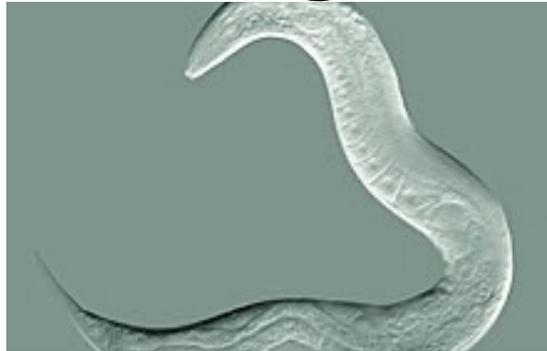


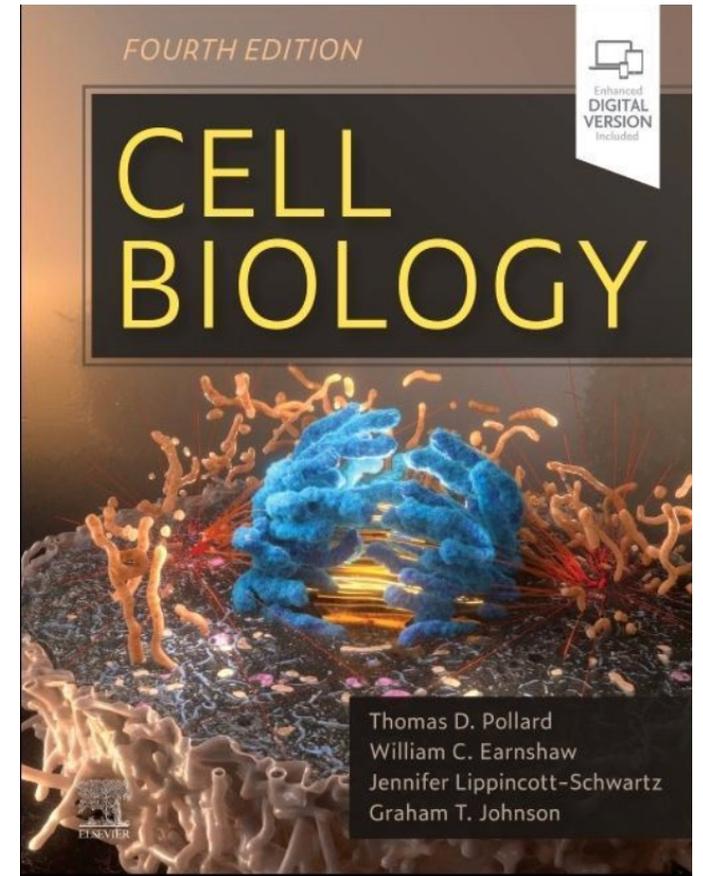
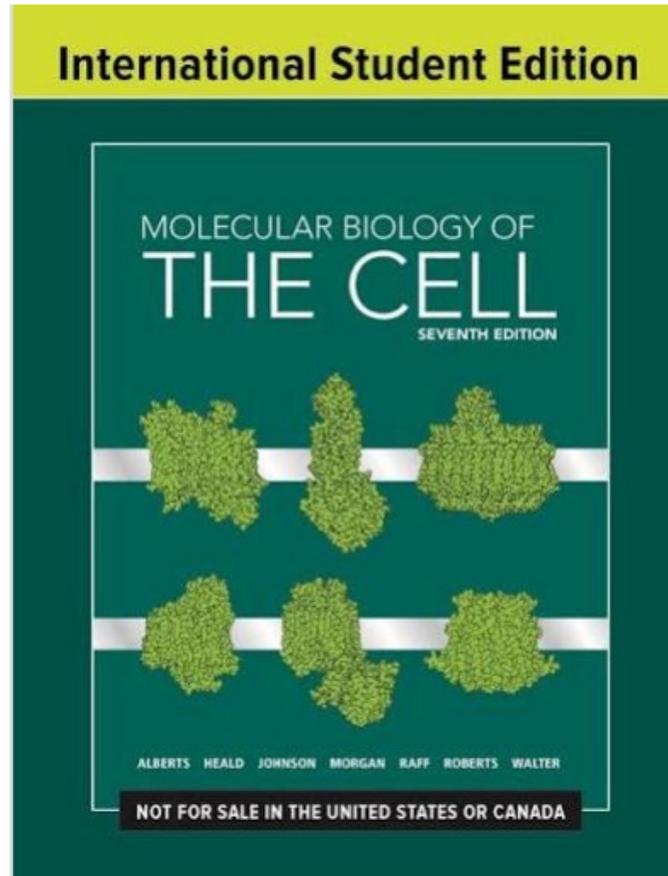
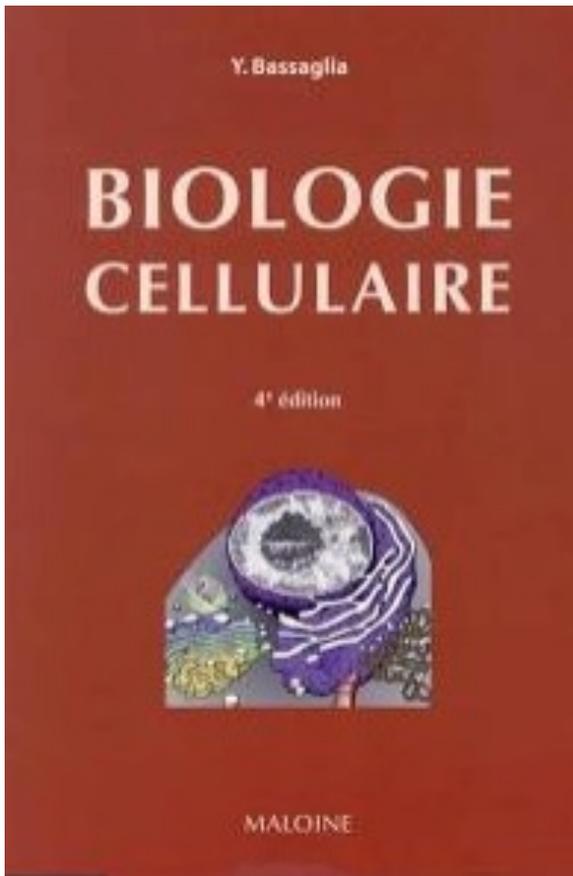
# UE Biologie cellulaire et développement



Boris BARDOT

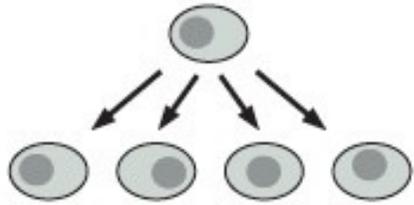


(boris.bardot@universite-paris-saclay.fr)

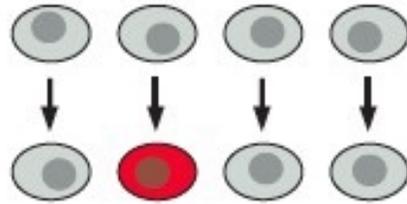


Lectures recommandées!

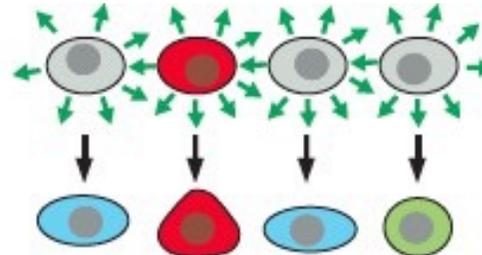
# Comment créer un organisme multicellulaire ?



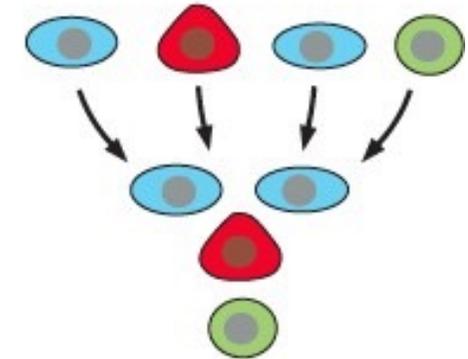
CELL PROLIFERATION



CELL SPECIALIZATION



CELL INTERACTION

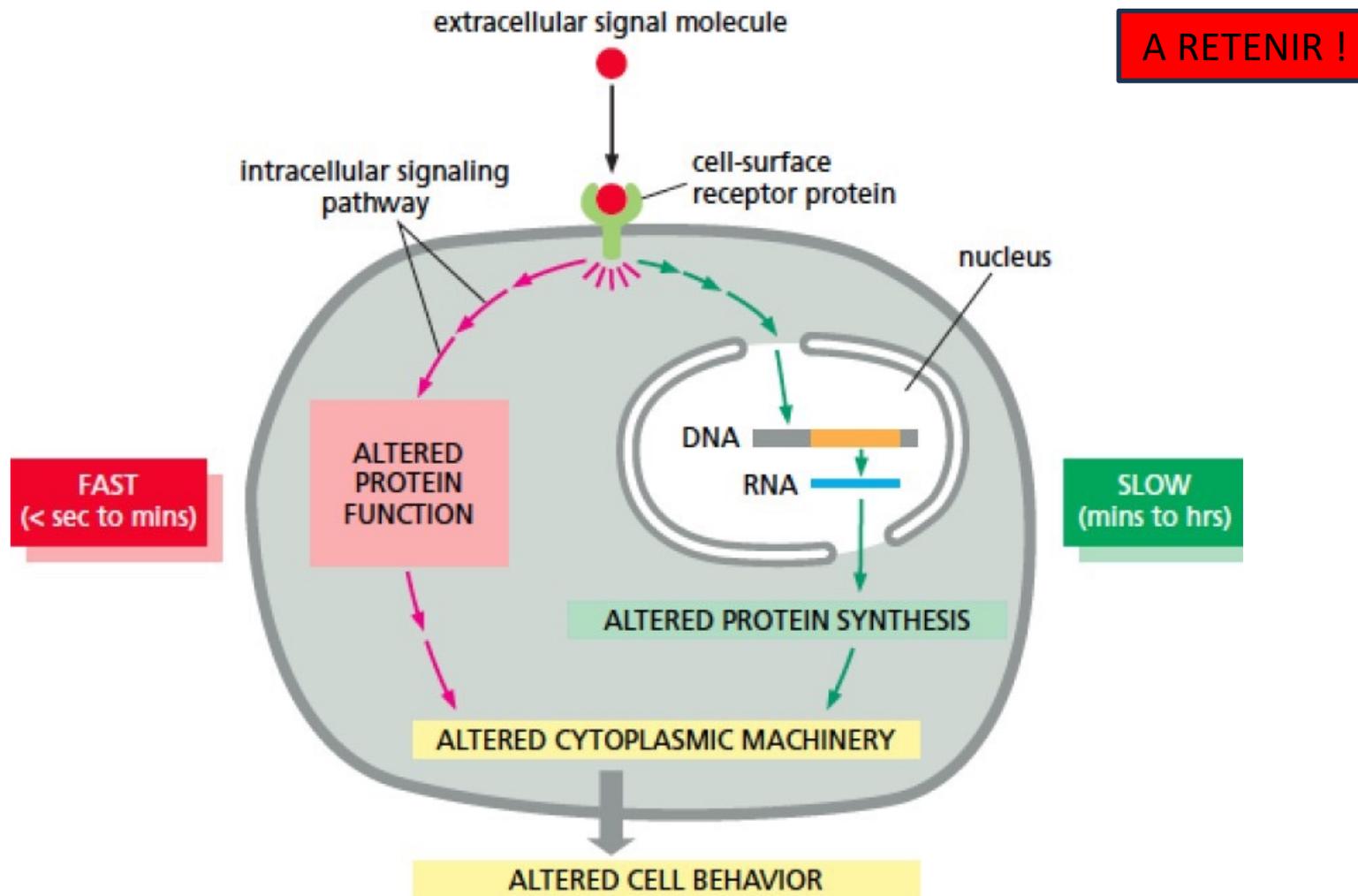


CELL MOVEMENT



# LA SIGNALISATION CELLULAIRE

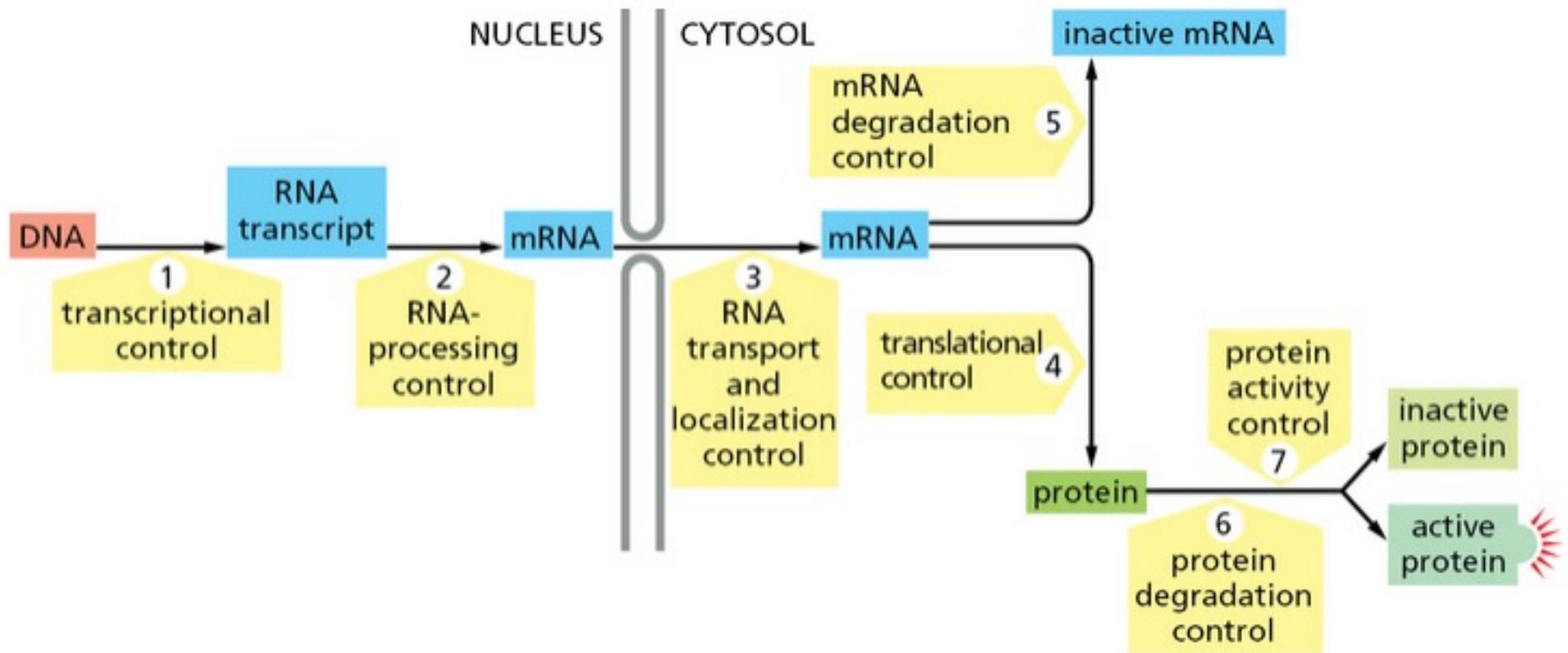
# Signalisation... le principe



→ importance lors du développement

# Etapes clés de contrôle de l'expression des gènes eucaryotes

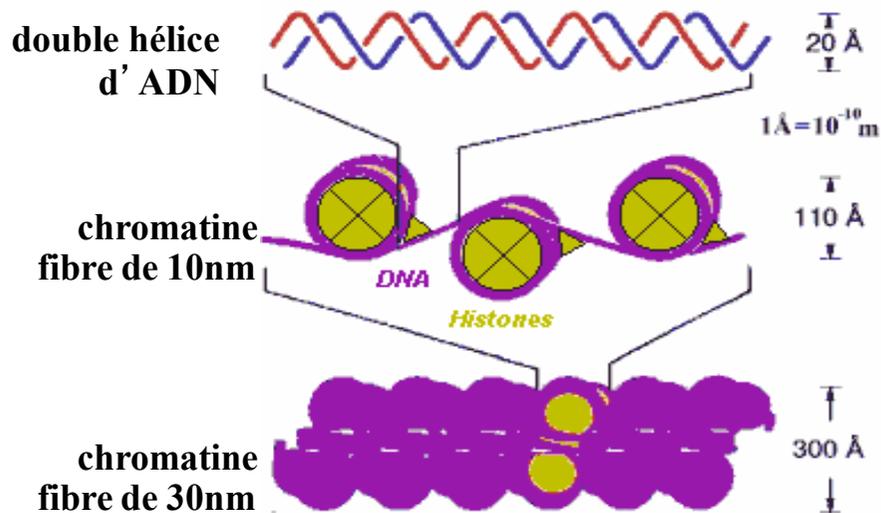
A RETENIR !



