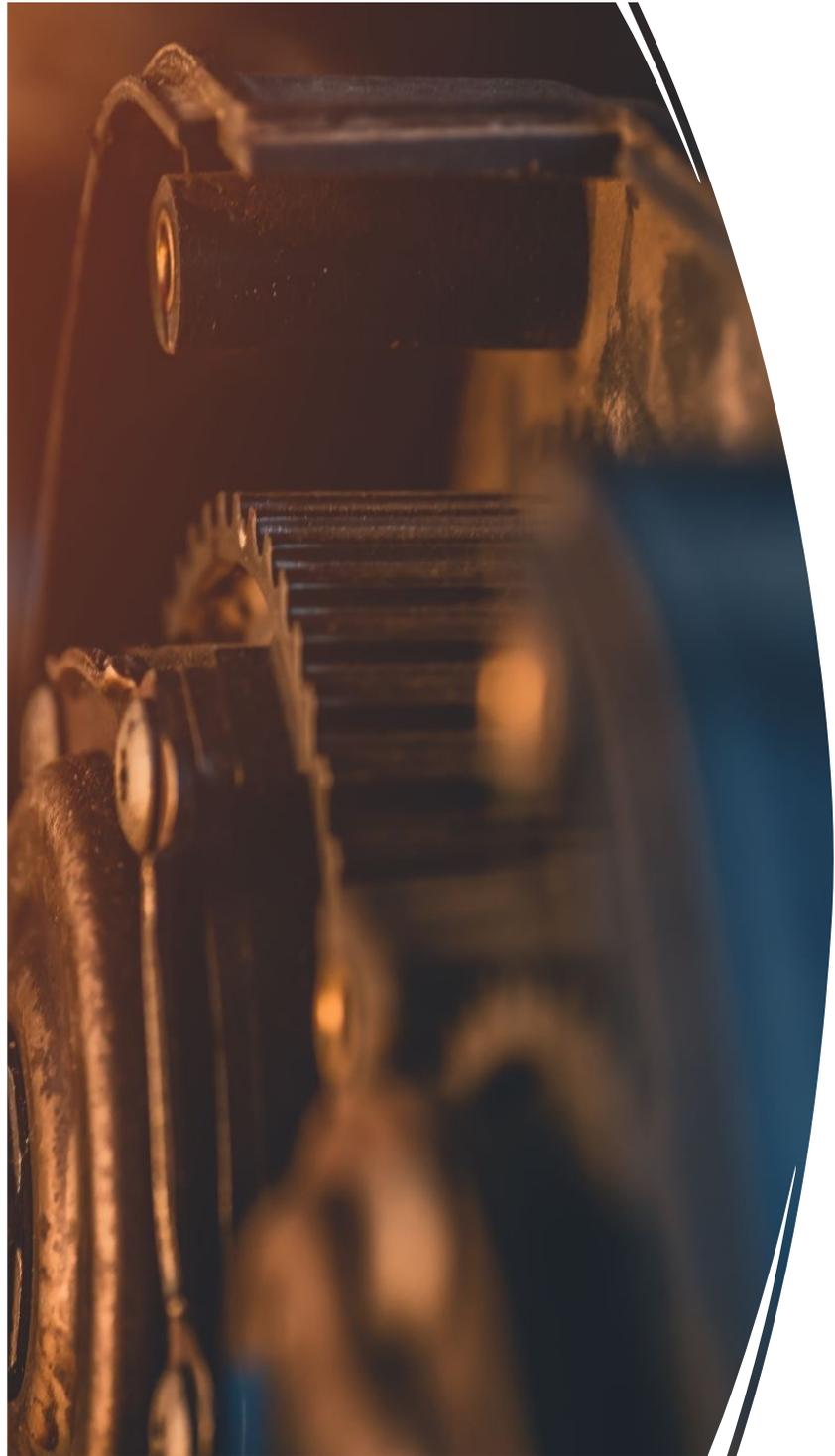


Phalloïdine
($C_{35}H_{48}N_8O_{11}S$)



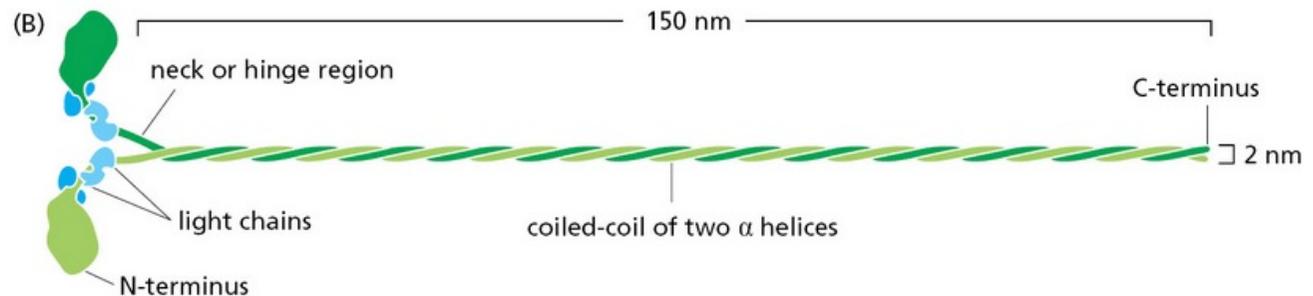
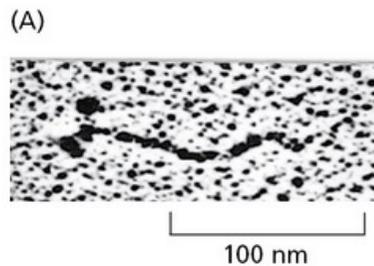
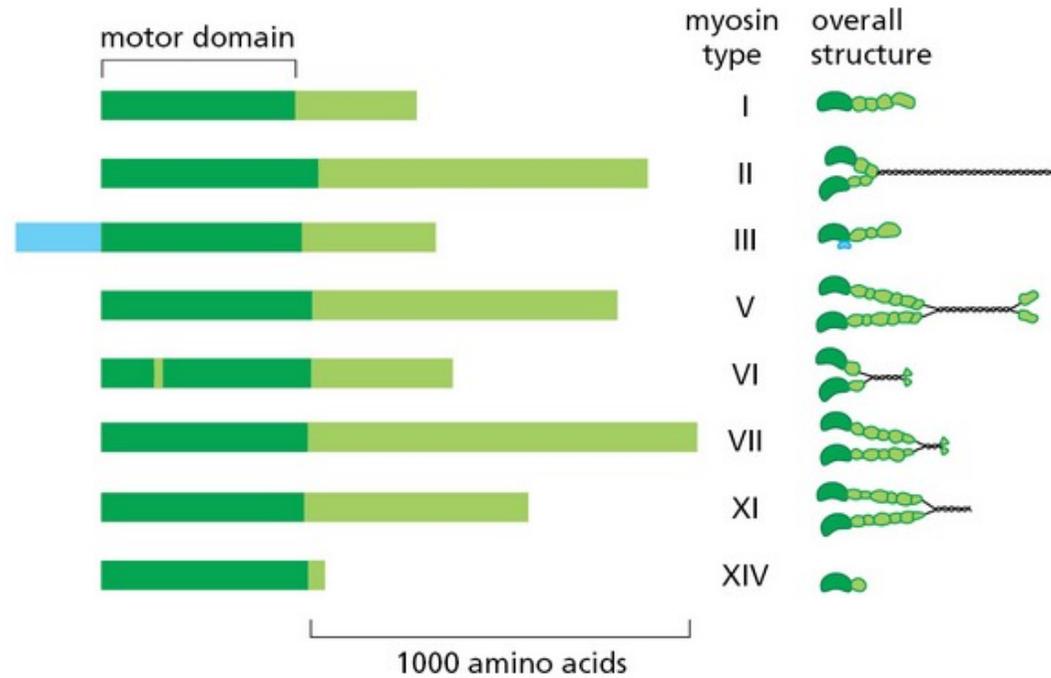
Un marquage Phalloïdine-FITC permet la visualisation des microfilaments d'actine

La phalloïdine conjuguée à un fluorochrome comme le FITC permet de visualiser Les microfilaments d'actine de cellules fixées