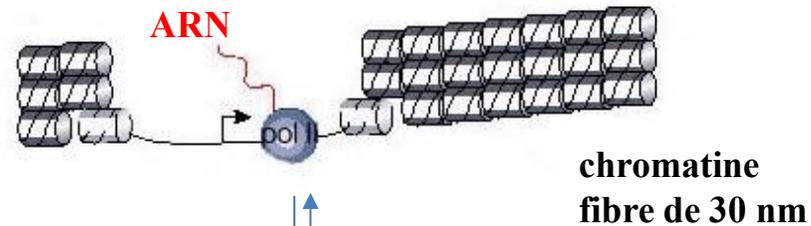
# L'expression des gènes dépend du degré de compaction de la chromatine

A RETENIR !

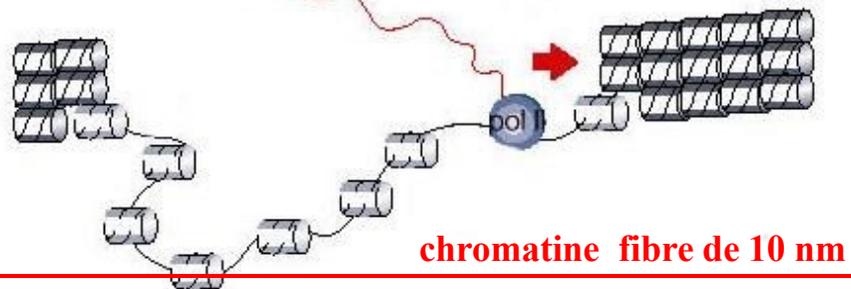
**Nucléosome: (H2A H2B H3 H4) X2**  
**Pontage entre nucléosomes: H1**



## Initiation



## Elongation



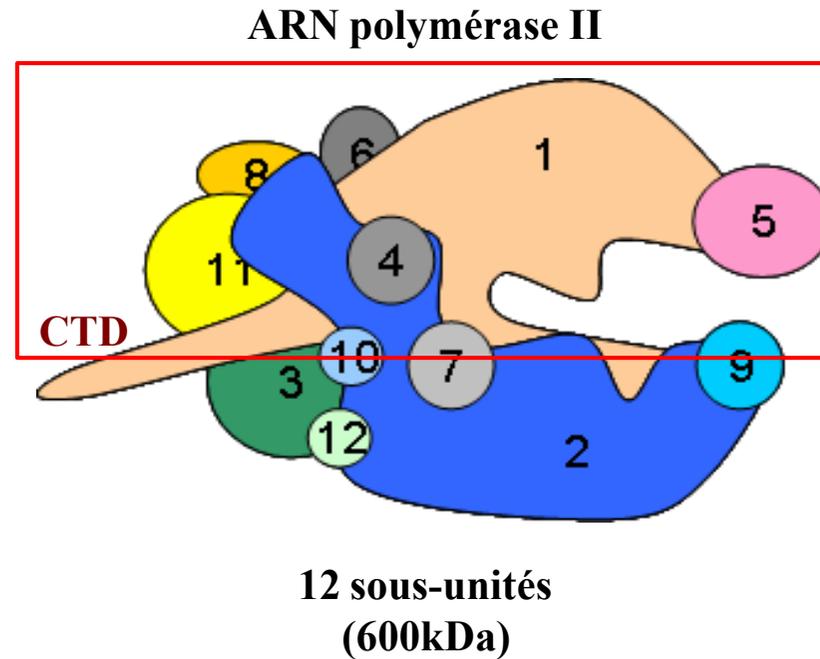
Méthylation de l'ADN

Variants d'histones

Modifications post-traductionnelles des histones

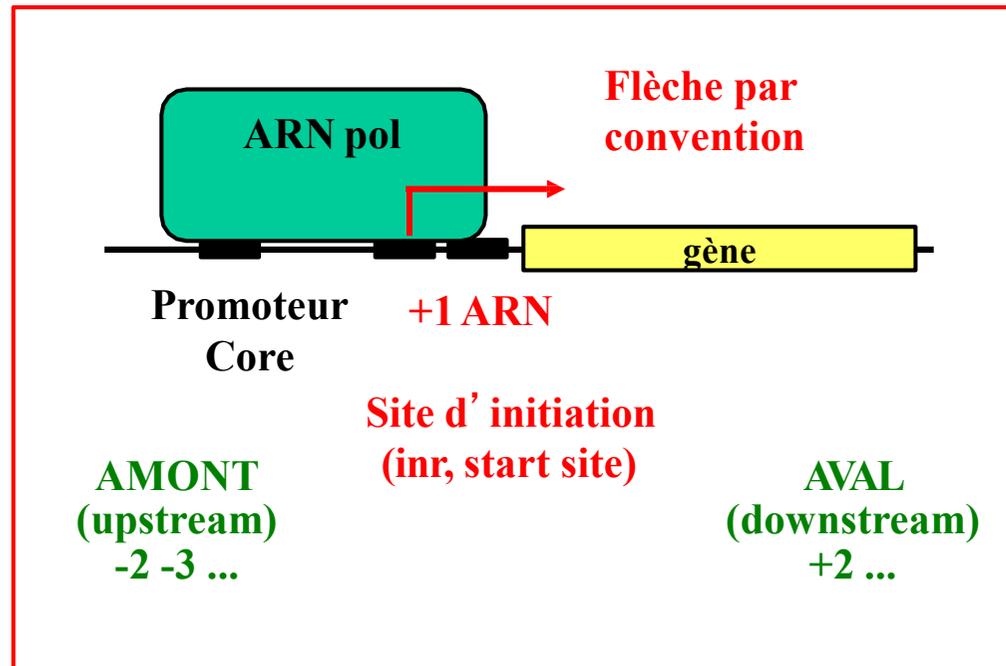
Complexe de remodelage de la chromatine

# ARN polymérase eucaryotes



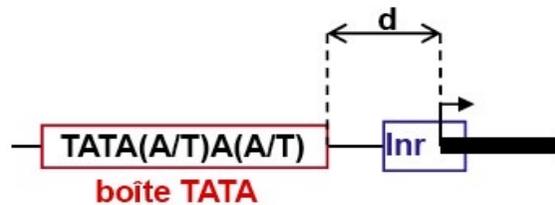
CTD: domaine C-terminal; sa phosphorylation est essentielle pour le démarrage de la transcription

# ARN polymérase et transcription



# Initiation de la transcription des gènes de classe II

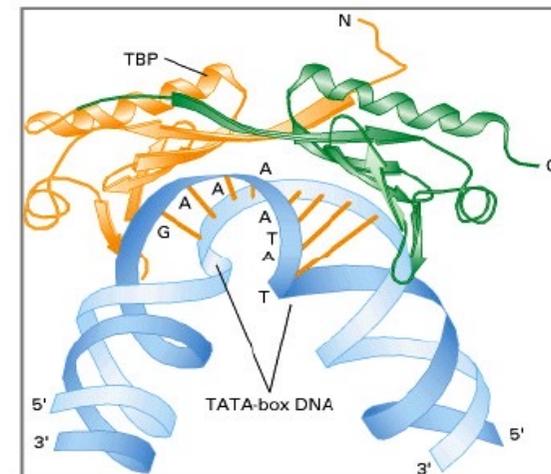
- Structure du promoteur « minimal » de la plupart des gènes de classe II



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

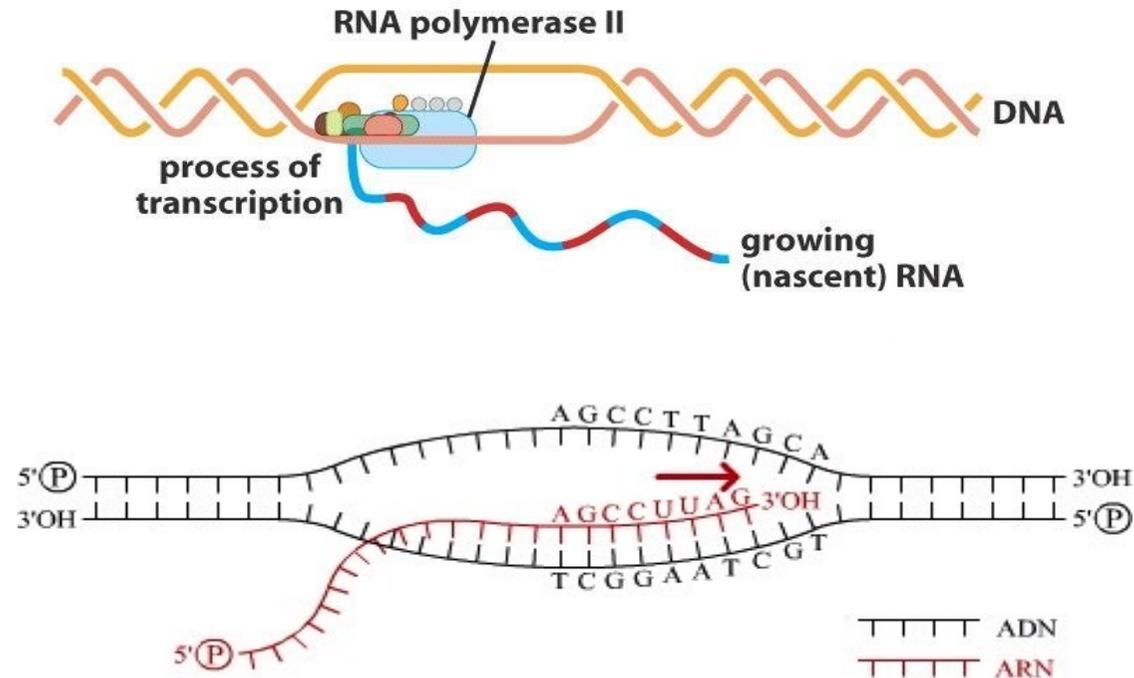
Inr : initiateur ou séquence initiatrice

- *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

# Transcription



L'ARN polymérase lit le brin antisens qui est complémentaire du brin codant (ou brin sens) depuis son extrémité 3' vers son extrémité 5'. Le brin d'ARN néosynthétisé est donc identique au brin codant d'ADN, aux uraciles et riboses près.

## Mais l'ARN polymérase ne sait pas:

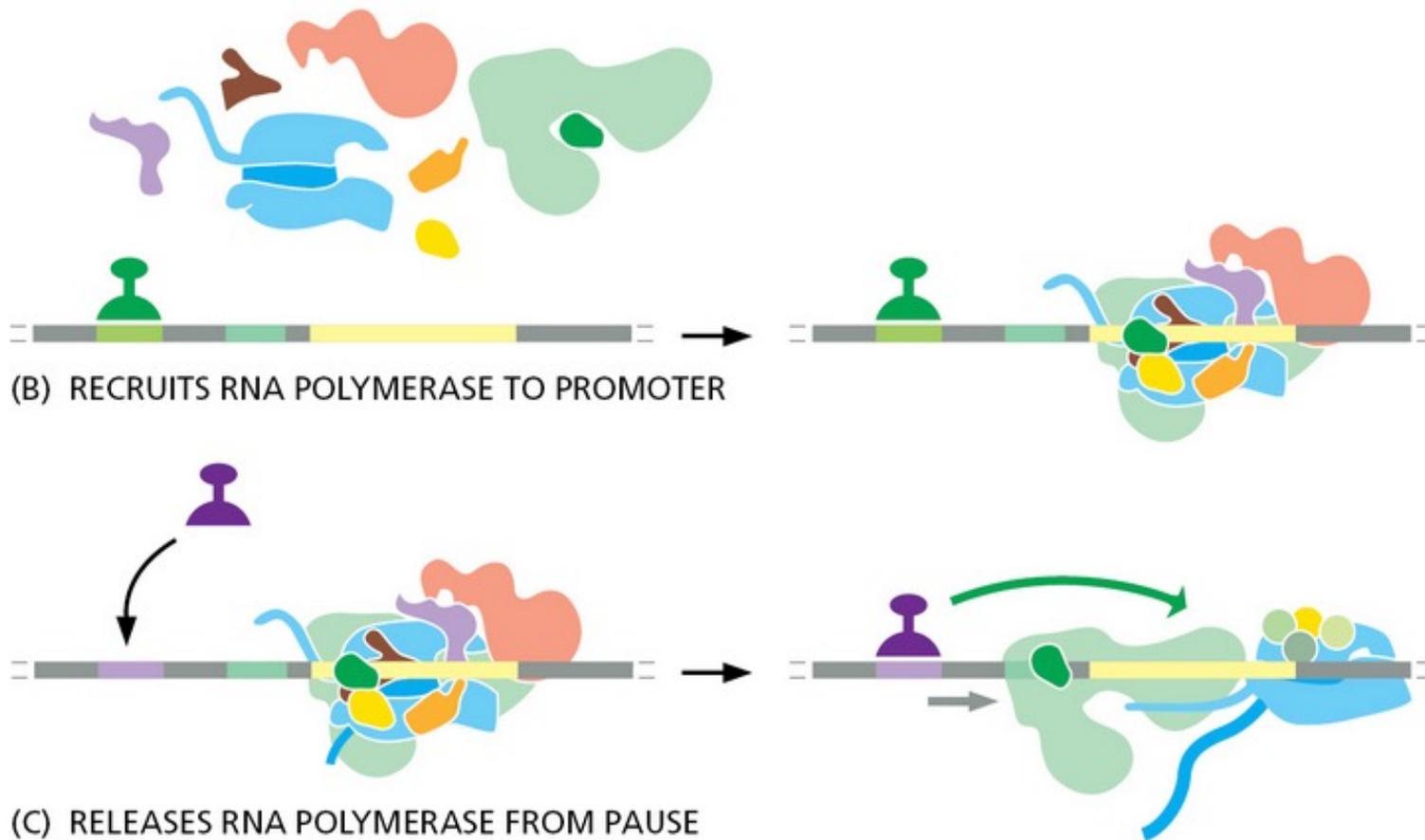
- Reconnaître spécifiquement les sites de démarrage de la transcription
- Ouvrir efficacement la double hélice
- Franchir efficacement les séquences nucléotidiques de pause ou d'arrêt

→ 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)

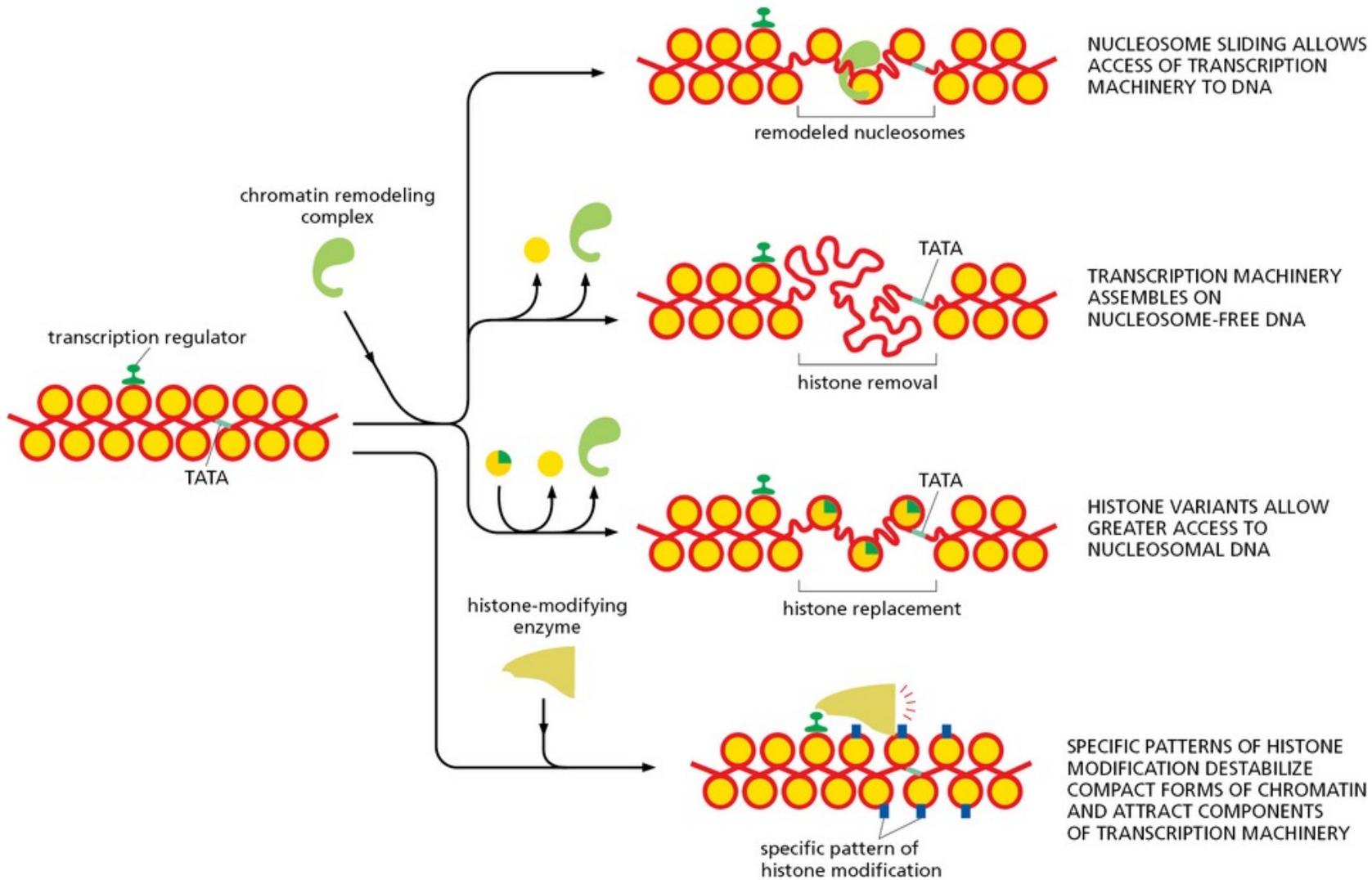
# Des régulateurs spécifiques peuvent activer la transcription (1/2)

A RETENIR !



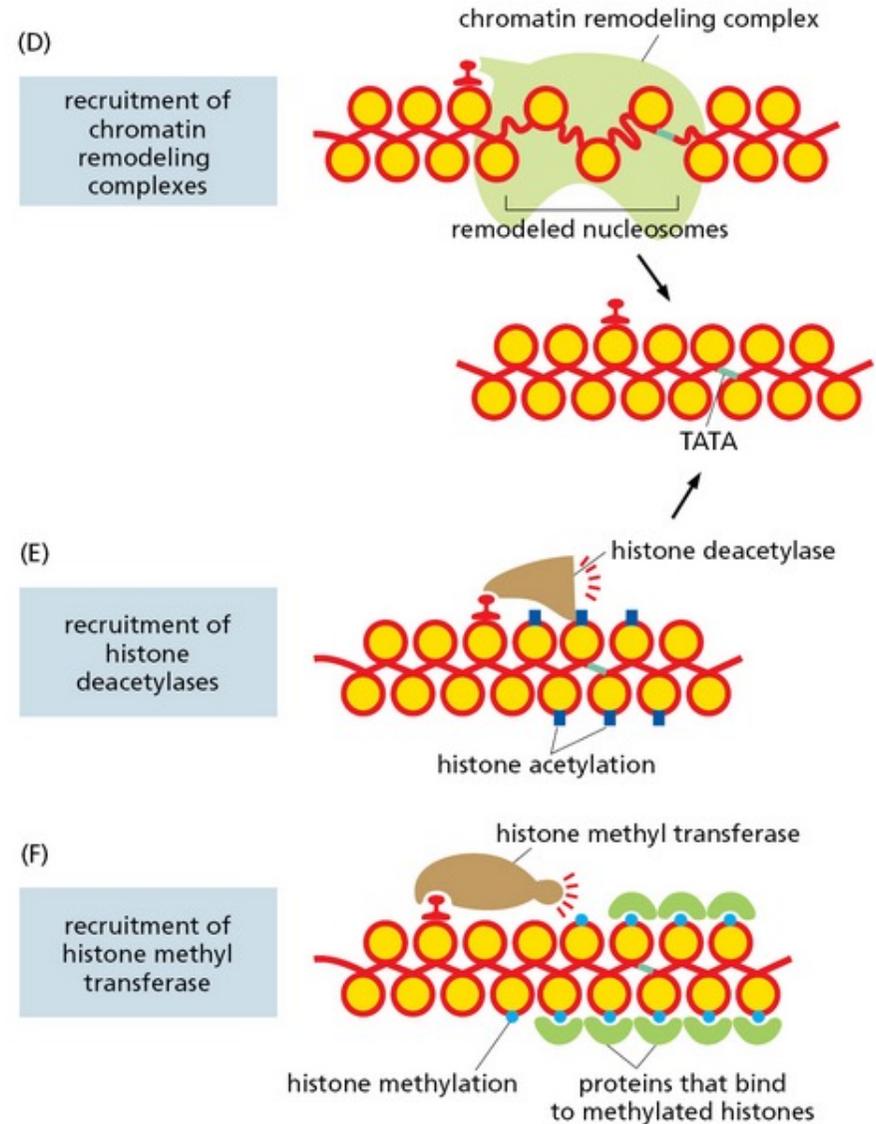
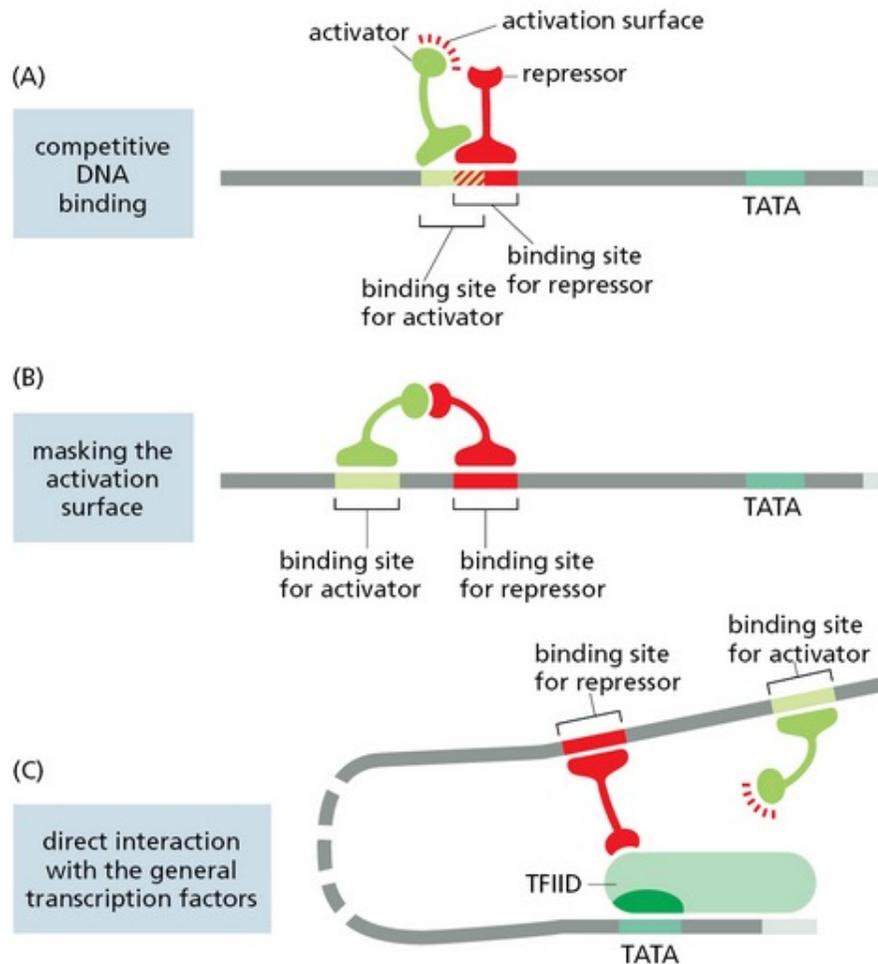
# Des régulateurs spécifiques peuvent activer la transcription (2/2)

**A RETENIR !**



# Des régulateurs spécifiques peuvent inhiber la transcription

**A RETENIR !**

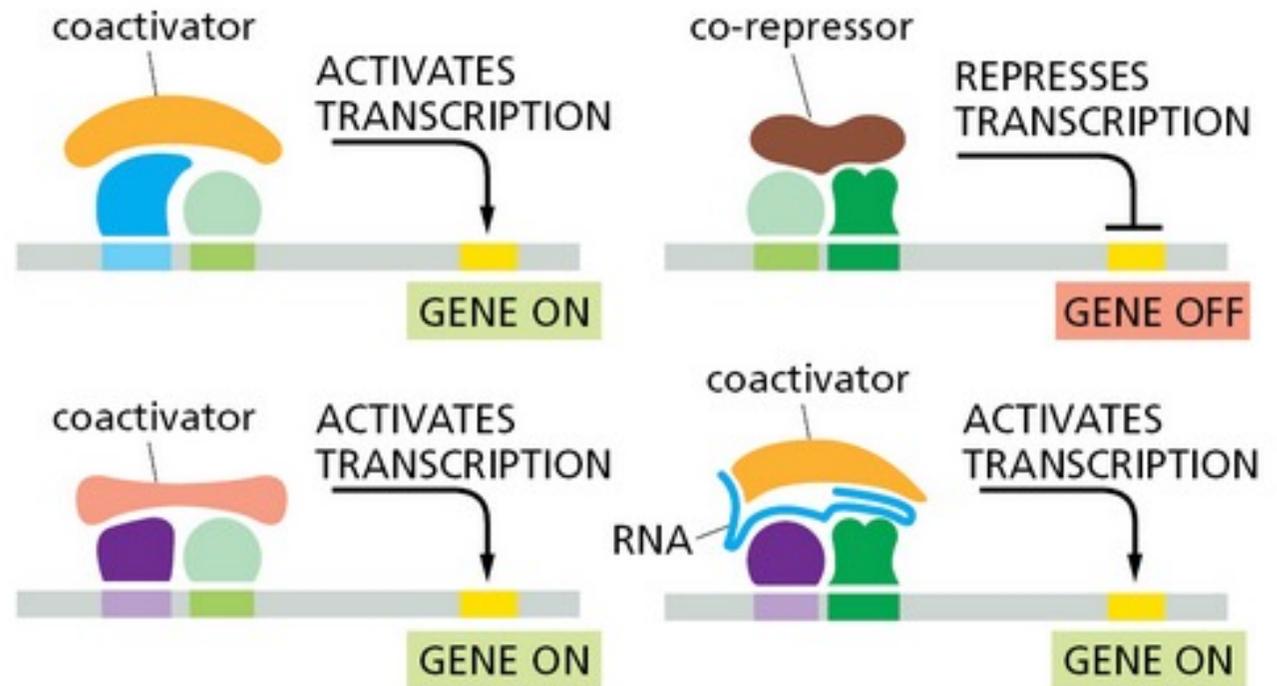


# Des régulateurs spécifiques forment des complexes sur l'ADN

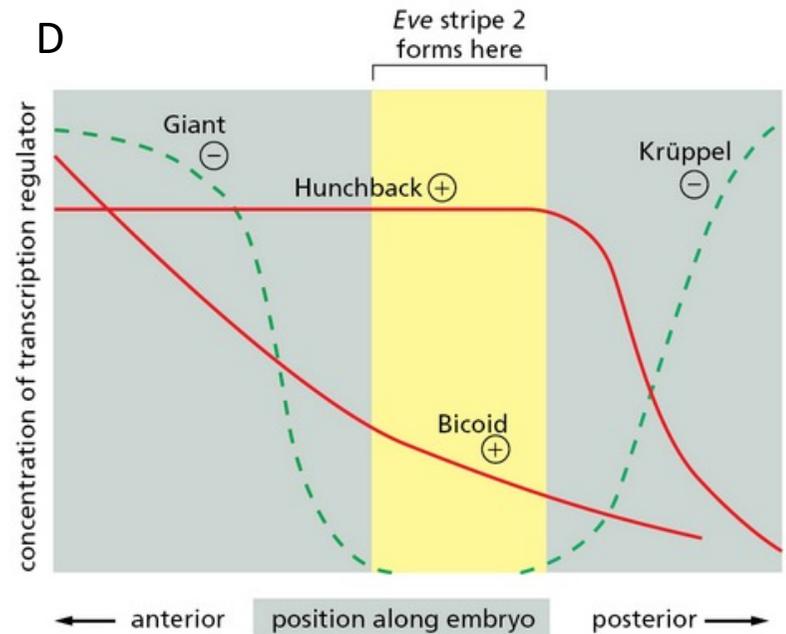
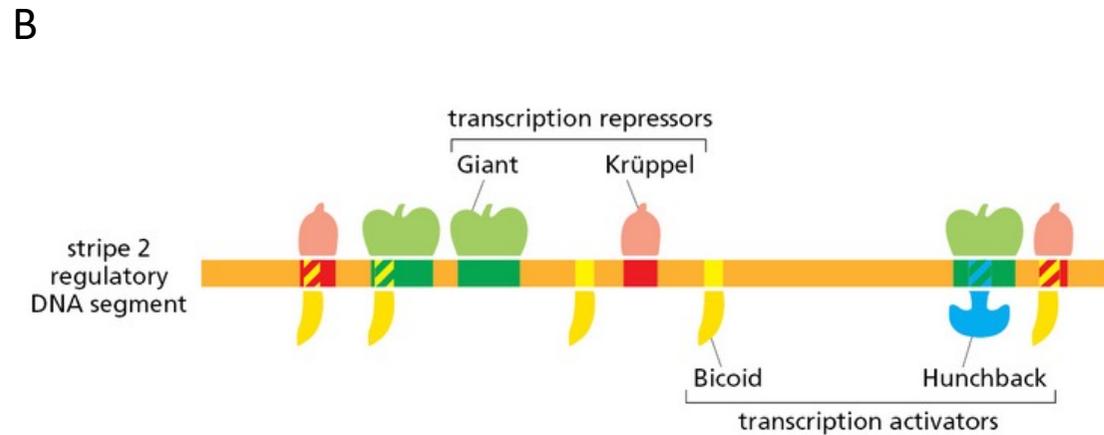
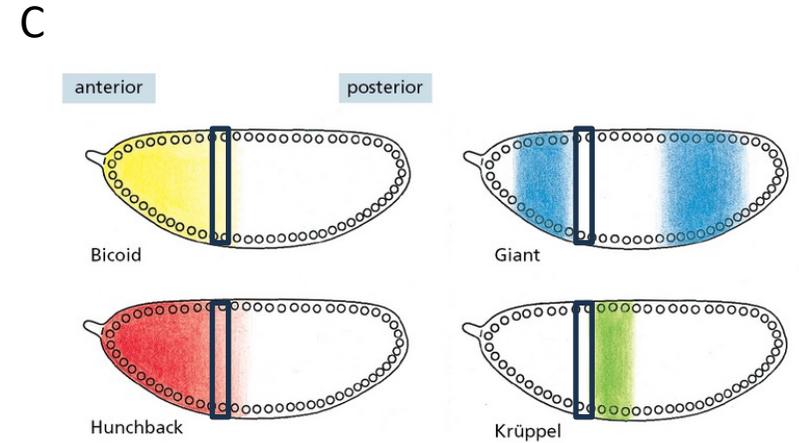
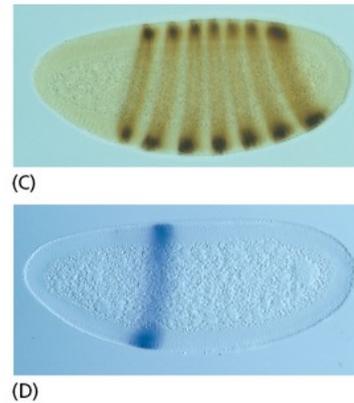
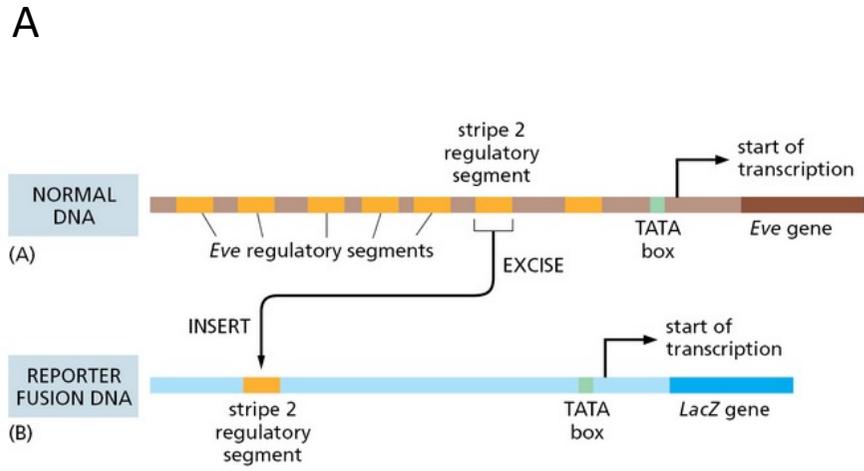
(A) IN SOLUTION