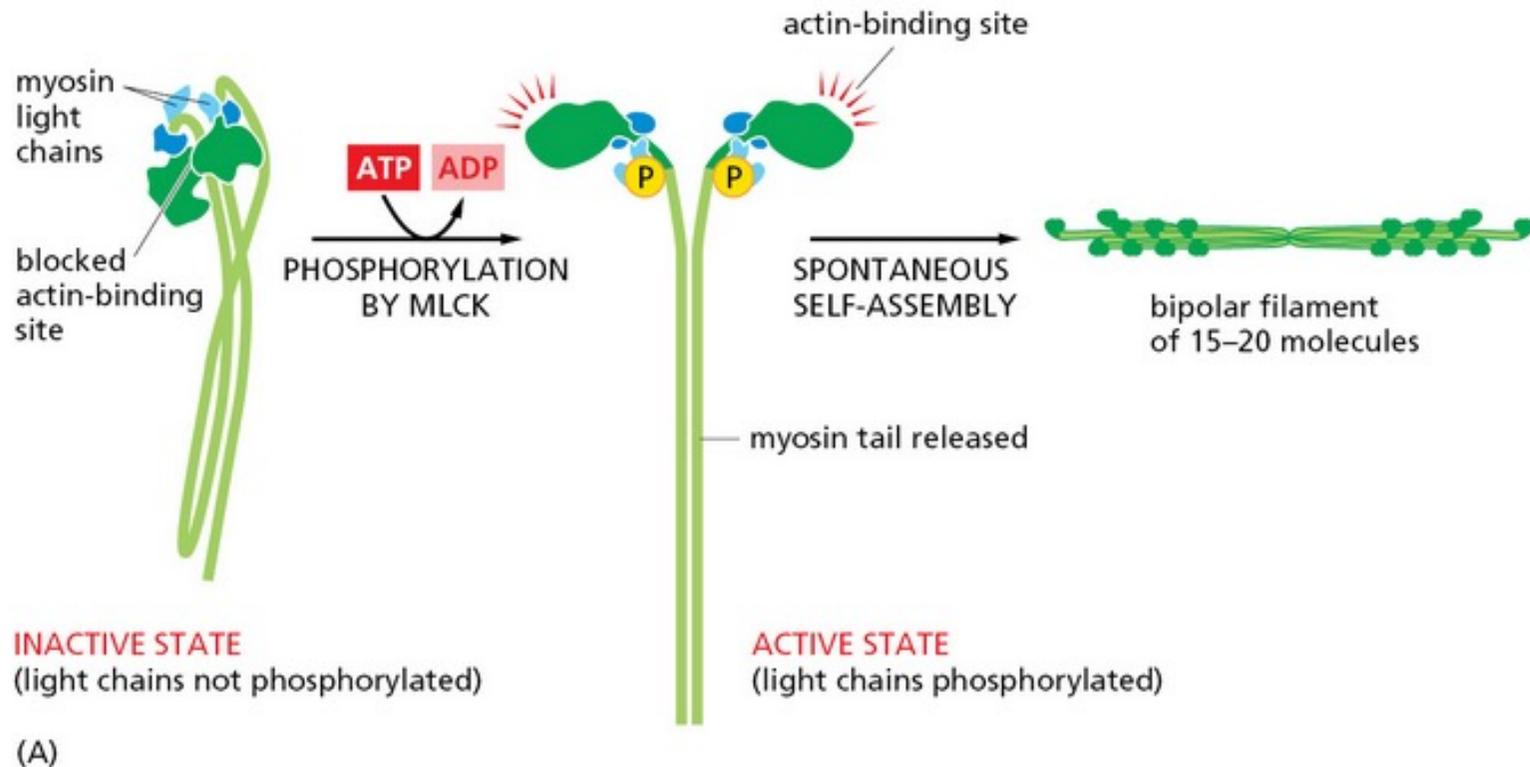
Moteurs moléculaires: La superfamille des myosines

Les myosines forment une famille de molécules capables en utilisant de l'ATP d'induire un déplacement



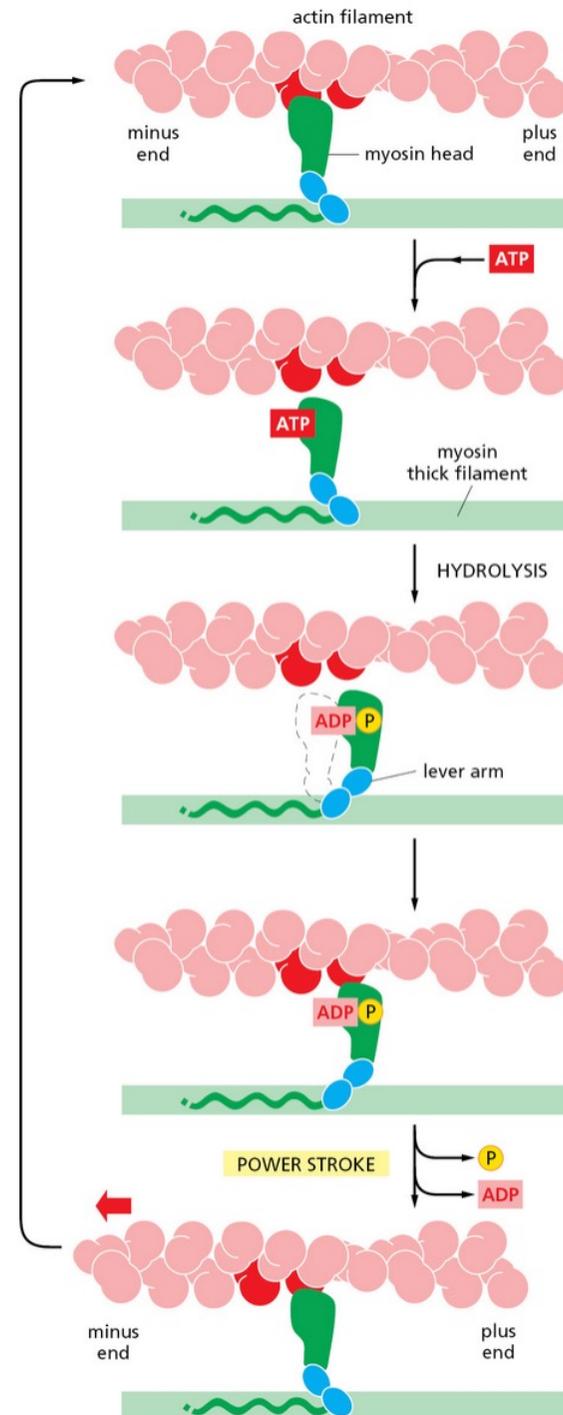
La queue des myosines de type II leur permet de s'associer sous forme de filaments épais bipolaires

A RETENIR !



A RETENIR !

Le cycle des interactions myosine/actine



ATTACHED At the start of the cycle shown in this figure, a myosin head lacking a bound nucleotide is locked tightly onto an actin filament in a *rigor* configuration (so named because it is responsible for *rigor mortis*, the rigidity of death). In an actively contracting muscle, this state is very short-lived, being rapidly terminated by the binding of a molecule of ATP.

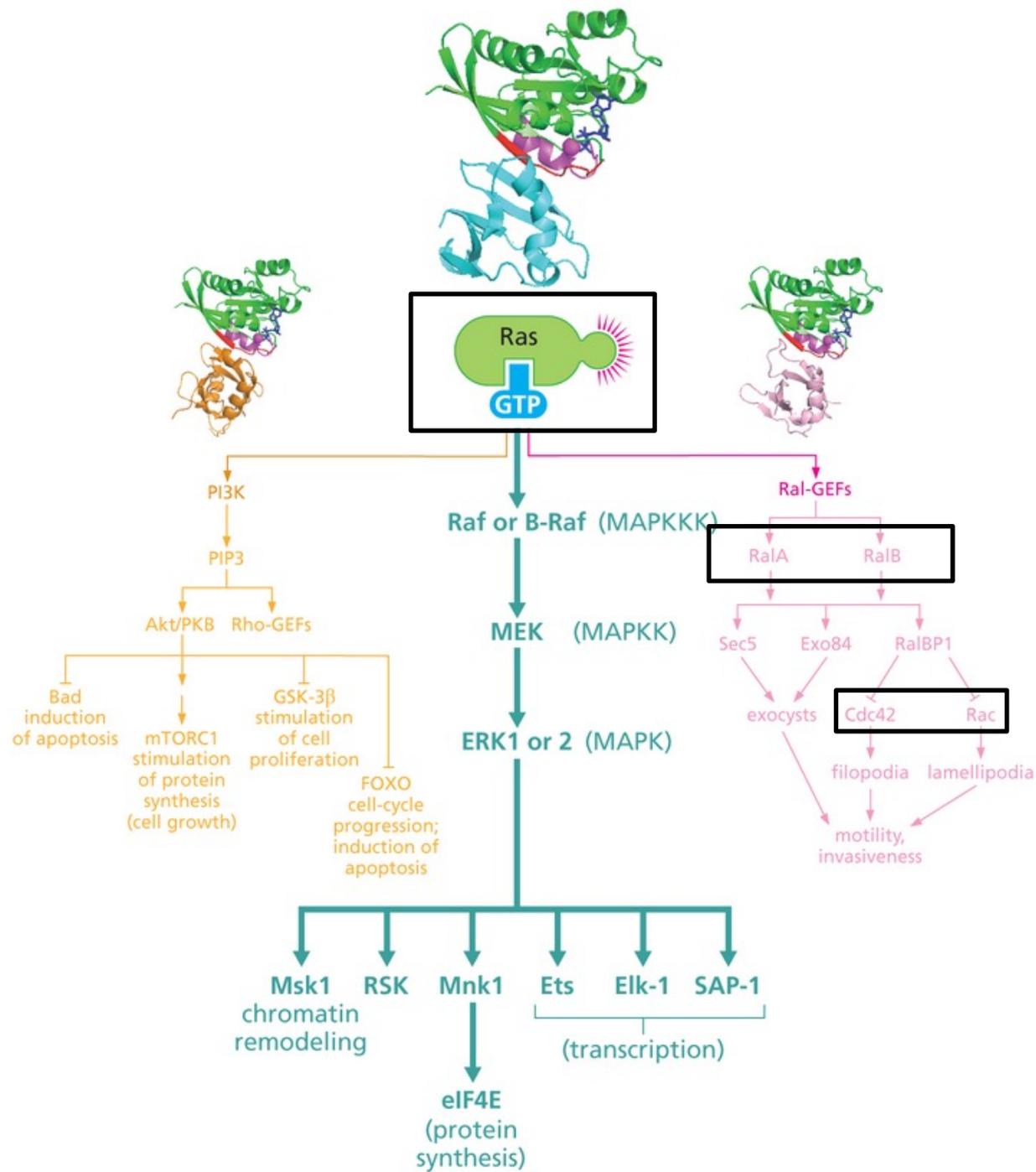
RELEASED A molecule of ATP binds to the large cleft on the "back" of the head (that is, on the side furthest from the actin filament) and immediately causes a slight change in the conformation of the actin-binding site, reducing the affinity of the head for actin. (The space drawn here between the head and actin emphasizes this change, although in reality the head probably remains very close to the actin.)