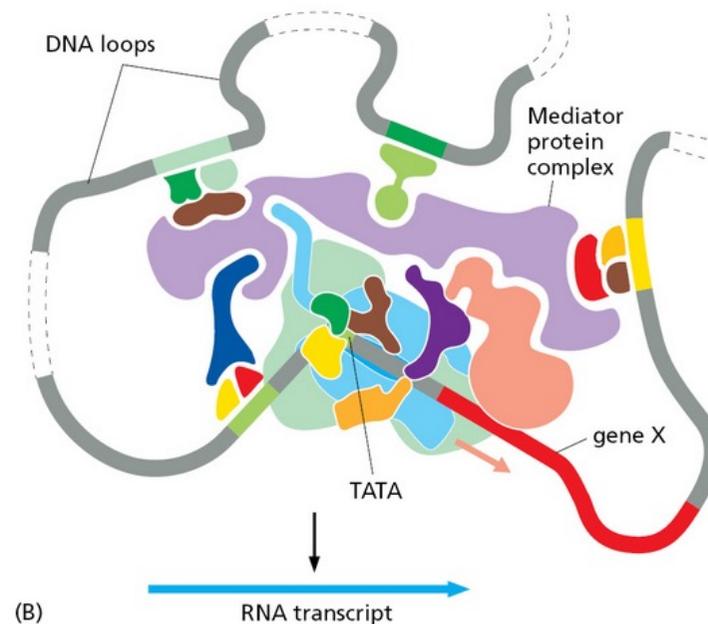
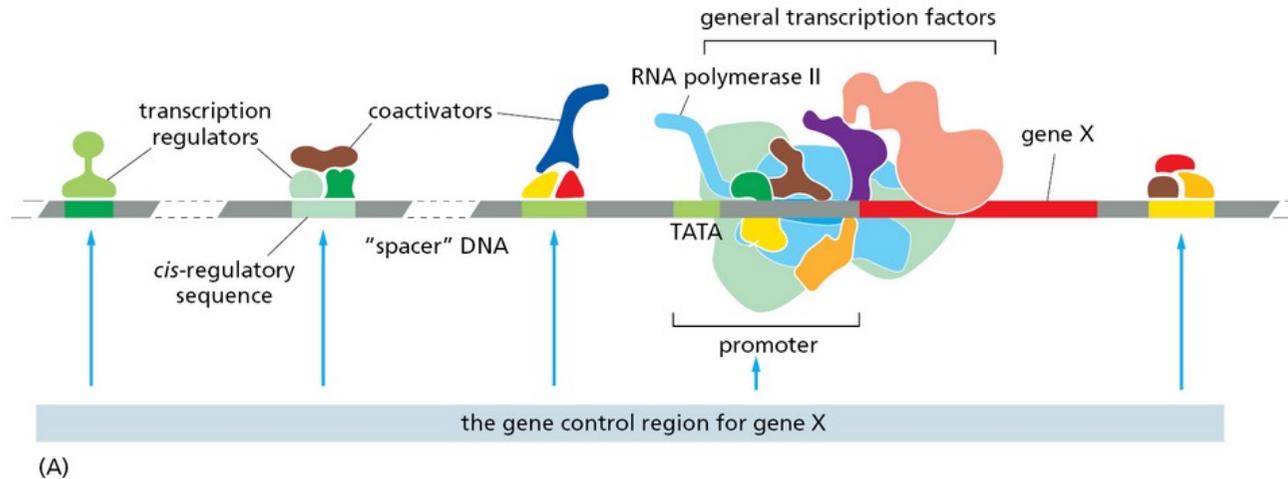
(B) ON DNA



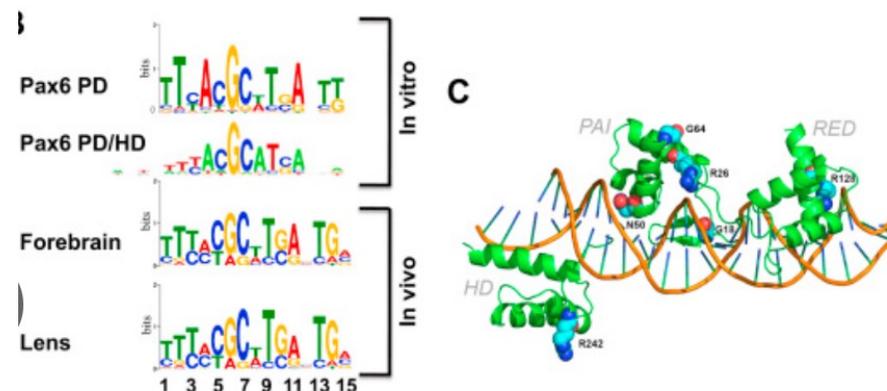
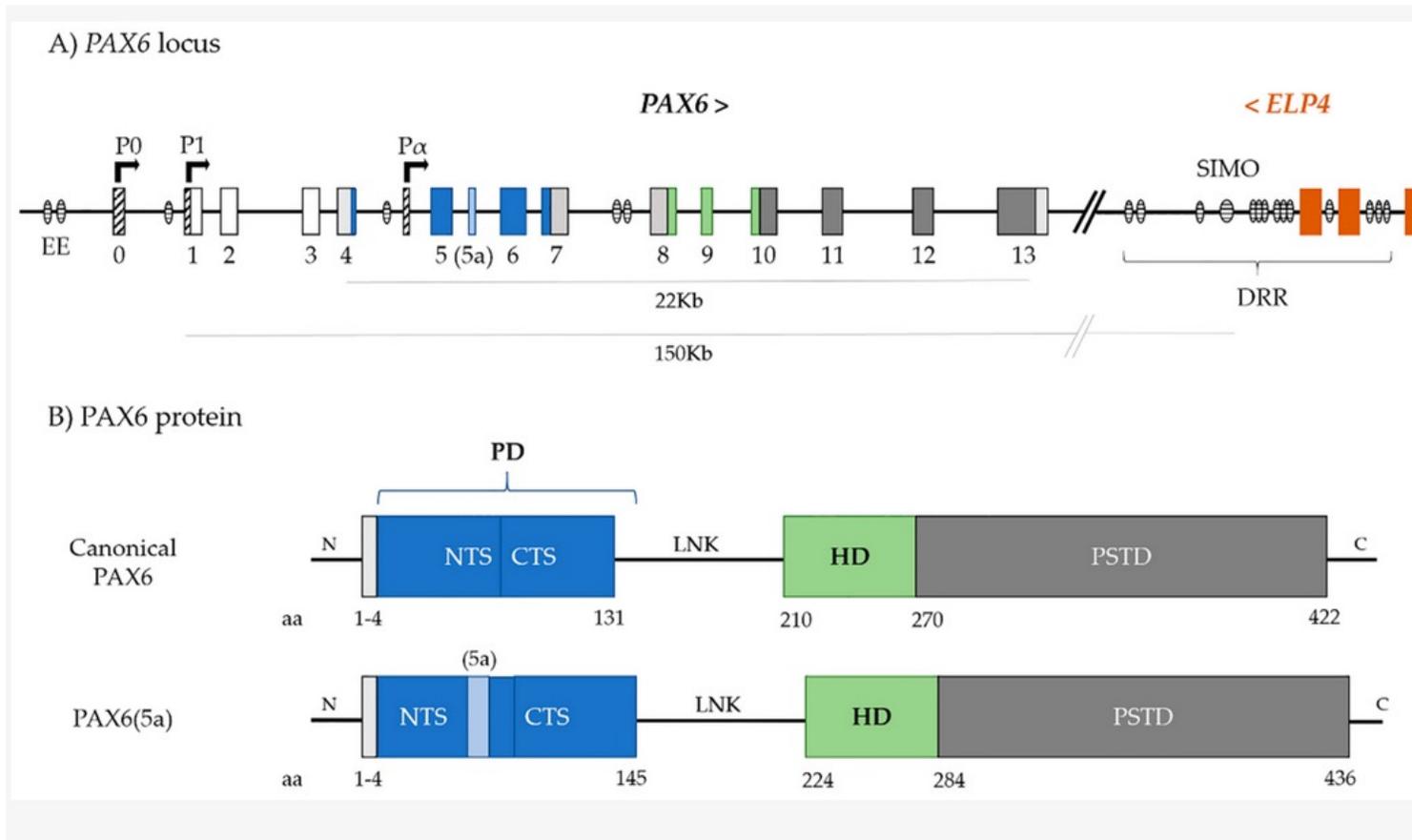
# EX: Régulation de l'expression du gène *Eve* chez la *Drosophile*



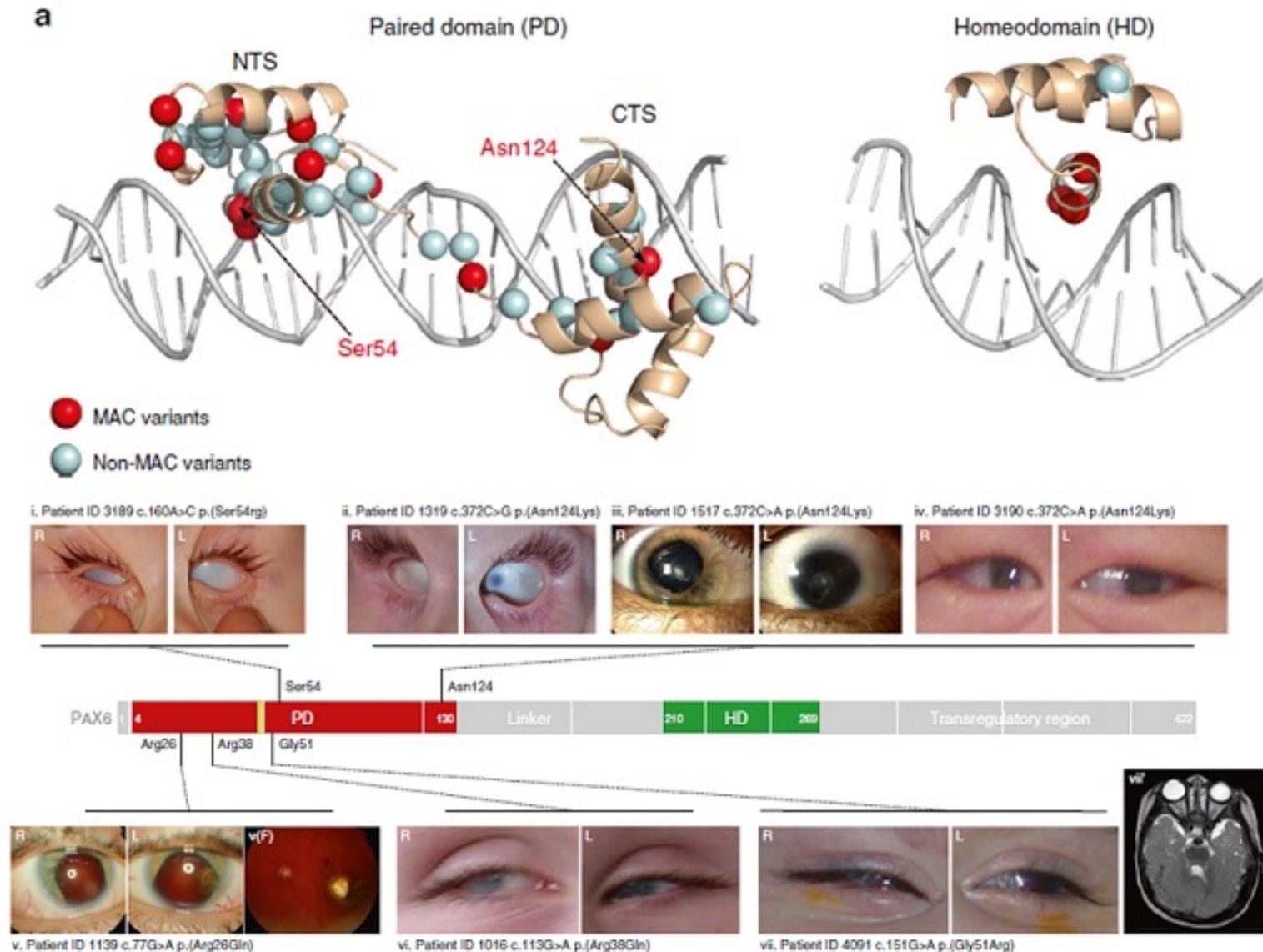
# La transcription d'un gène dépend de régions régulatrices qui peuvent être éloignées



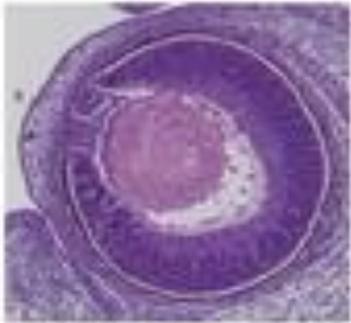
# EX: Rôle et régulation de l'expression du gène Pax6



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

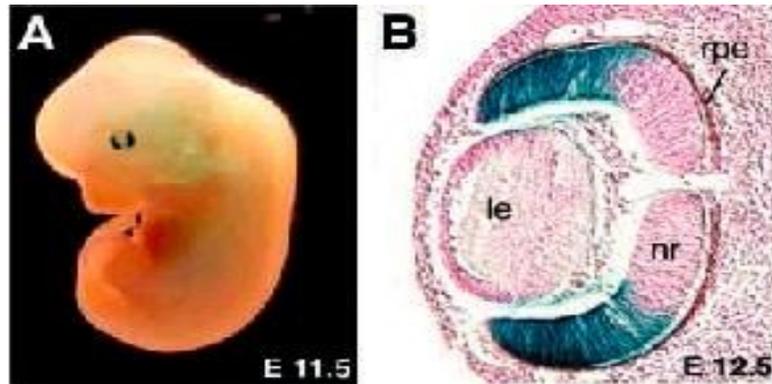
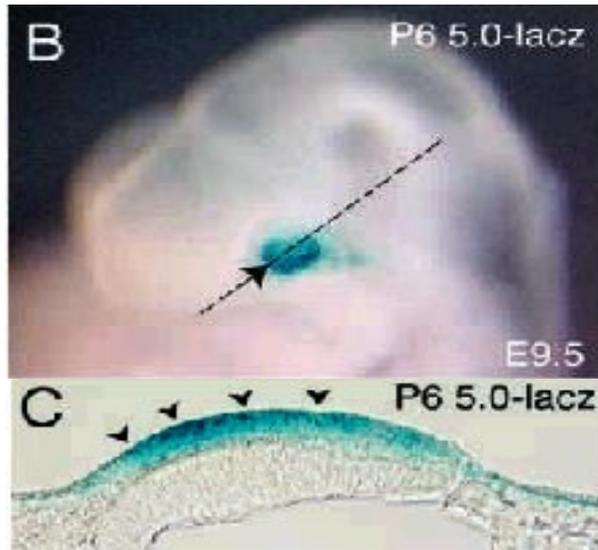


# Le rôle de Pax6 est conservé au cours de l'évolution

	Human	Mouse	Zebrafish	<i>Drosophila</i>
WT				
mut				
	<b><i>PAX6</i><sup>+/−</sup></b>	<b><i>Pax6</i><sup>−/−</sup></b>	<b><i>pax6b</i><sup>−/−</sup></b>	<b><i>ey</i><sup>−/−</sup></b>
<b>EQs</b>	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

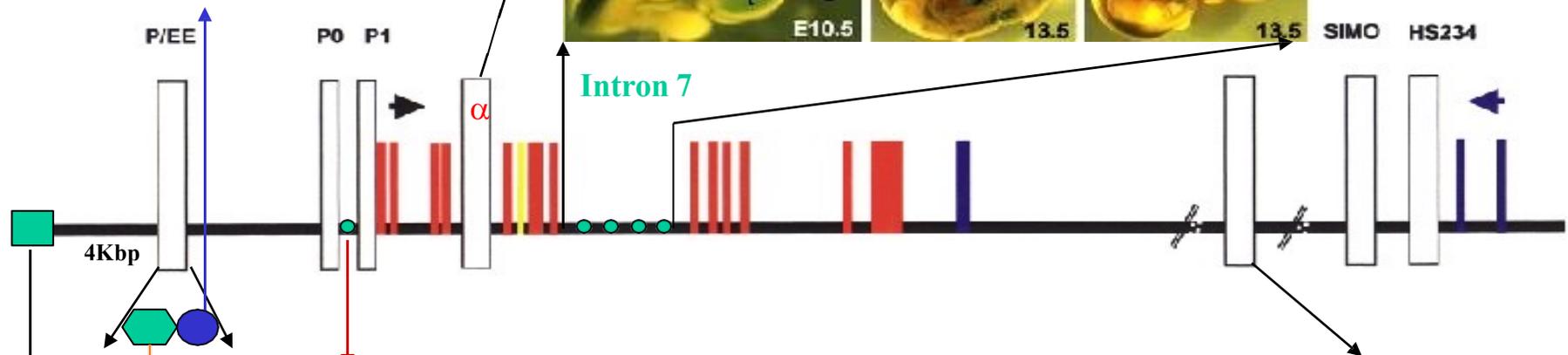
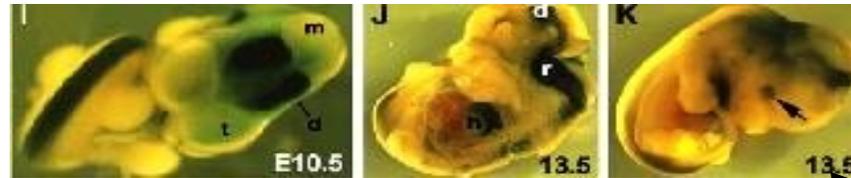
PAX6: « A Master transcription regulator »

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



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

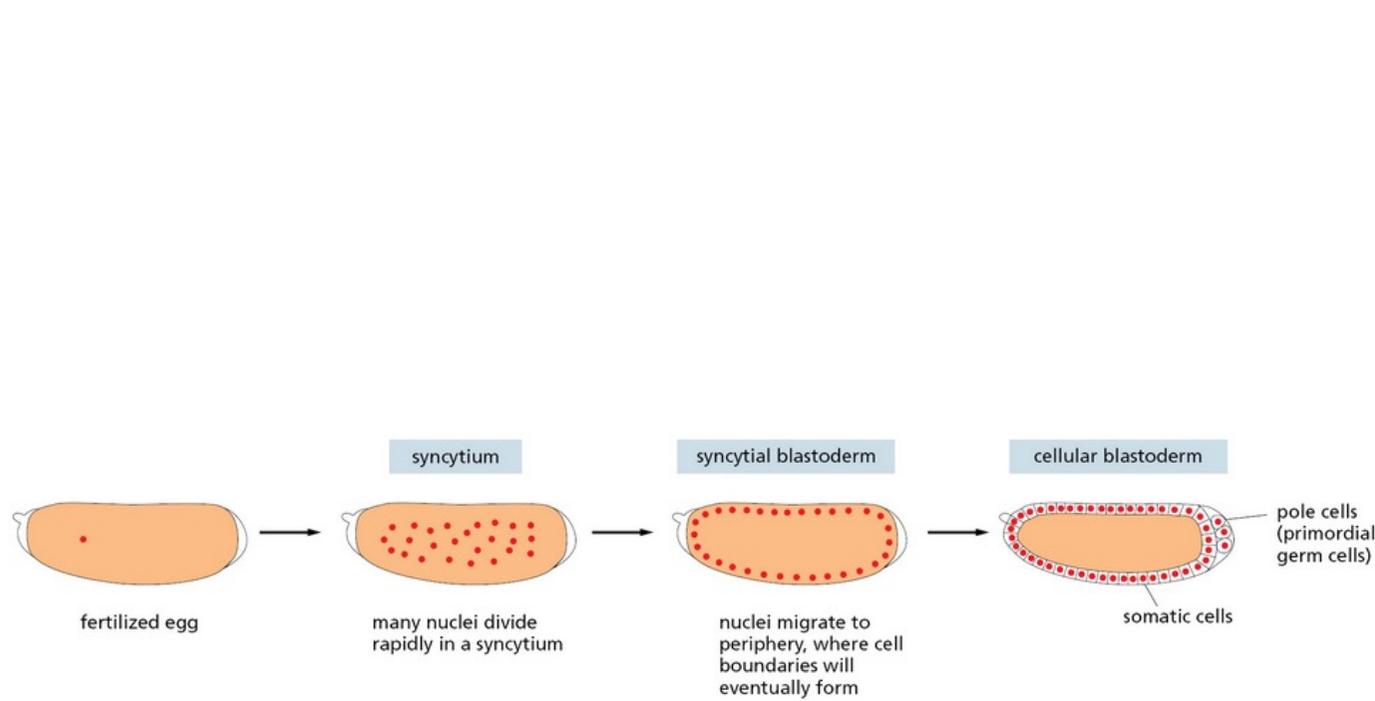
**Enhancer alpha**



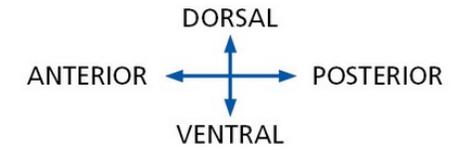
**Souris transgénique:**  
Le gène codant la beta galactosidase  
sous le contrôle des séquences de  
régulation de Pax6



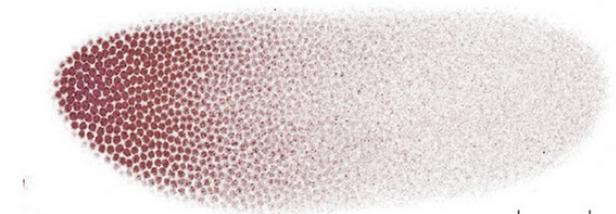
# Gradient de Bicoid et spécification de l'axe A/P de l'embryon chez la drosophile



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

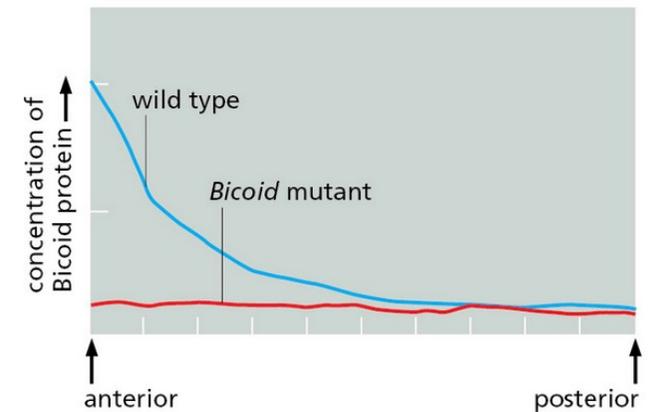


(A) *Bicoid* mRNA



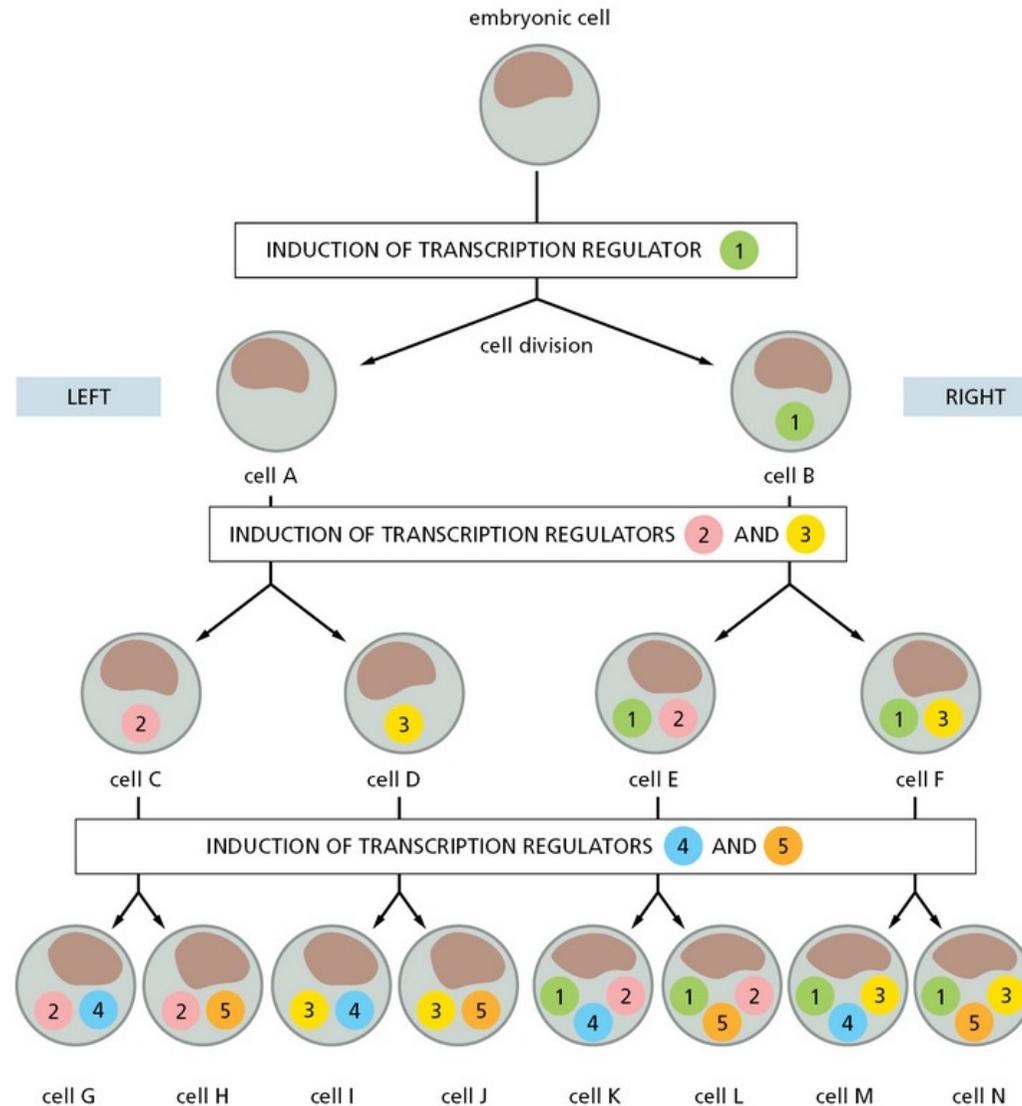
(B) Bicoid protein

0.1 mm

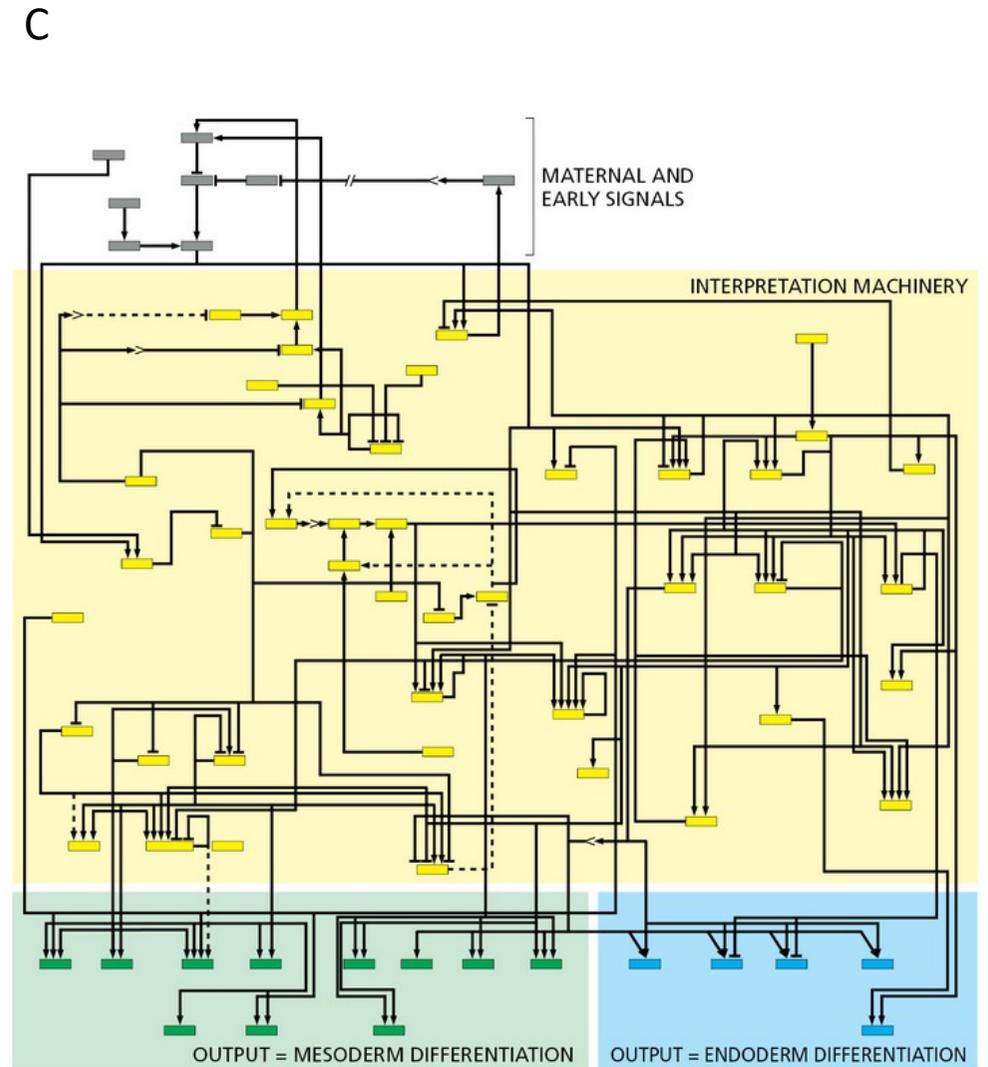
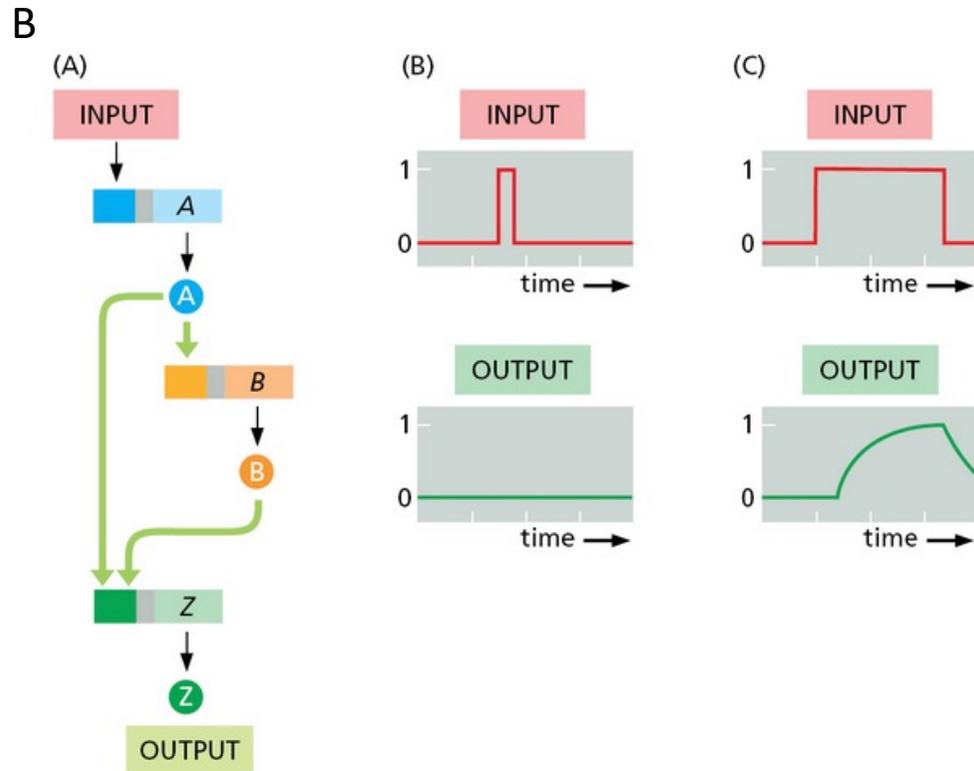
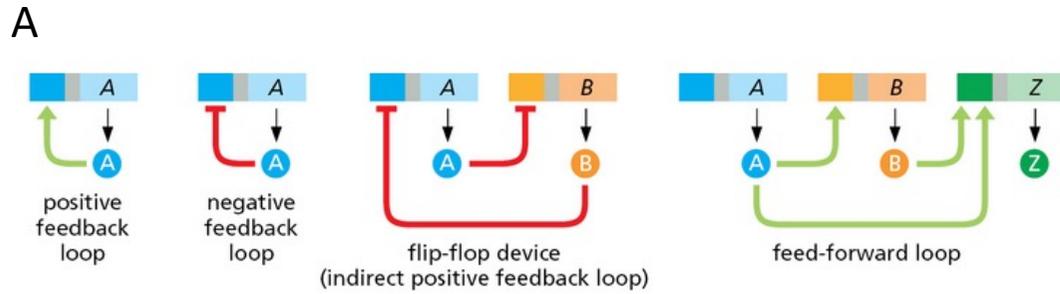


(C)

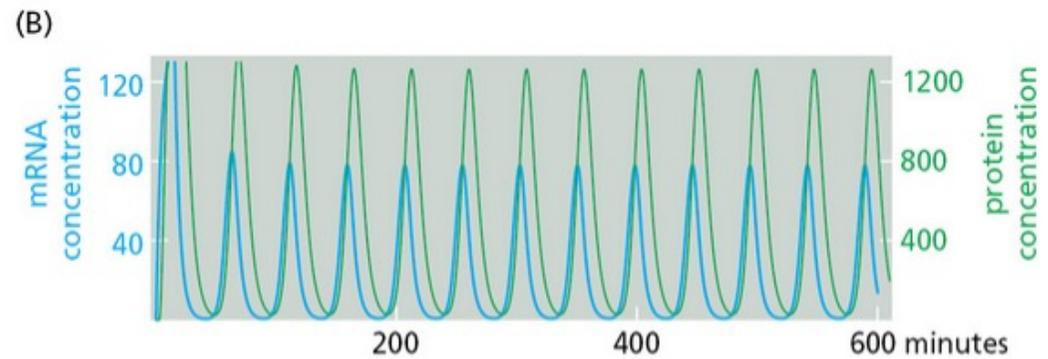
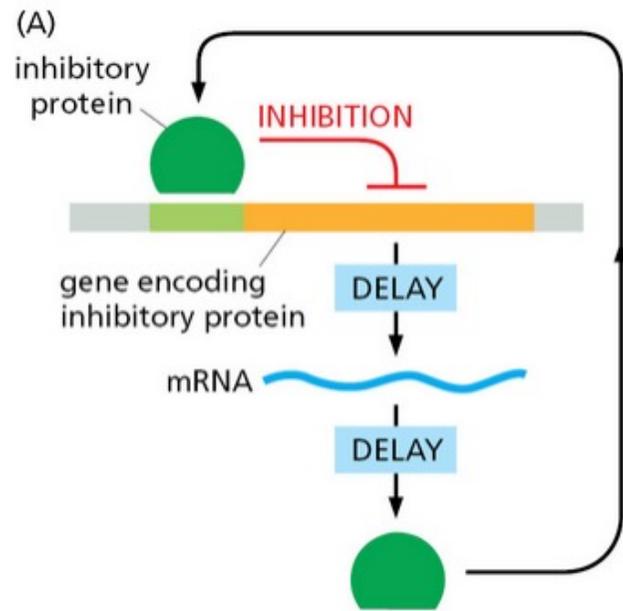
# Différentes combinaisons de régulateurs de la transcription peuvent être à l'origine de la spécification de différents types cellulaires au cours du développement