COCKED ATP binding triggers a conformational change in the cleft that leads to a rotation in the converter domain, causing the lever arm to swing out and the head to be displaced along the filament by a distance of about 5 nm. Hydrolysis of ATP occurs, but the ADP and inorganic phosphate (P) remain tightly bound to the protein.

RE-BINDING AND POWER STROKE The myosin head binds weakly to a new site on the actin filament, causing release of the inorganic phosphate produced by ATP hydrolysis, concomitantly with the tight binding of the head to actin. This release triggers the power stroke—the force-generating change in shape during which the head regains its original conformation. In the course of the power stroke, the head loses its bound ADP, thereby returning to the start of a new cycle.

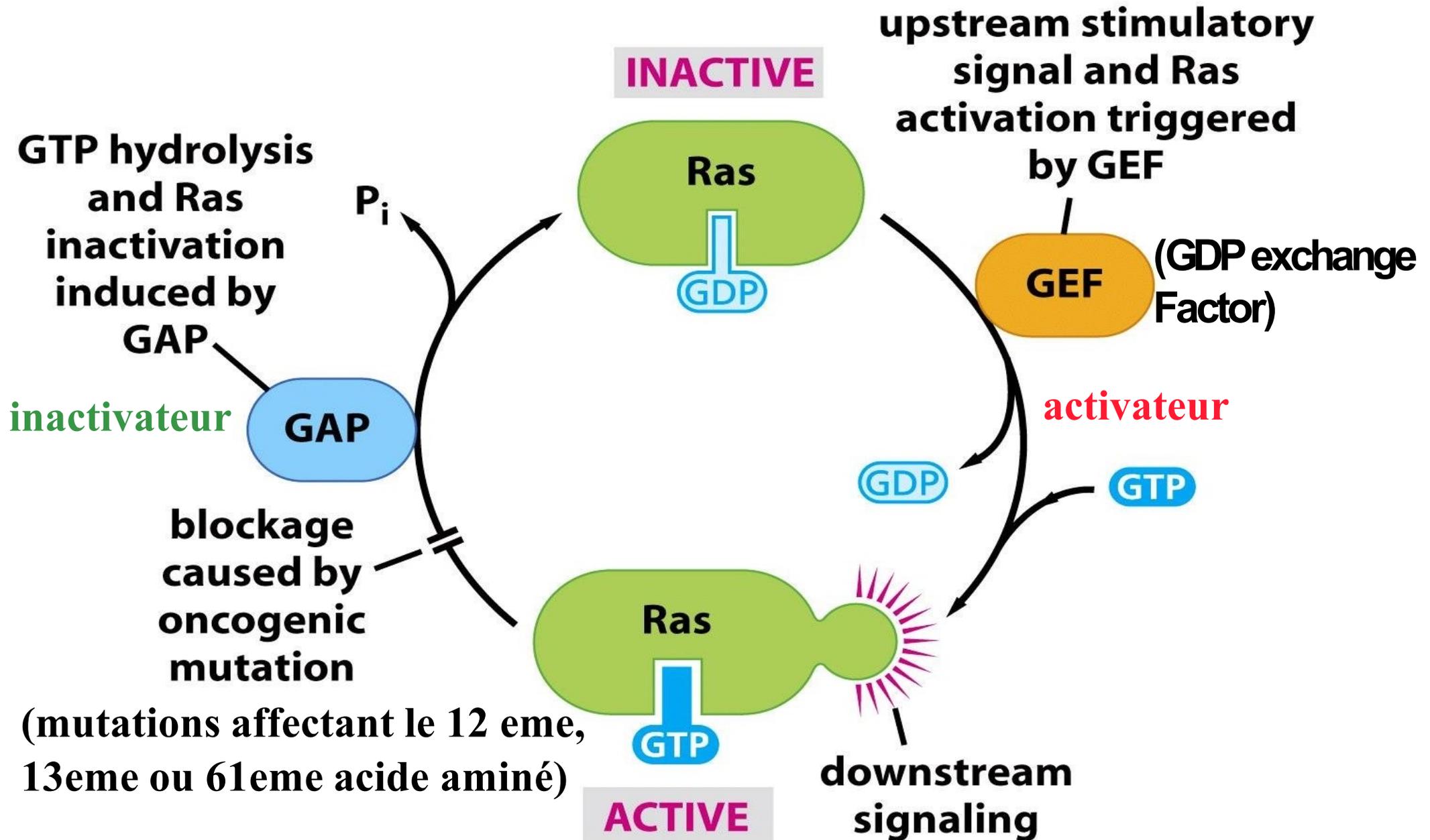
FORCE GENERATING At the end of the cycle, the myosin head is again locked tightly to the actin filament in a rigor configuration. Note that the head has moved to a new position on the actin filament.

Petites protéines G et remodelage du cytosquelette d'actine



Cycle d'activation des petites protéines G

A RETENIR !



GTP hydrolysis and Ras inactivation induced by GAP

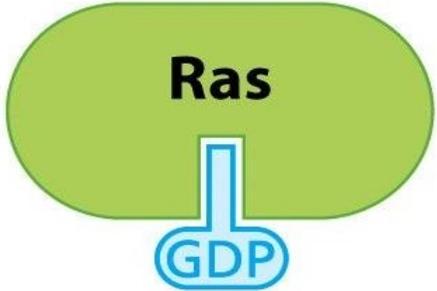
inactivateur



blockage caused by oncogenic mutation

(mutations affectant le 12^{eme}, 13^{eme} ou 61^{eme} acide aminé)

INACTIVE

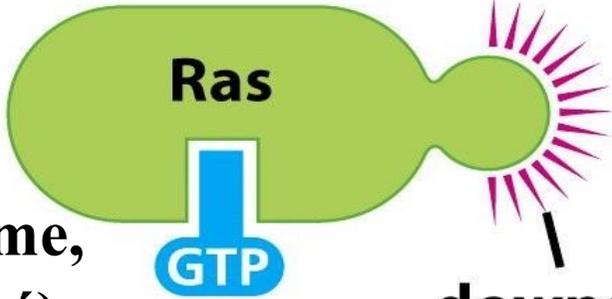


upstream stimulatory signal and Ras activation triggered by GEF



(GDP exchange Factor)

activateur

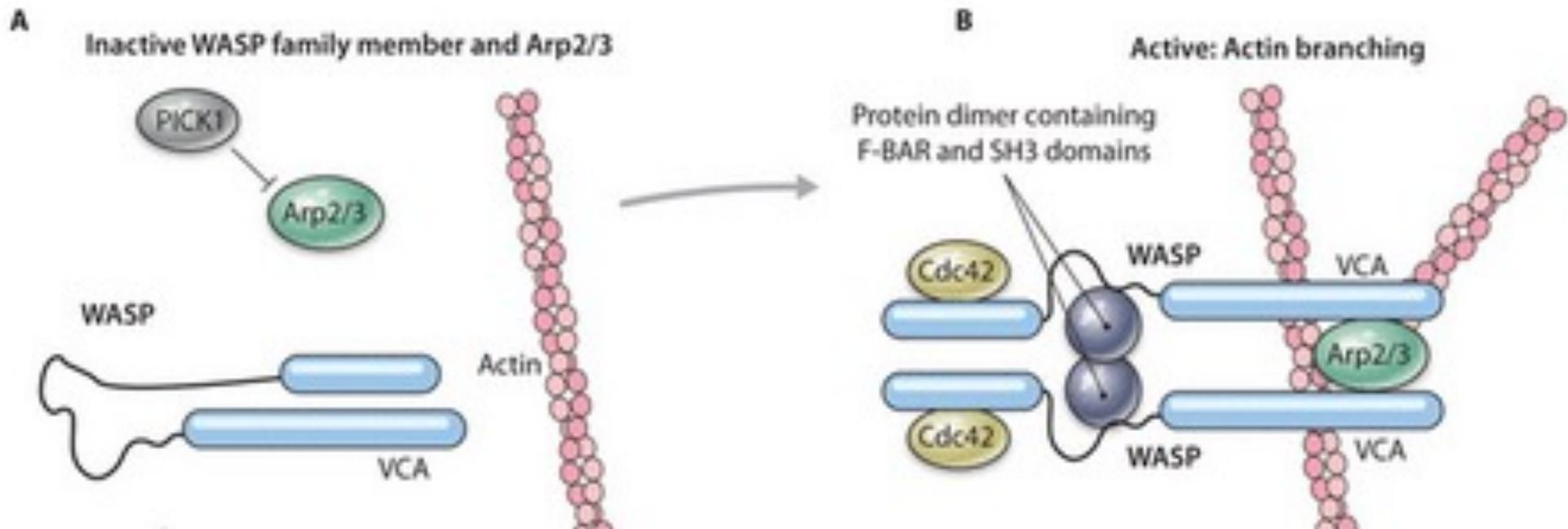


ACTIVE

downstream signaling

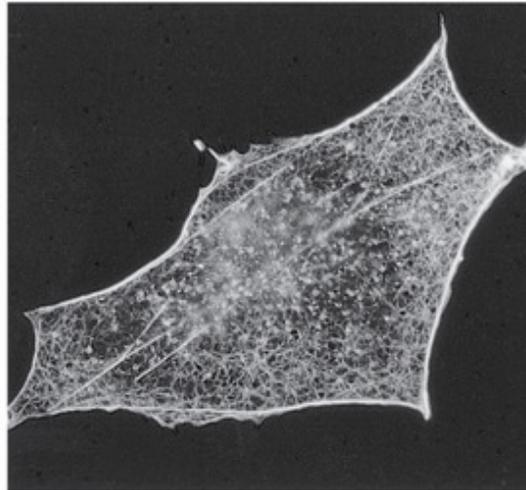
La liaison de CDC42-GTP à la protéine WASP Favorise son activation et la nucléation de l'actine médiée par le complexe ARP2/3

A RETENIR !



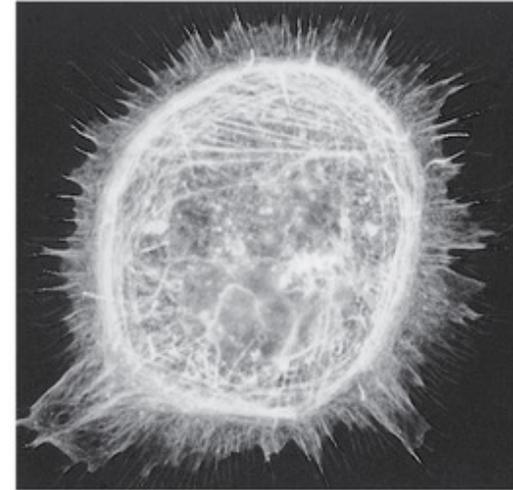
Remodelage par les petites GTPases

actin staining

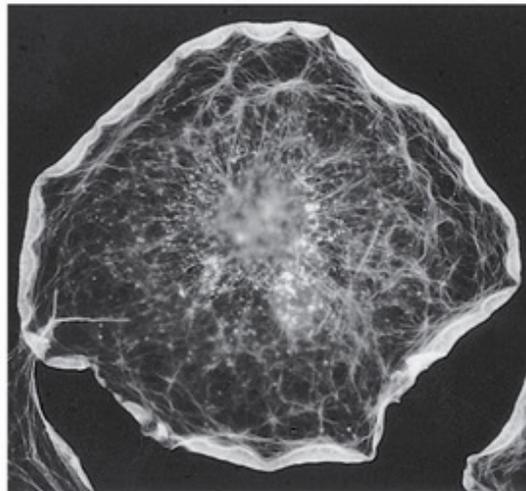


(A) QUIESCENT CELLS

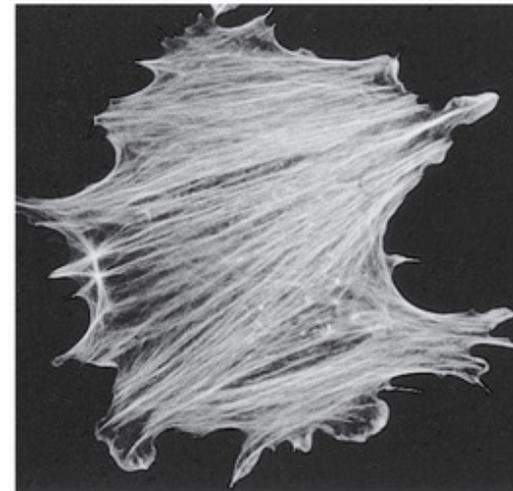
actin staining



(B) Cdc42 ACTIVATION



(C) Rac ACTIVATION



(D) Rho ACTIVATION

20 μ m

A close-up photograph of several interlocking metal gears, rendered in a monochromatic blue-grey color. The focus is sharp on the teeth of the gears in the foreground, while the background is softly blurred. The lighting creates highlights and shadows that emphasize the mechanical texture and form of the gears.

Matrice extracellulaire et mechano-transduction

La matrice extracellulaire des animaux

Entre les cellules animales, il y a la matrice extracellulaire (MEC ou ECM), formée d'un ensemble de protéines et de glucides organisés en réseau → **organisation en tissu**

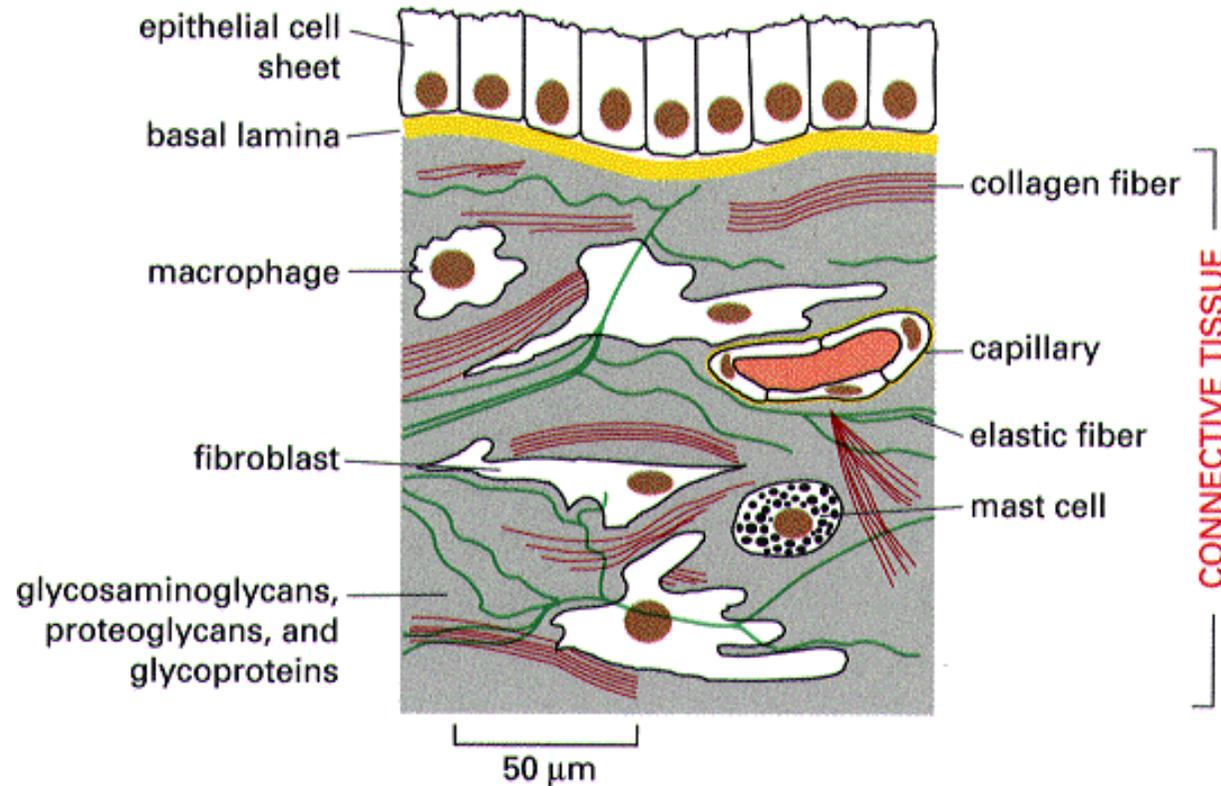
Ex: tissu conjonctif présent dans tous les organes

2 types:

- . **non-spécialisé**: produit par les fibroblastes (ex: derme)
- . **spécialisé**: produit par les chondroblastes (cartilages), ostéoblastes (os), adamantoblastes (émail) ou adontoblastes (ivoire)

La **lame basale** sur laquelle repose les cellules épithéliales est synthétisée à la fois par ces dernières et les cellules du tissu conjonctif sous-jacent.

Epithélium et tissu conjonctif lâche

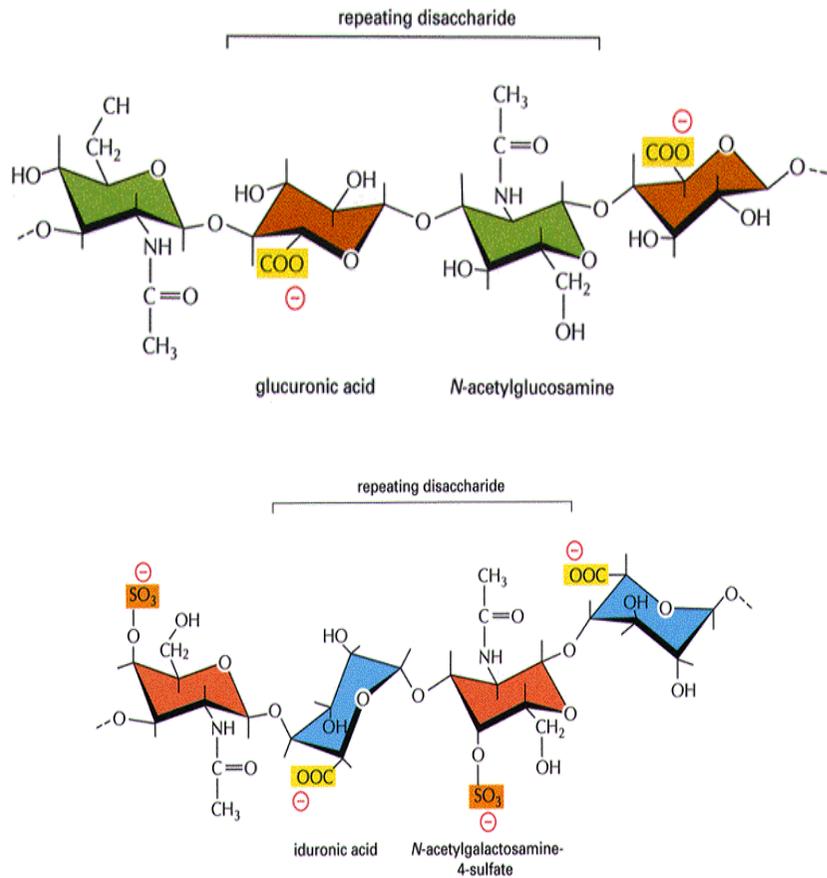


From The Art of MBoC³ © 1995 Garland Publishing, Inc.