# Des réseaux de régulation génique complexes participent à la spécification cellulaire

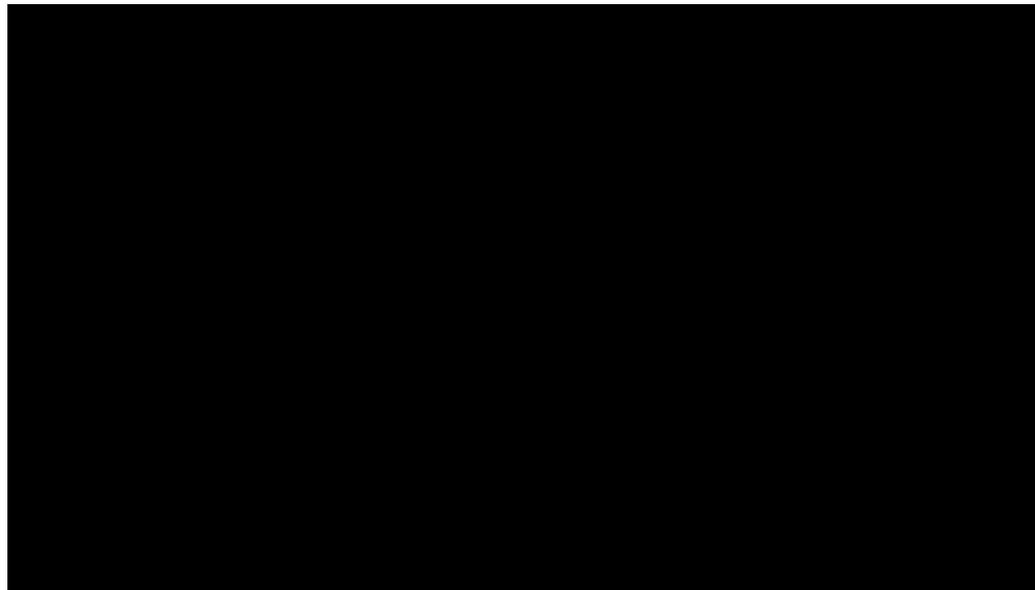
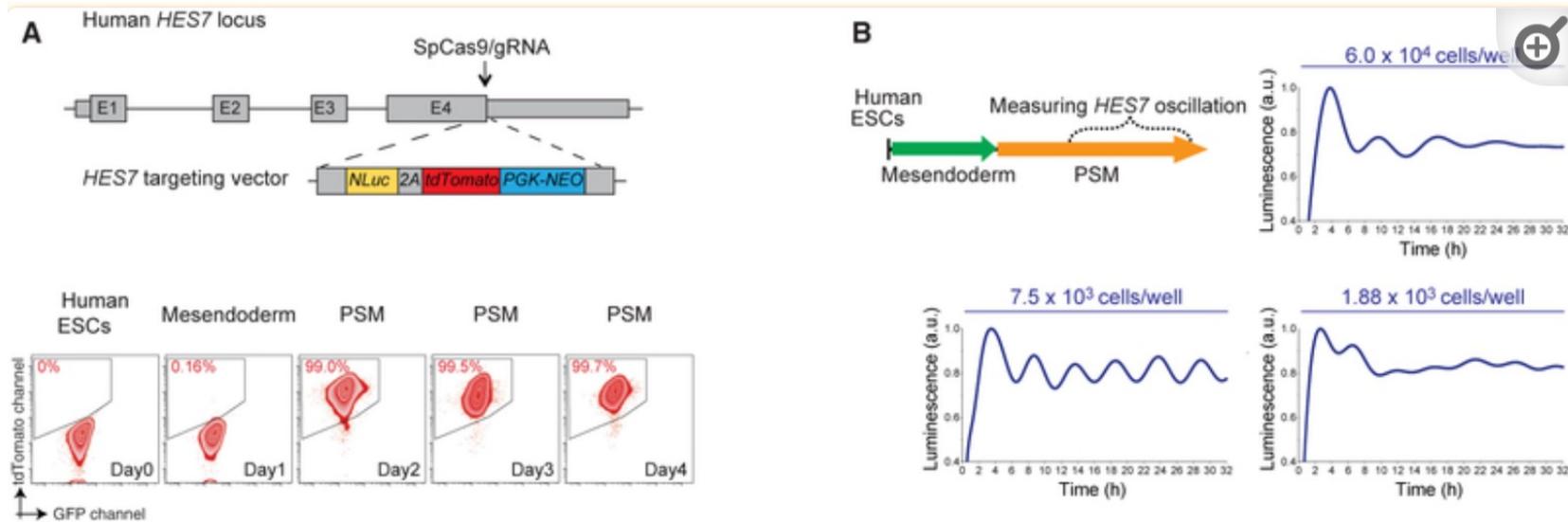


# Des boucles retardées de rétrocontrôle négatif génèrent des expressions oscillatoires



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

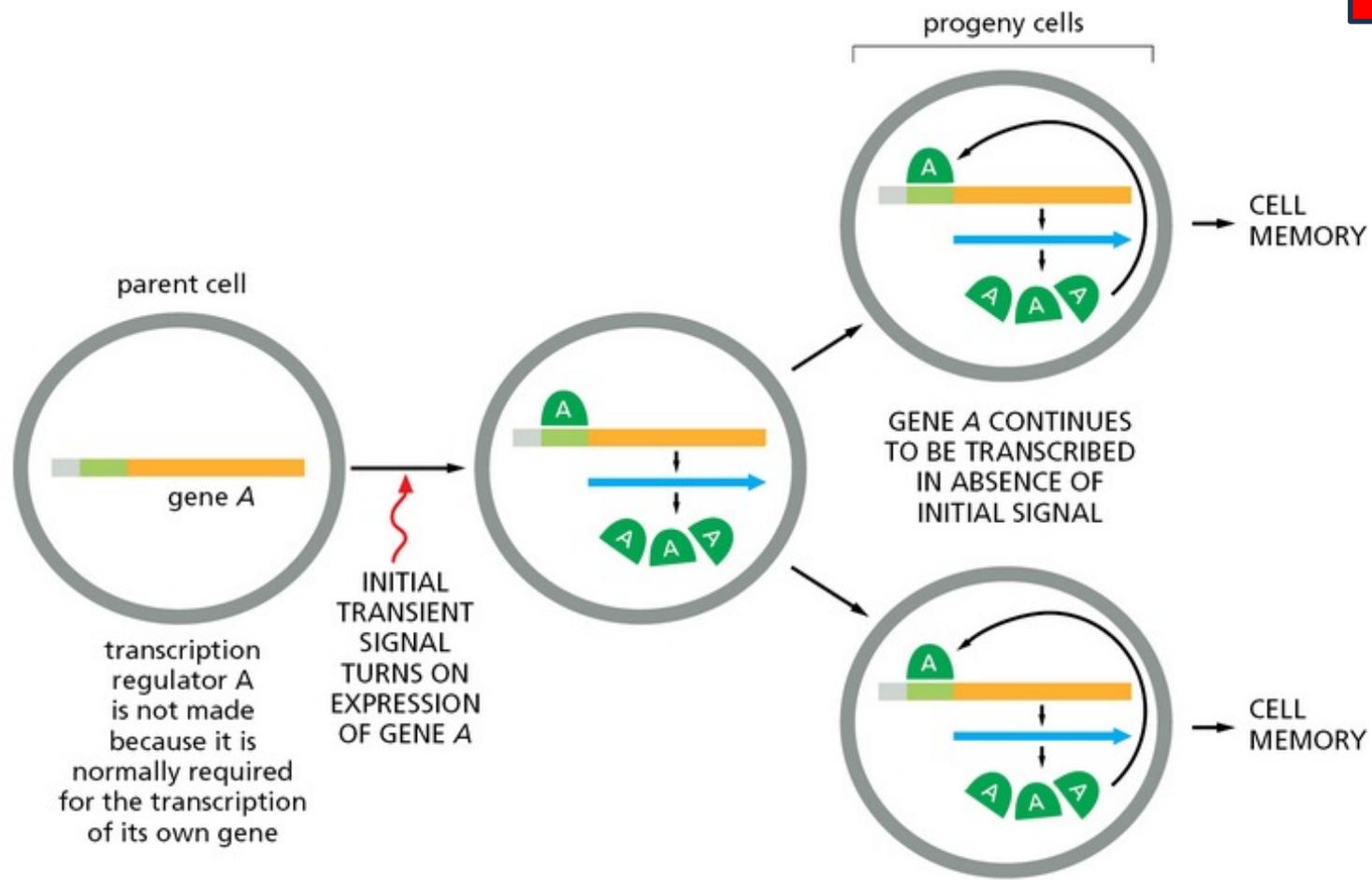
# Ex: Oscillation de l'expression du répresseur de la transcription Hes7 dans des cellules de mésoderme présomitique dérivées d'iPS humaines



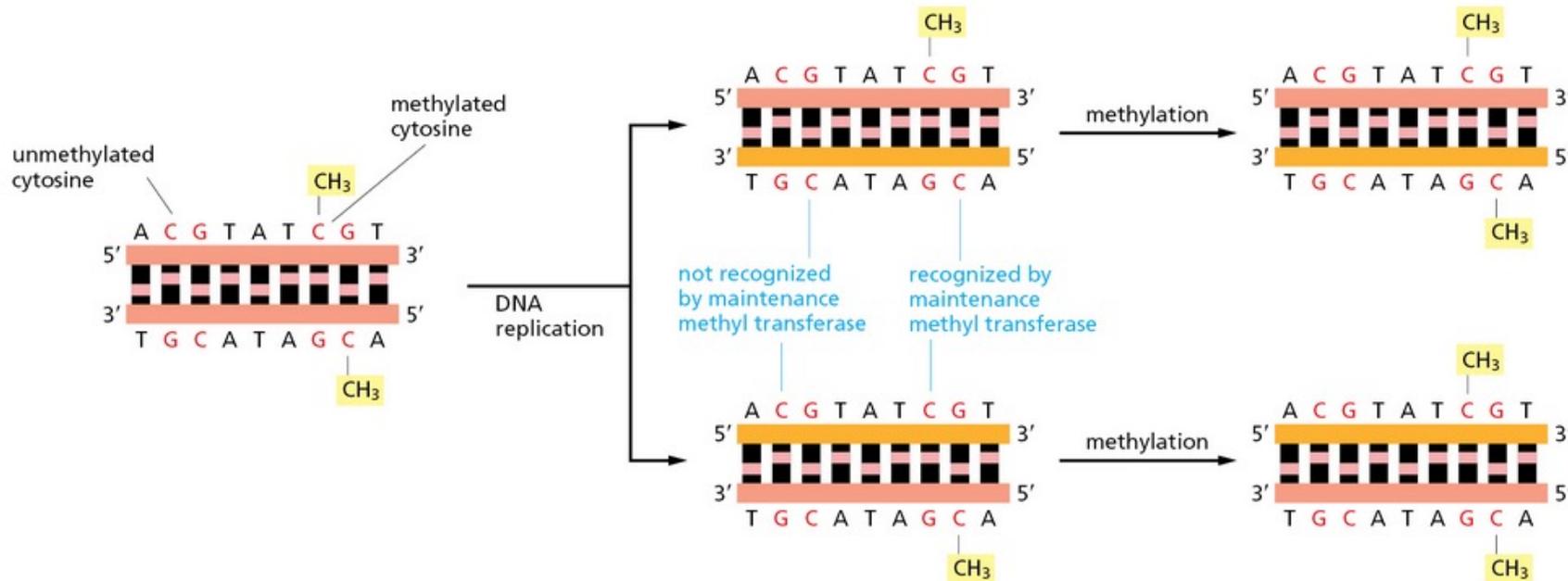
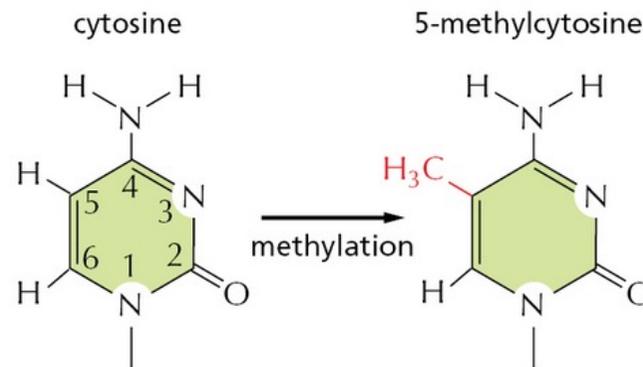
# Mécanismes de maintien de l'identité cellulaire:

## A/ La boucle d'auto-amplification

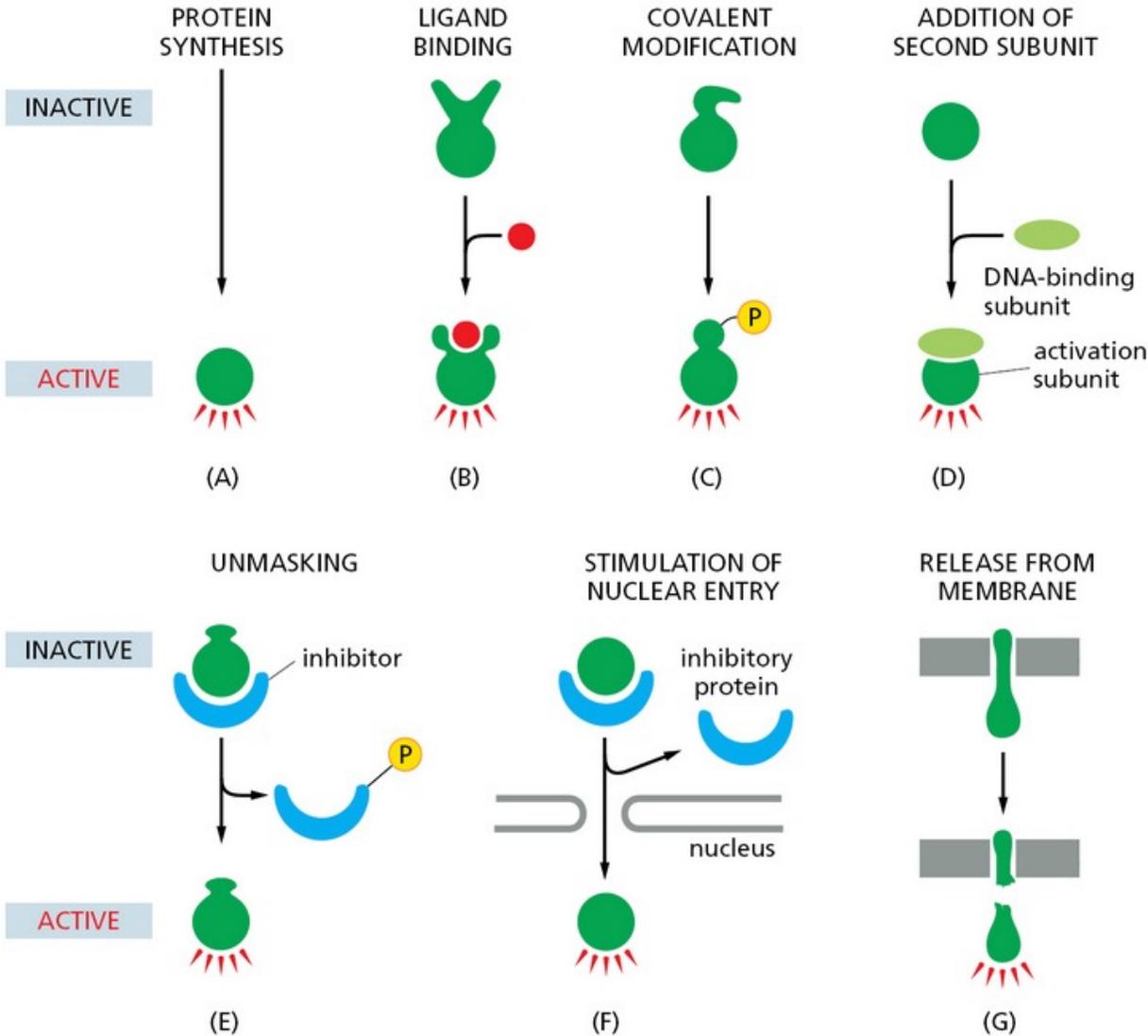
**A RETENIR !**



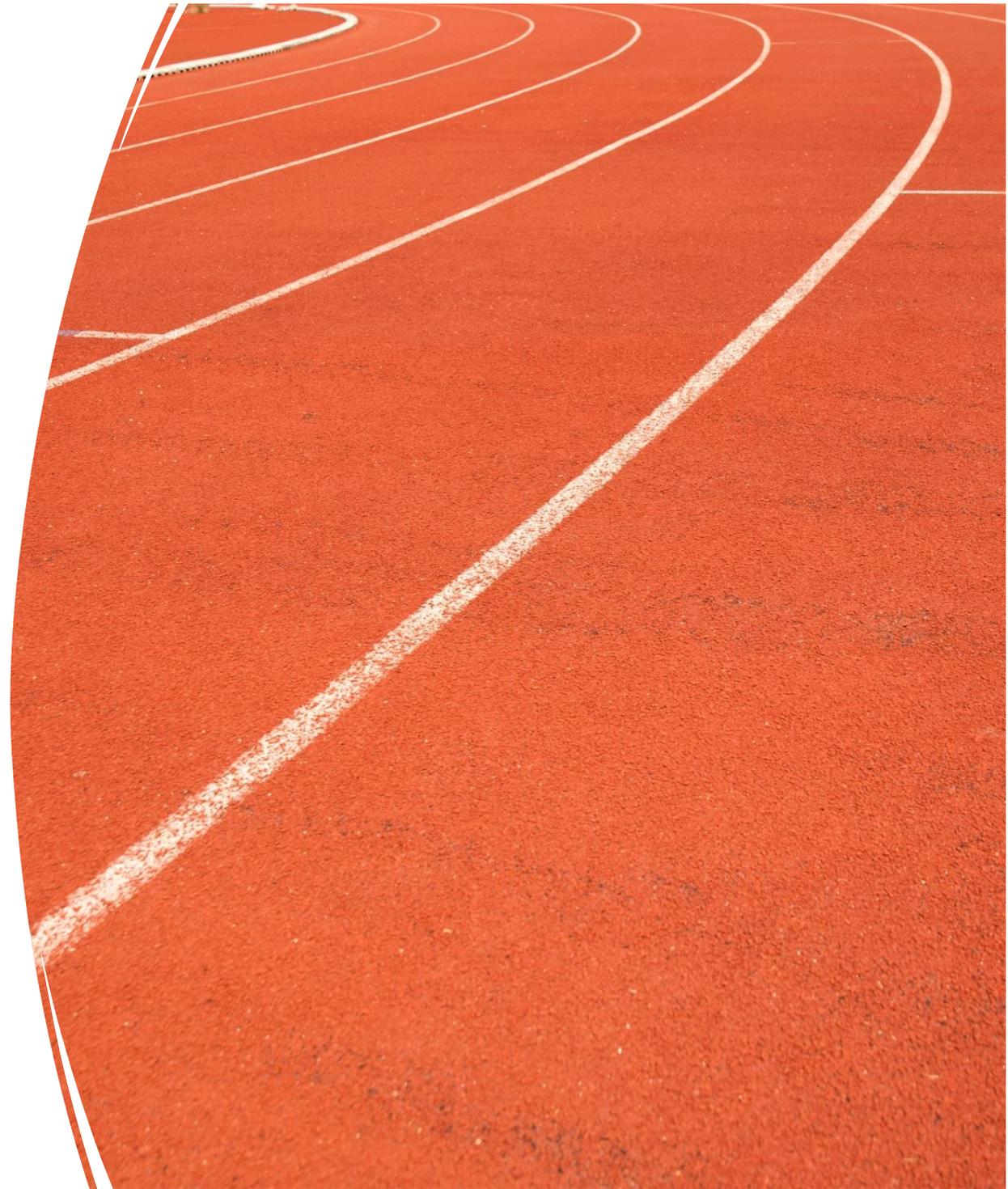
# Mécanismes de maintien de l'identité cellulaire: B/ La méthylation de l'ADN