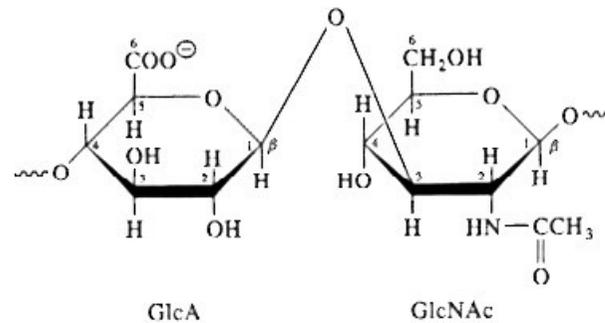
Les tissus conjonctifs denses riches en fibres, pauvres en cellules, ont une fonction essentiellement mécanique (ligaments, tendon, capsules articulaires..).

Les glycosaminoglycans (GAG)

Ce sont des **chaînes polysaccharidiques faites d'unités disaccharidiques répétitives**. Sur le schéma, il s'agit d'acide glucuronique et de N-acétylglucosamine. Ils possèdent une **forte charge négative** due à la présence de groupements sulfatés et carboxyles, qui va attirer les ions Na^+ et par conséquent absorber une **grande quantité d'eau**. Cela leur confère une particularité : ce sont des structures très étirées, qui occupent un **volume considérable**. Ces molécules donnent donc une **résistance à la matrice extracellulaire**. Le cartilage des genoux par exemple porte tout le poids du corps ; il résiste à la pression parce qu'il comporte beaucoup de GAG.



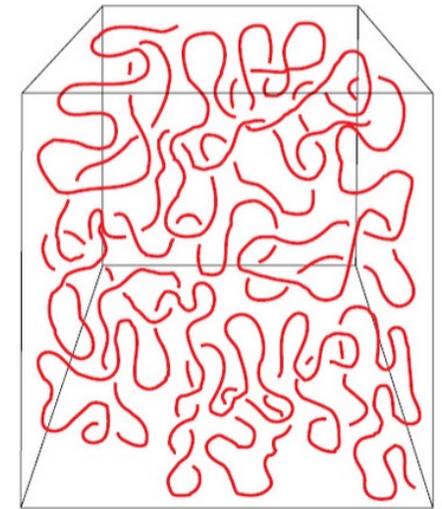
Acide hyaluronique; facilite la migration et la réparation tissulaire



● globular protein (50,000)

∞ spectrin (1×10^6)

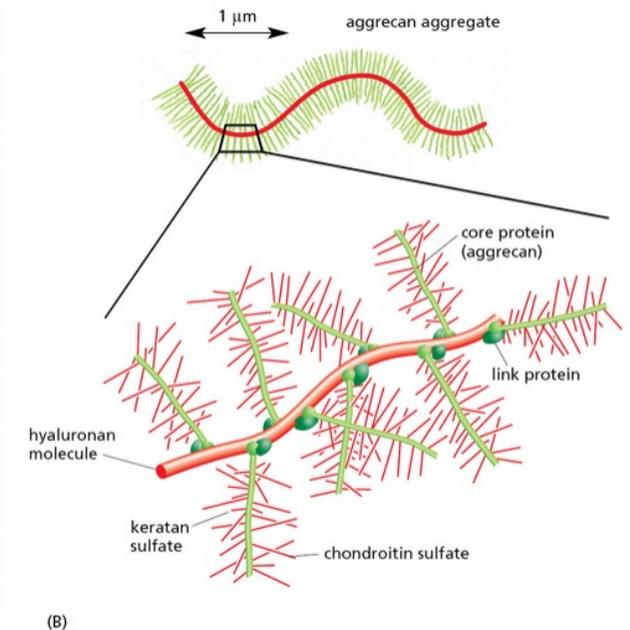
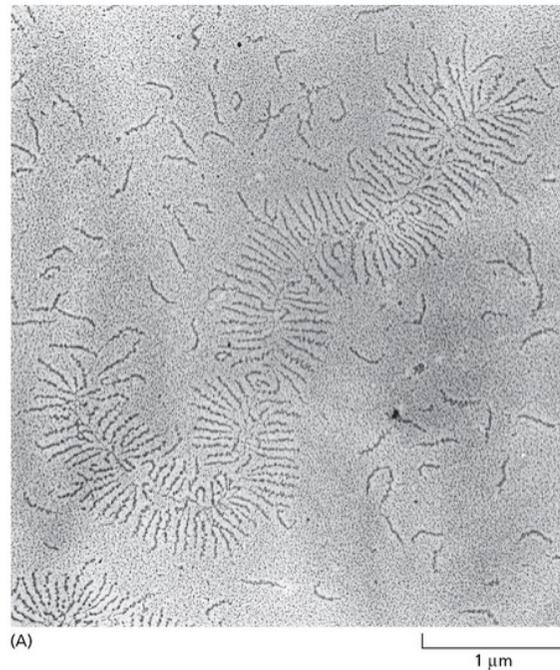
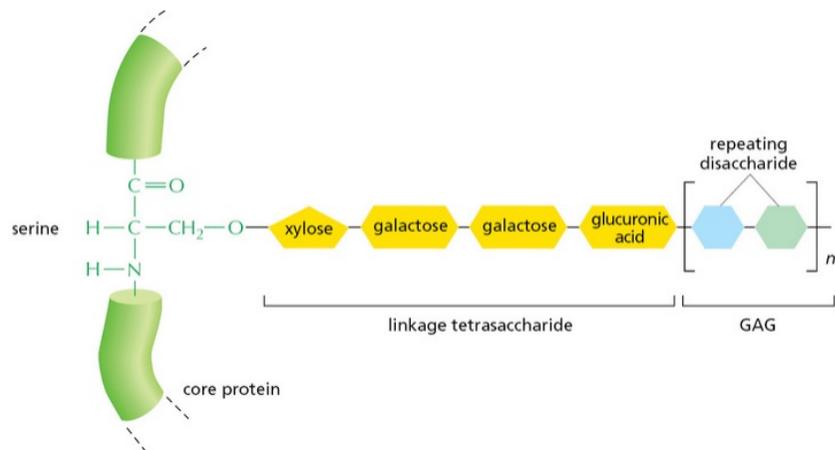
— collagen (400,000)



hyaluronan (8×10^6)

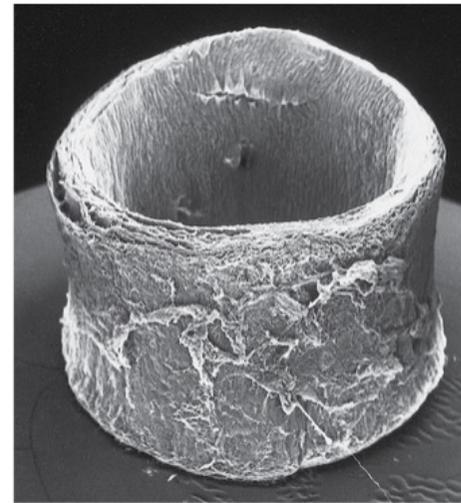
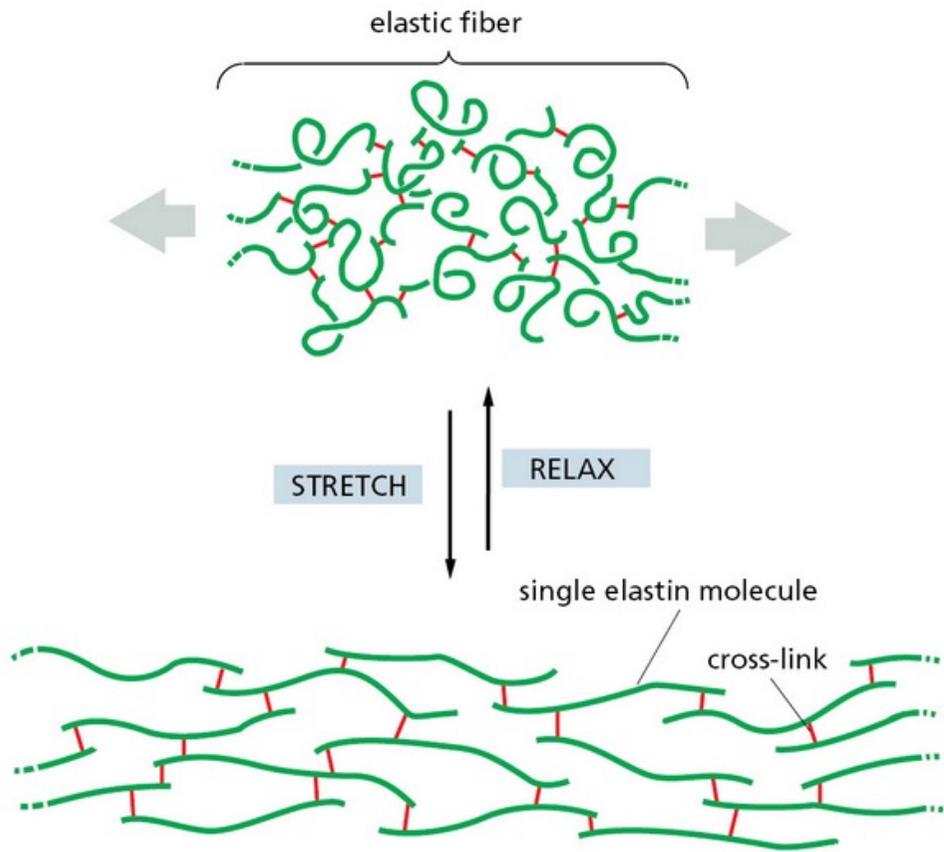
300 nm

Les protéoglycans sont composés de chaînes GAG liées de manière covalente à une protéine



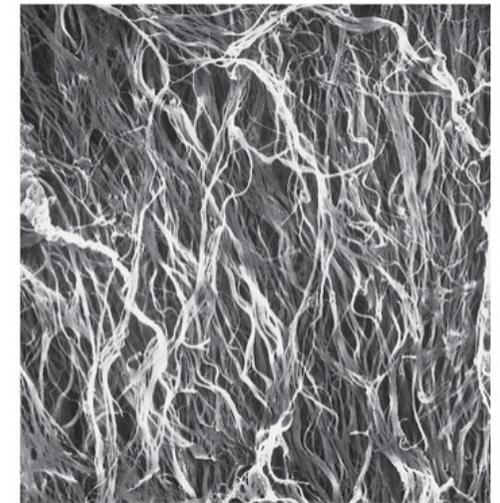
Dans les protéoglycans, la masse de leur composant glucidique est plus importante que celle de leur composant protéique et ils sont hydratés à l'extrême.

Les élastines donnent au tissu leur élasticité



(A)

1 mm



(B)

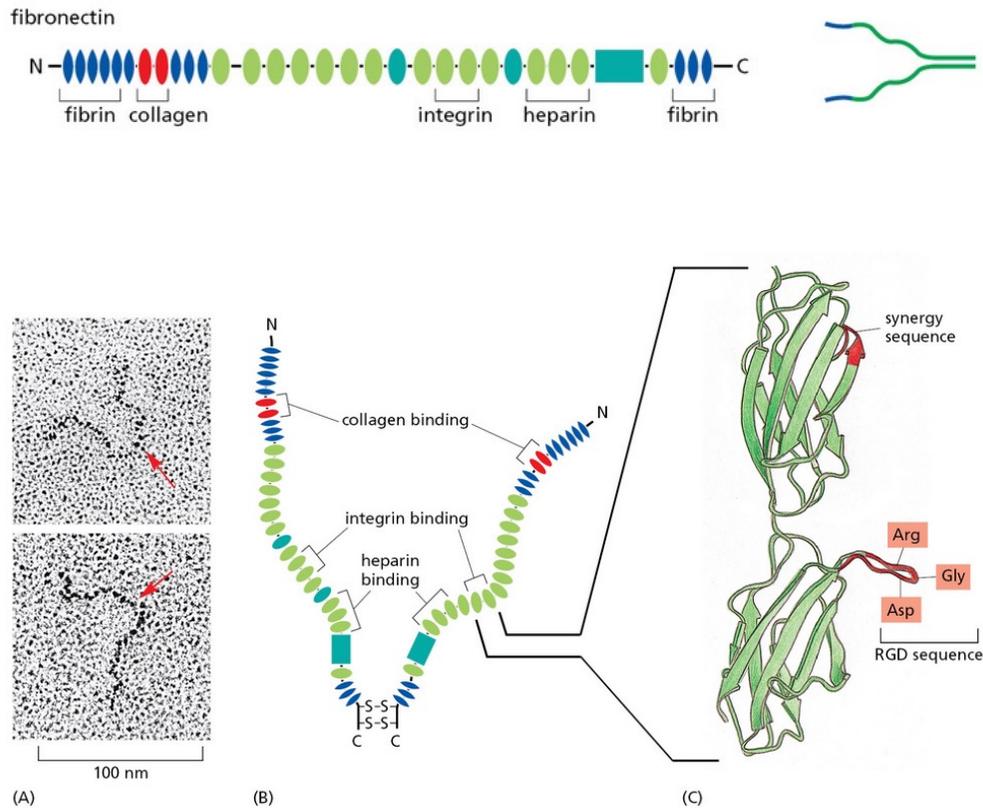
100 μm

Réseau d'élastine autour de l'aorte

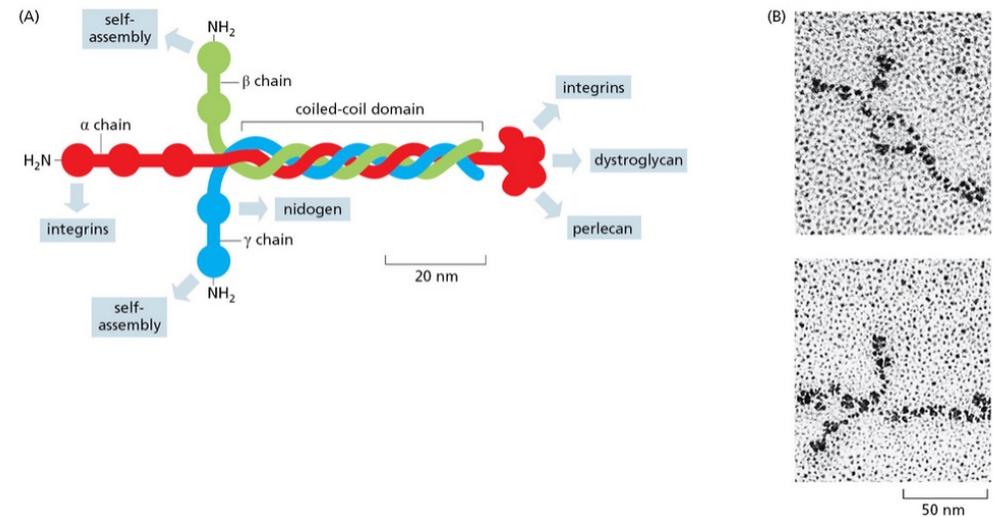
La Fibronectine et la Laminine sont des glycoprotéines qui interagissent avec les intégrines et qui contribuent à l'organisation de la MEC

A RETENIR !

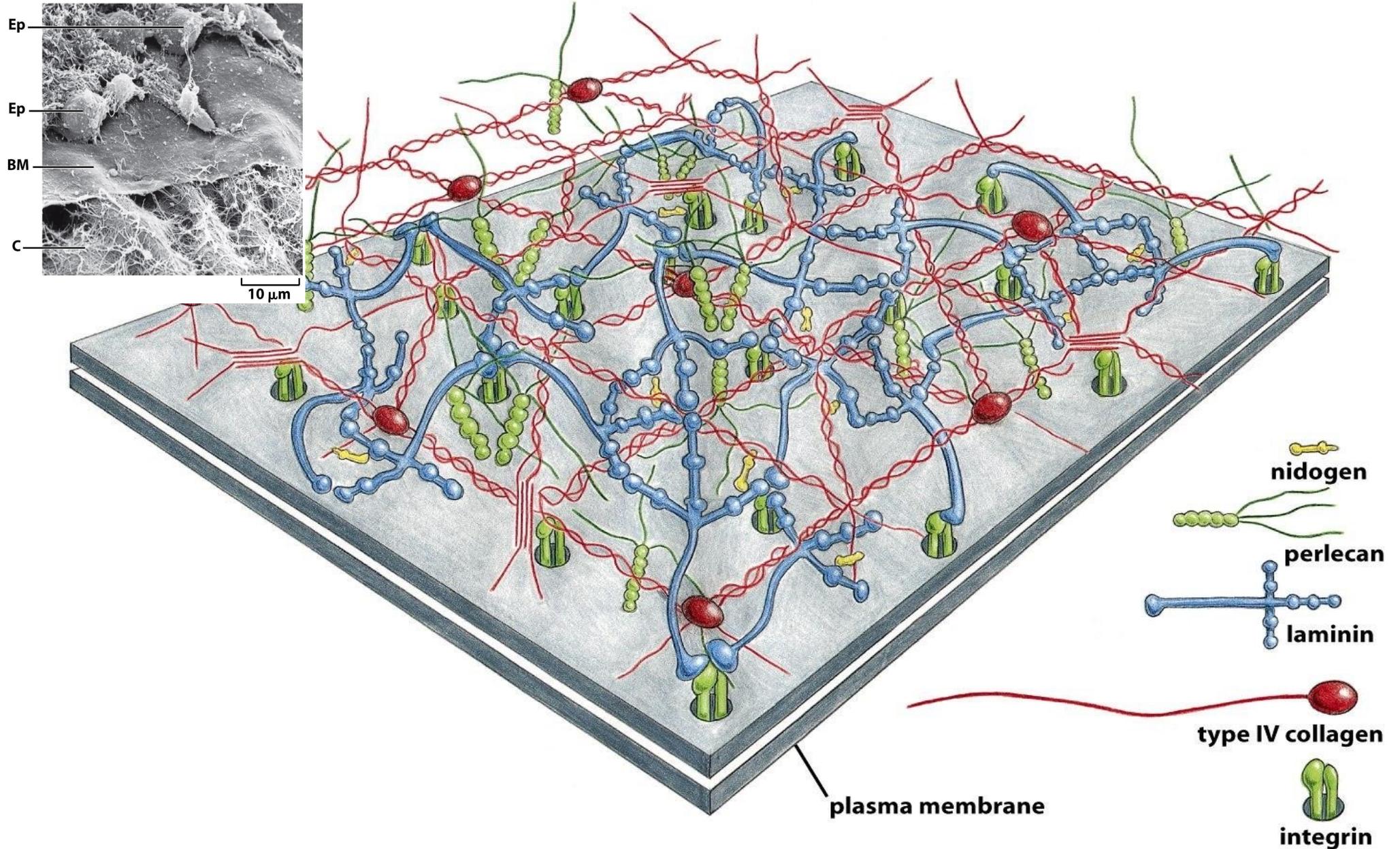
A : La Fibronectine



B: La Laminine



La lame basale est une forme spécialisée de MEC



Les intégrines interagissent avec divers composants de la MEC

A RETENIR !