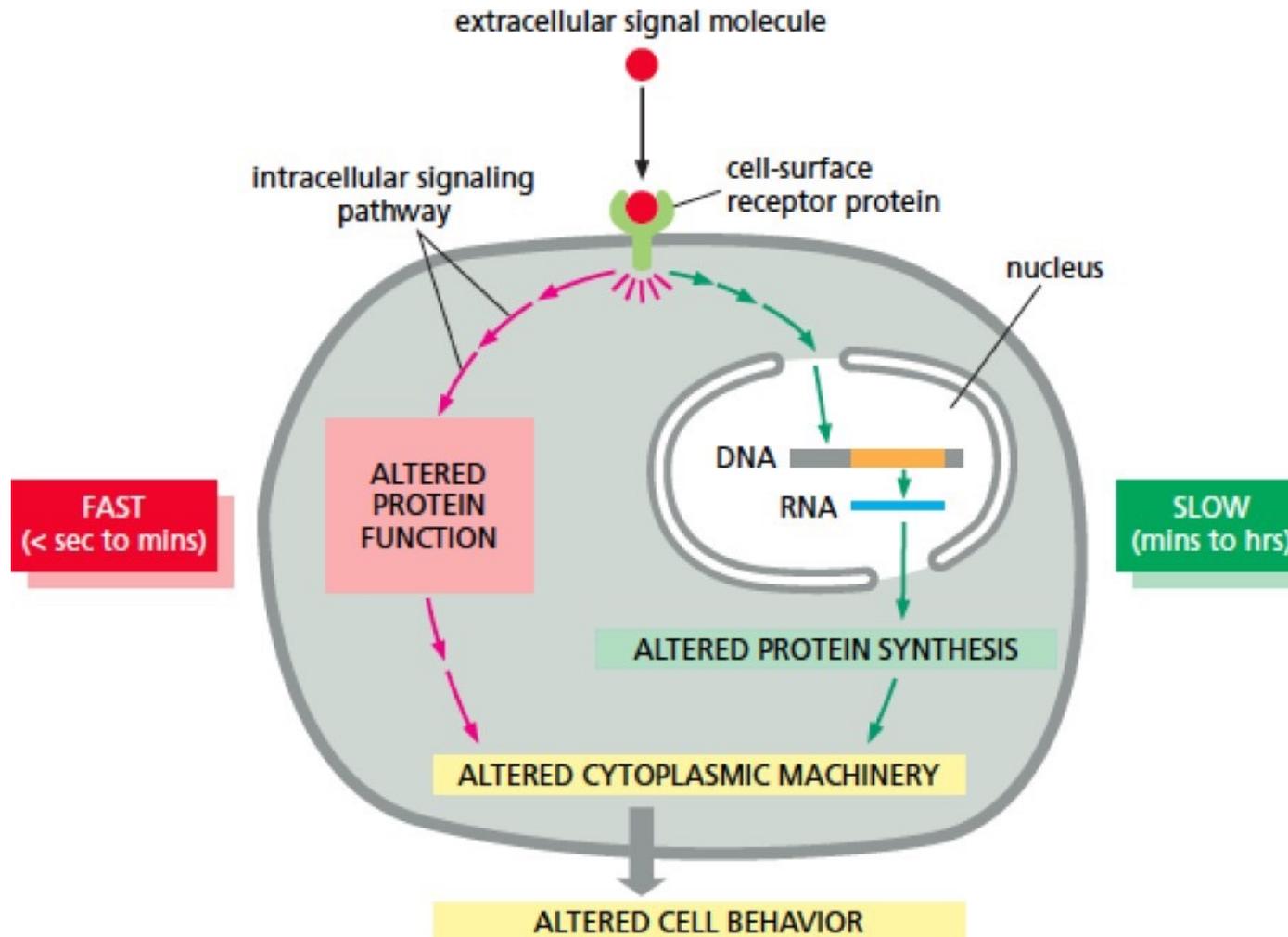
# Différents niveaux de contrôles de l'activité des régulateurs de la transcription



# Les voies de signalisation



# Signalisation... le principe



→ importance lors du développement

# 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 $\beta$ superfamily	TGF $\beta$ BMP (Dpp) Nodal	TGF $\beta$ receptors BMP receptors
Wnt	Wnt (Wingless)	Frizzled
Hedgehog	Hedgehog	Patched, Smoothened
Notch	Delta	Notch

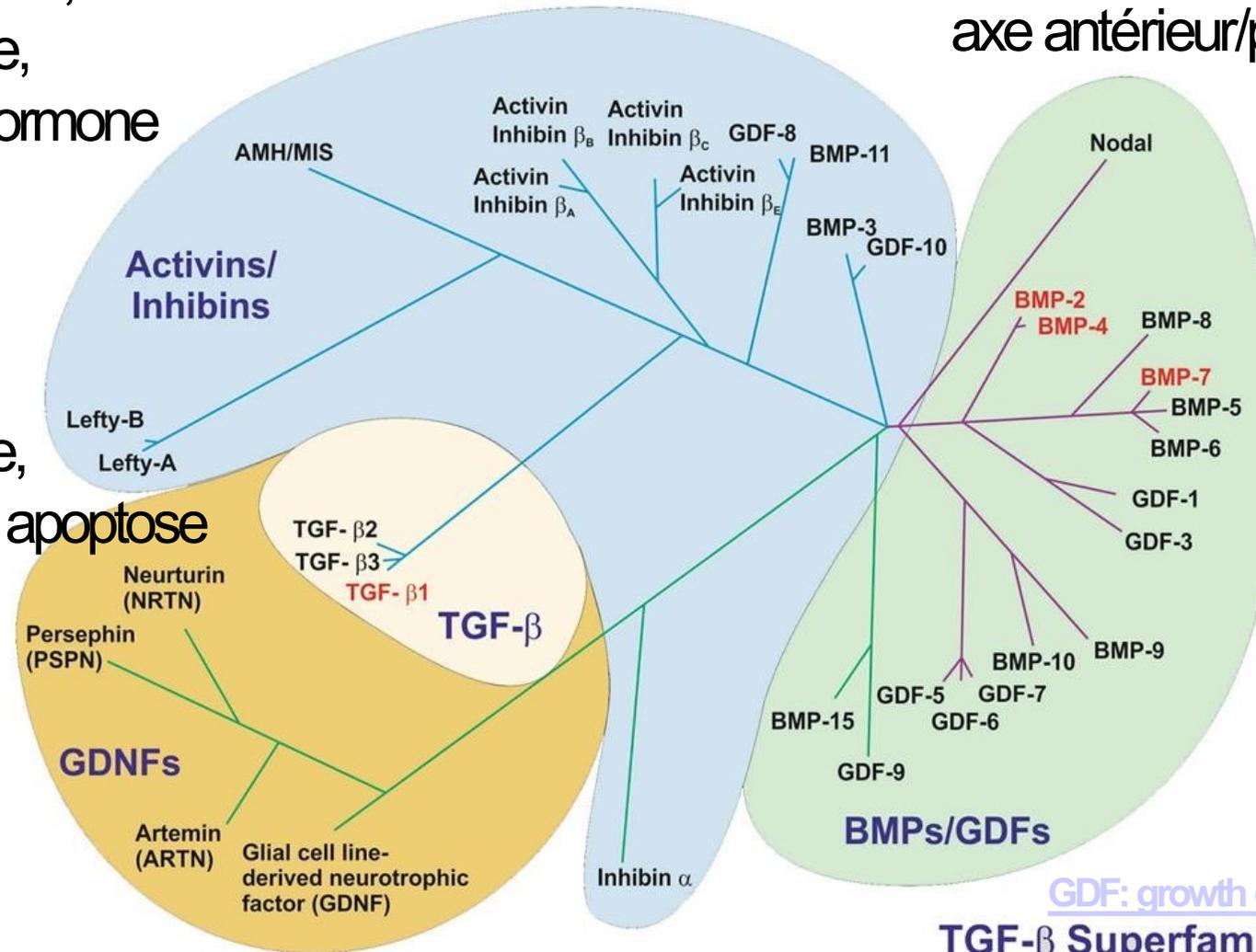
**Un petit nombre de protéines constamment réutilisées en tant qu'inducteurs dans le développement animal !**

# Ex: superfamille TGF $\beta$ (35 membres)

embryogénèse,  
ostéogénèse,  
régulation hormone

Ostéogénèse, différenciation,  
axe antérieur/postérieur

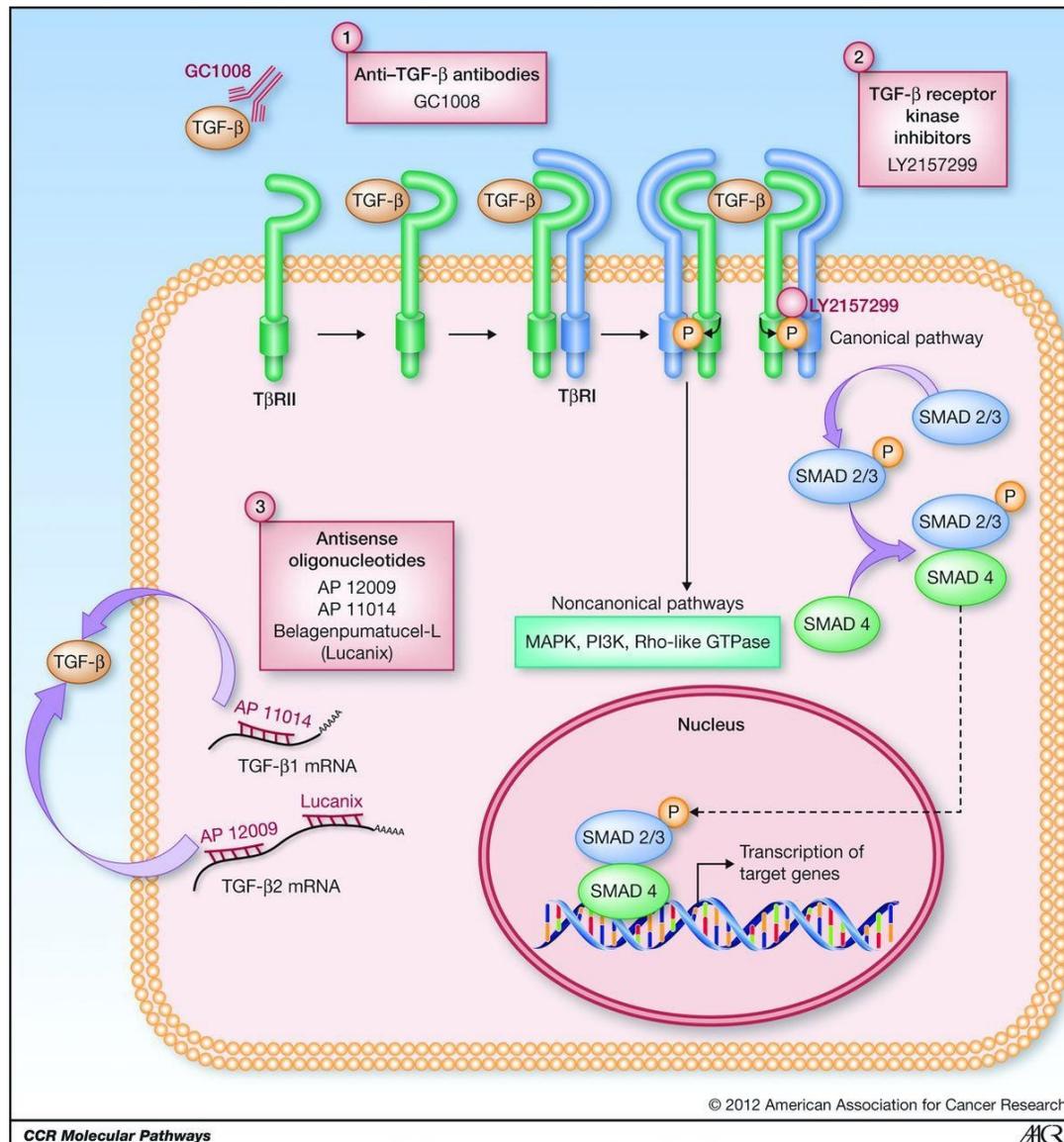
embryogénèse,  
différenciation, apoptose