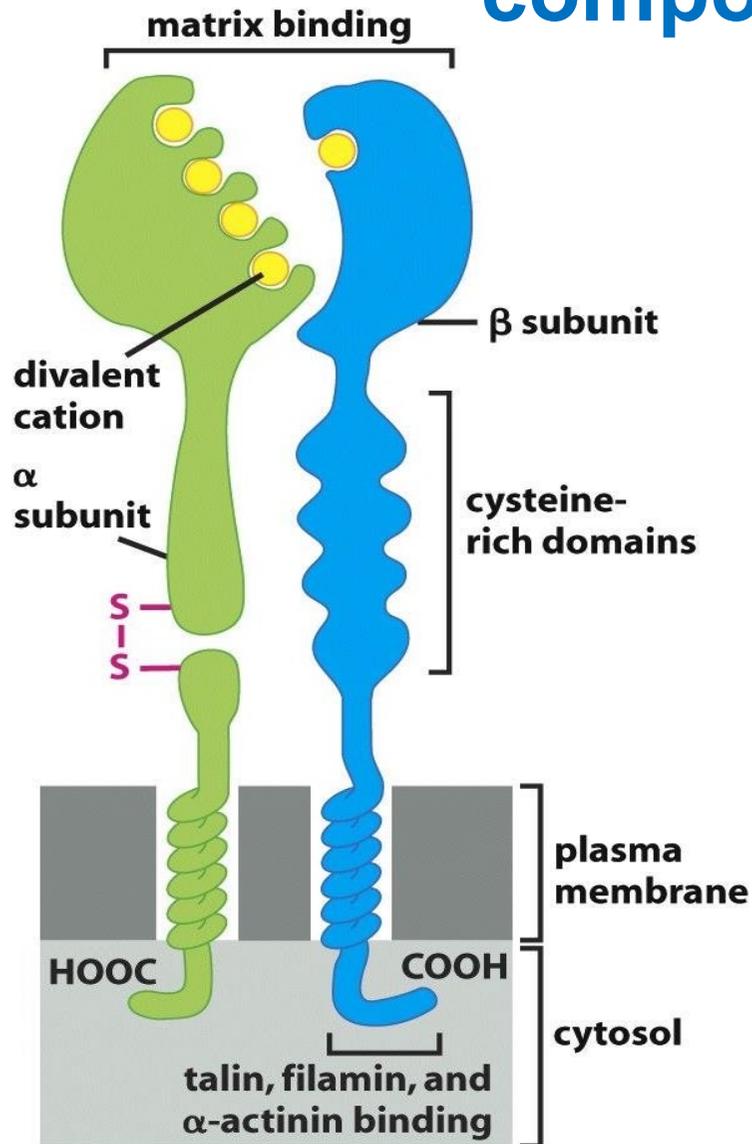
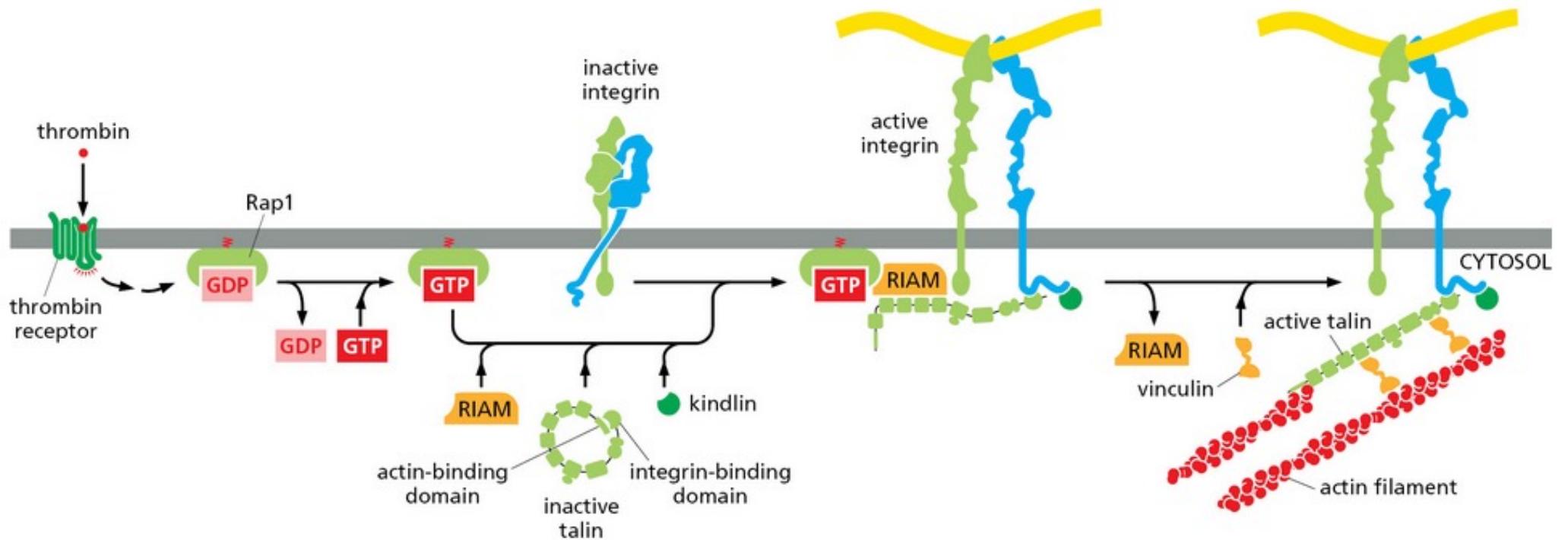


Table 5.4 Examples of integrins and their extracellular matrix ligands

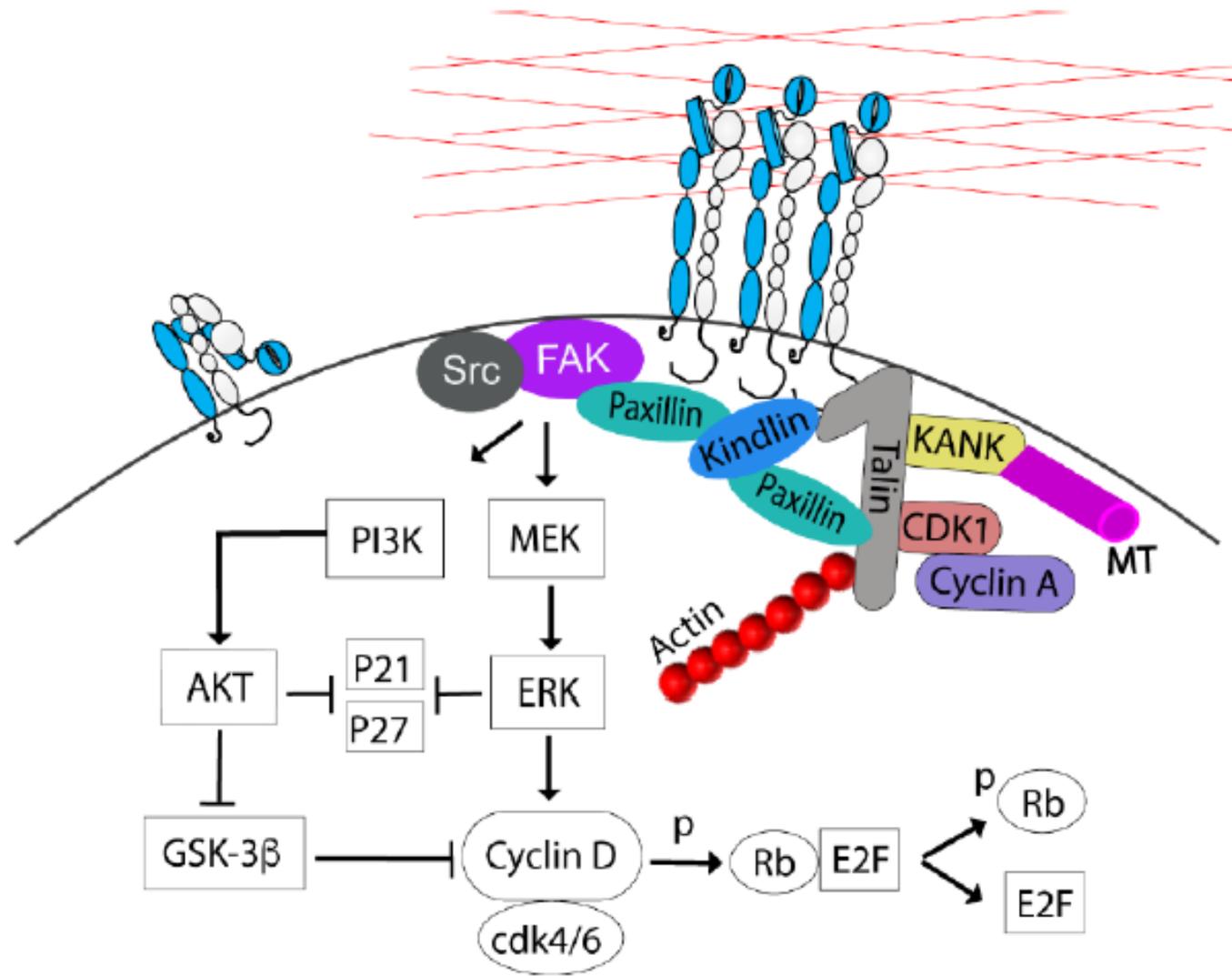
Integrin	ECM ligand
$\alpha 1\beta 1$	collagens, laminin
$\alpha 1\beta 1$	vitronectin, fibronectin
$\alpha v\beta 3$	vitronectin, fibrinogen, thrombospondin
$\alpha 5\beta 1$	fibronectin
$\alpha 6\beta 1$	laminin
$\alpha 7\beta 1$	laminin
$\alpha 2\beta 3$	fibrinogen
$\alpha 6\beta 4$	laminin–epithelial hemidesmosomes

Adapted in part from B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. New York: Garland Science, 2002; and from H. Lodish et al., *Molecular Cell Biology*. New York: W.H. Freeman & Co./Scientific American Books, 1995.

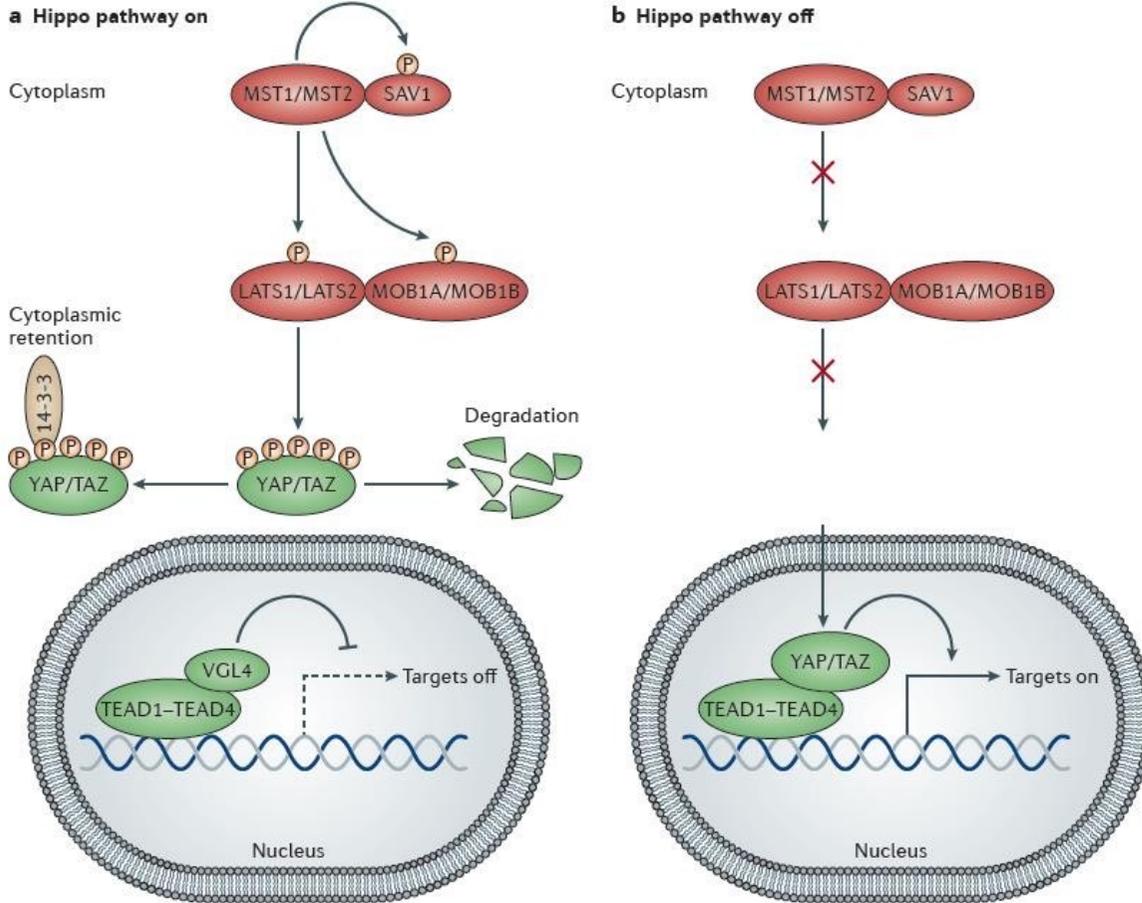
Activation des intégrines en réponse à une signalisation intracellulaire



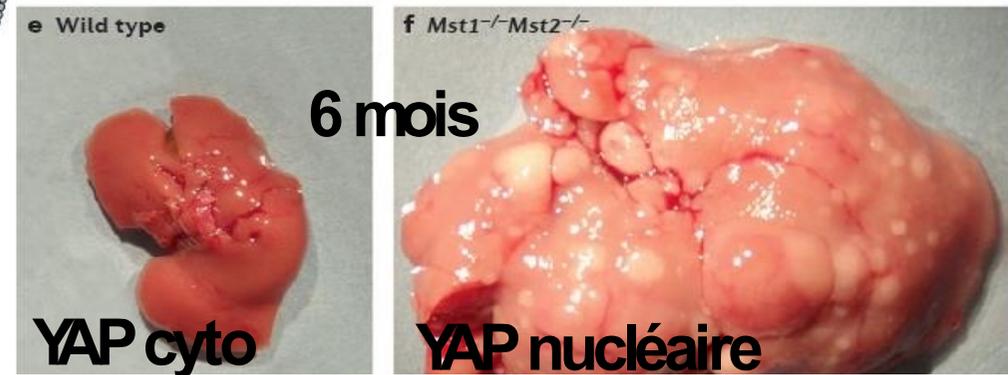
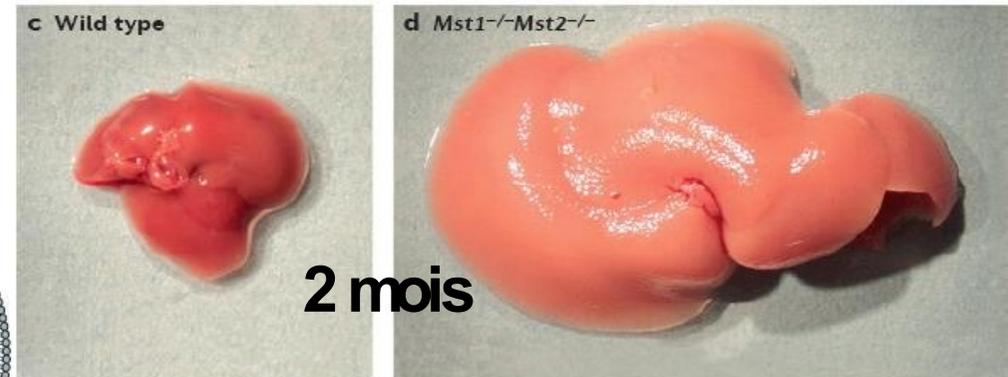
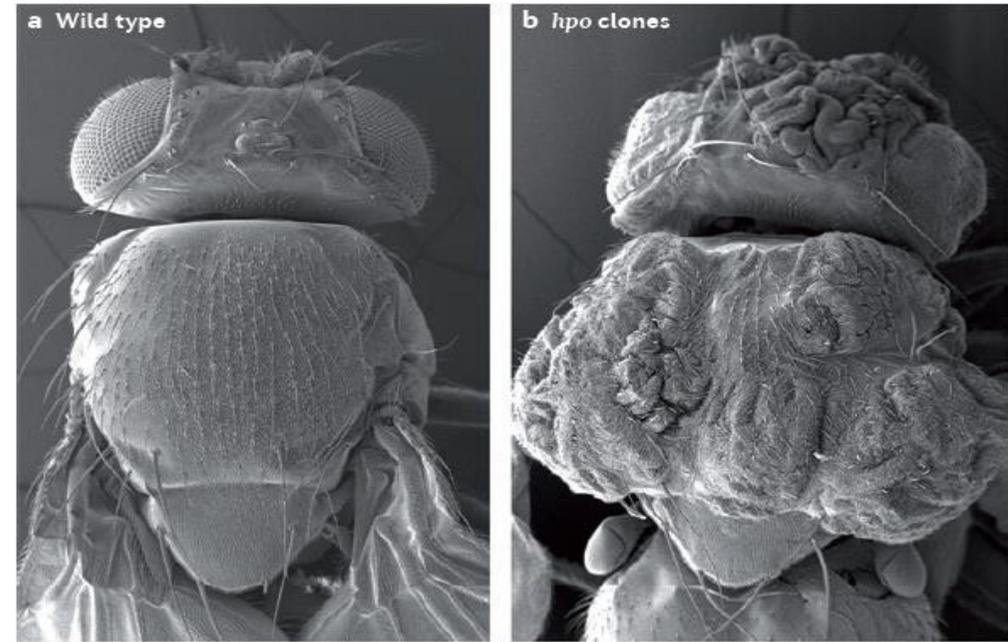
Les interactions avec la matrice extra-cellulaire influencent l'activité de voies de signalisation



La voie de signalisation Hippo



Hippo chez drosophile = MST1 humain



Stimulation mécanique et voie Hippo/YAP/TAZ

La rigidité du support contrôle la localisation sub-cellulaire de facteurs de transcription YAP/TAZ

(cellule souche mésenchymateuse)