GDF: growth differentiation factors  
**TGF- $\beta$  Superfamily**

embryogénèse

# Et pourtant ... que 2 récepteurs !

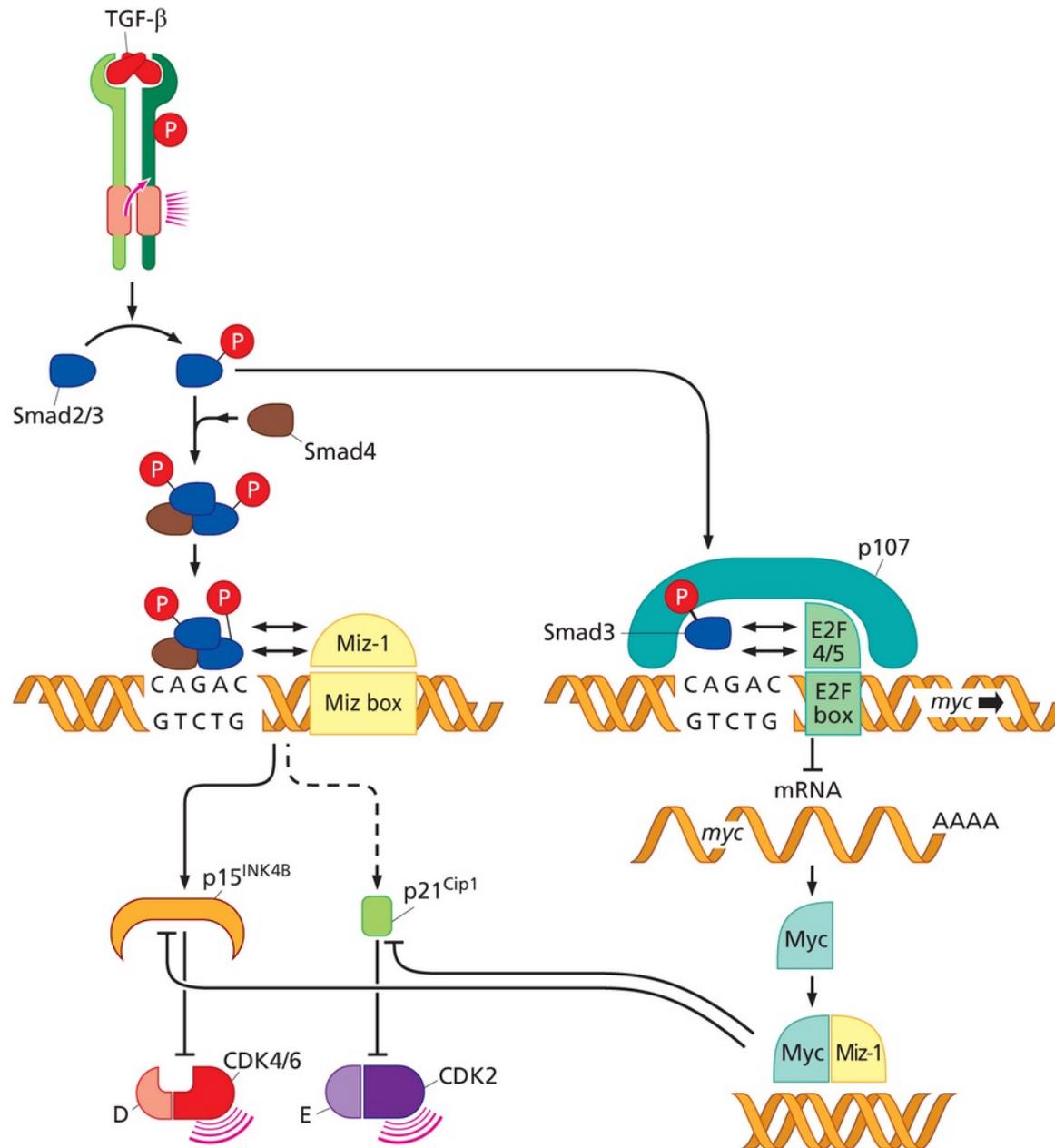


**A RETENIR !**

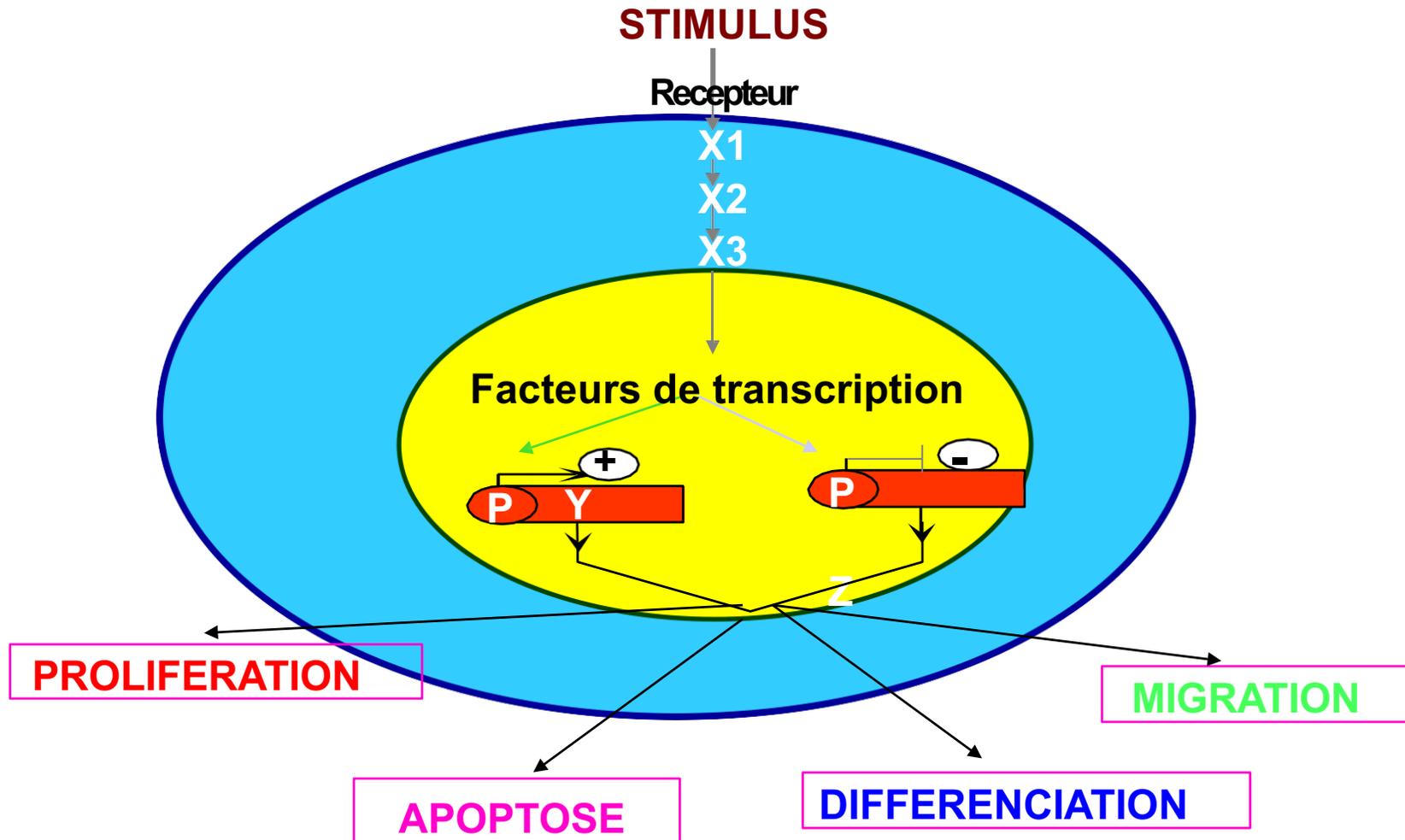
→ la réponse à la stimulation va dépendre des protéines en aval du récepteur

Smith et al., 2012

# L'activation de la voie du TGF- $\beta$ empêche la phosphorylation de pRb et inhibe la progression dans le cycle cellulaire

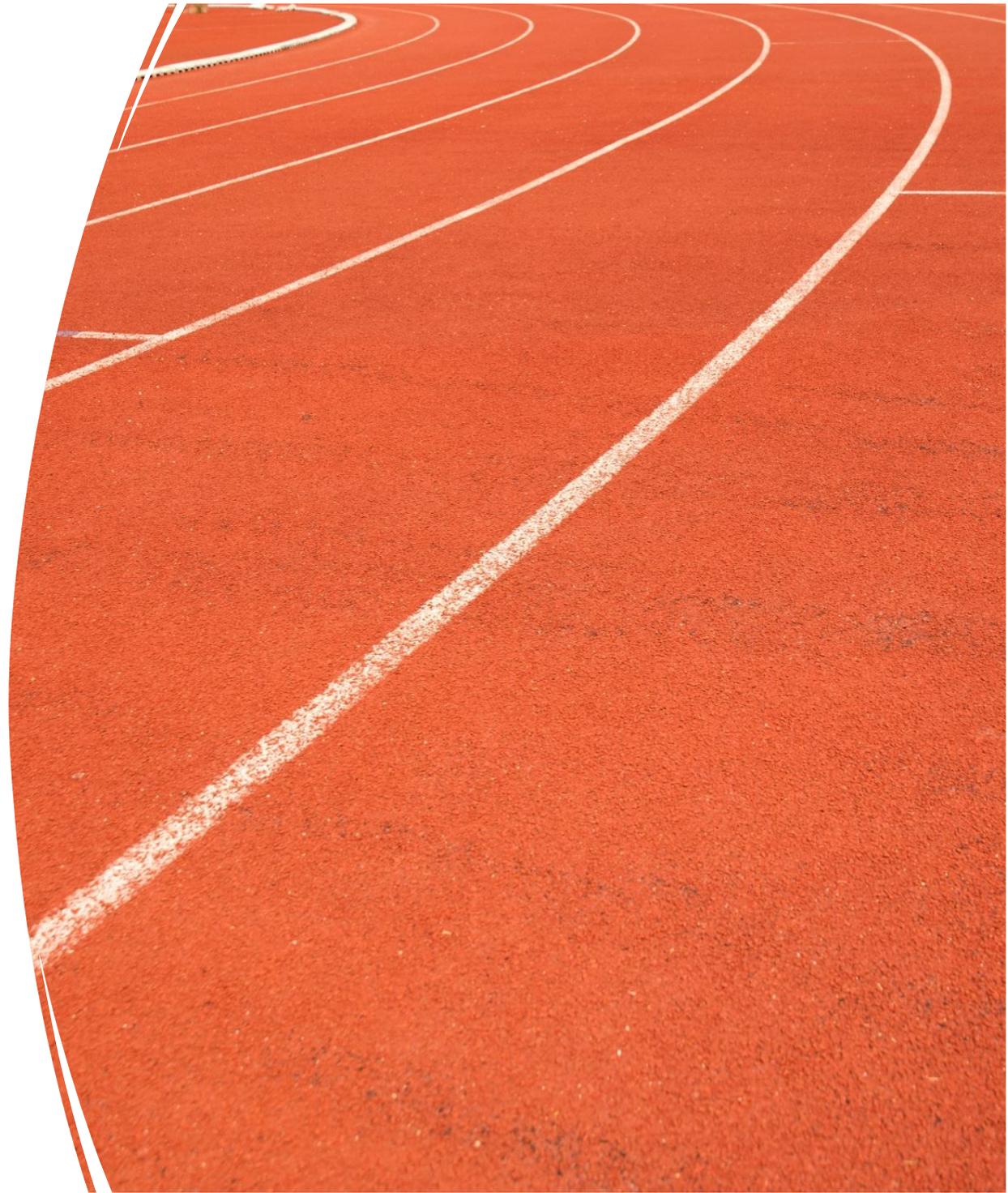


# Des réponses différentes selon le contexte



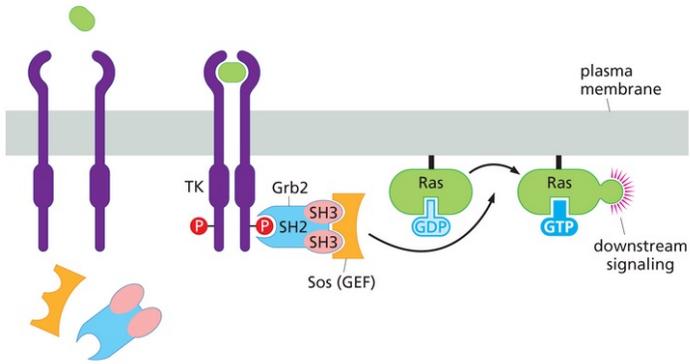
# Autres voies de signalisation

---

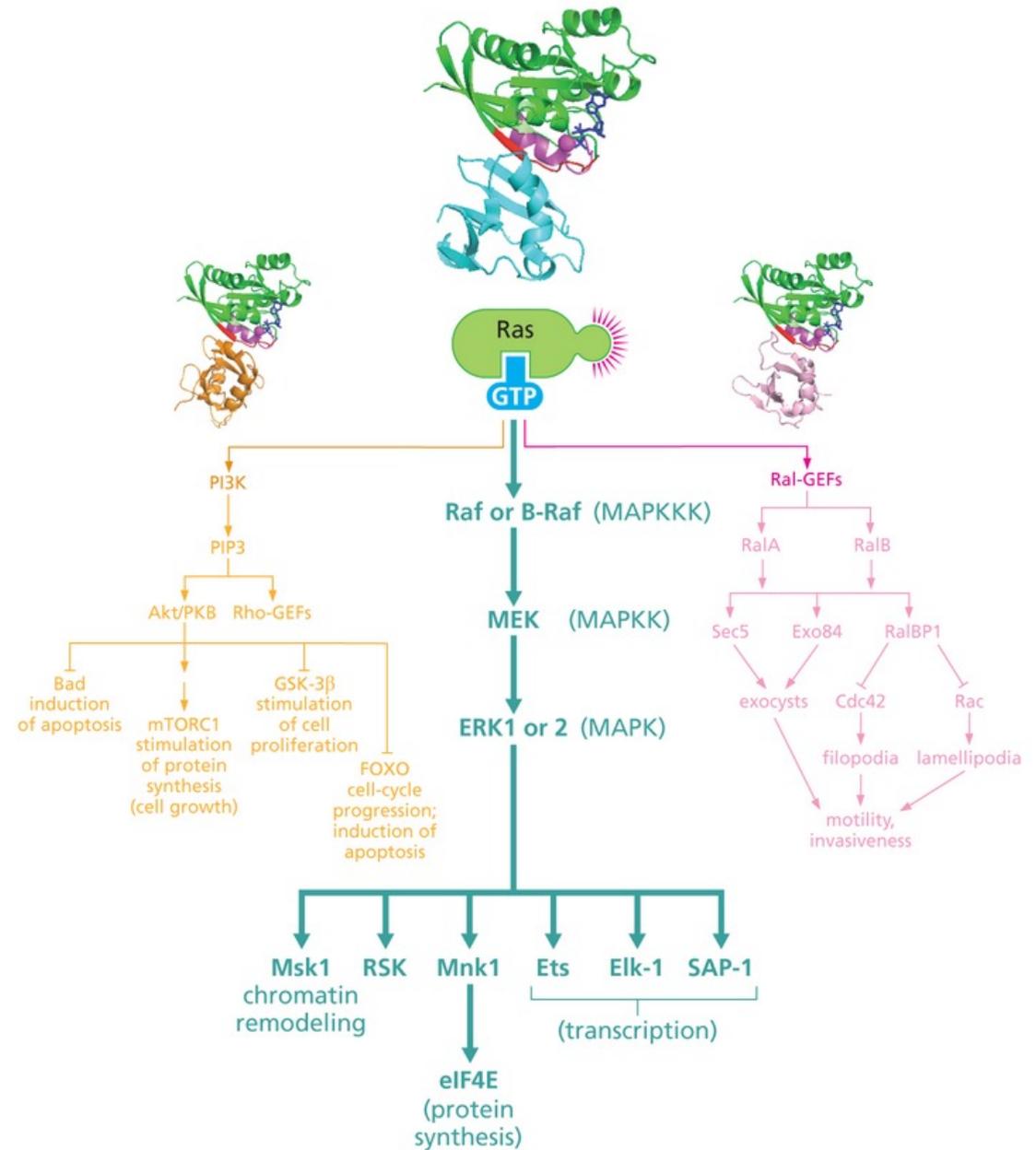
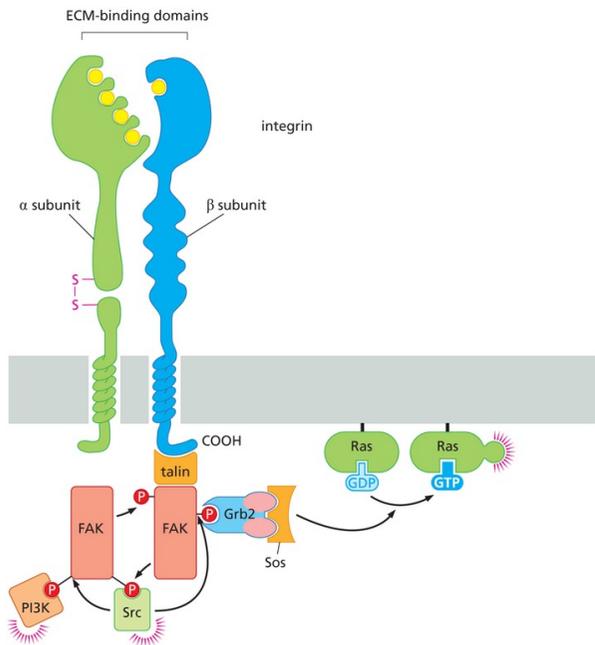


# Les voies de signalisation régulées par Ras

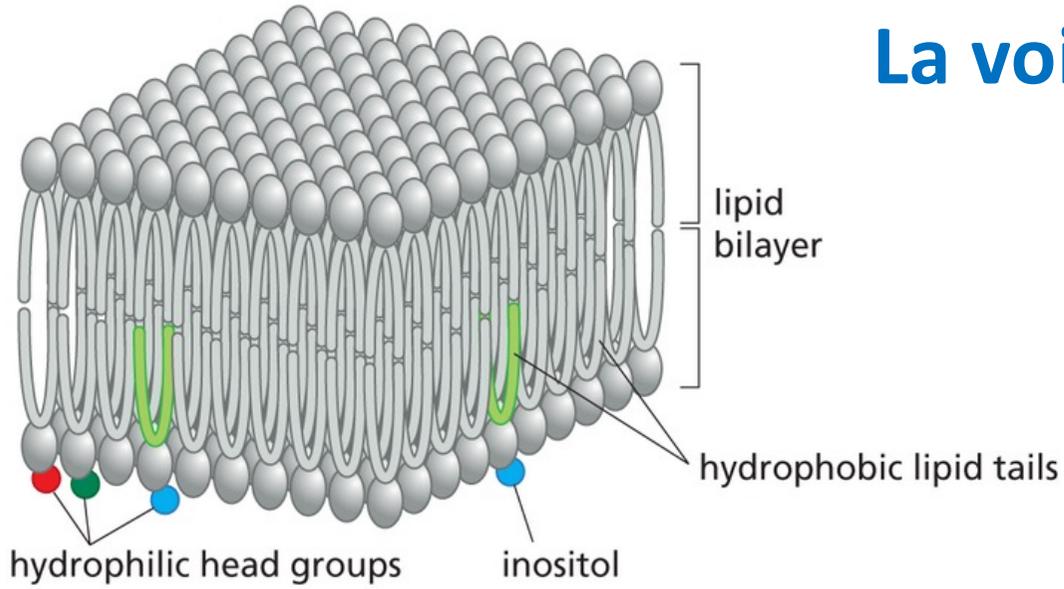
A/ Activation des Ras via les récepteurs à activité Tyrosine Kinase (ex EGFR)



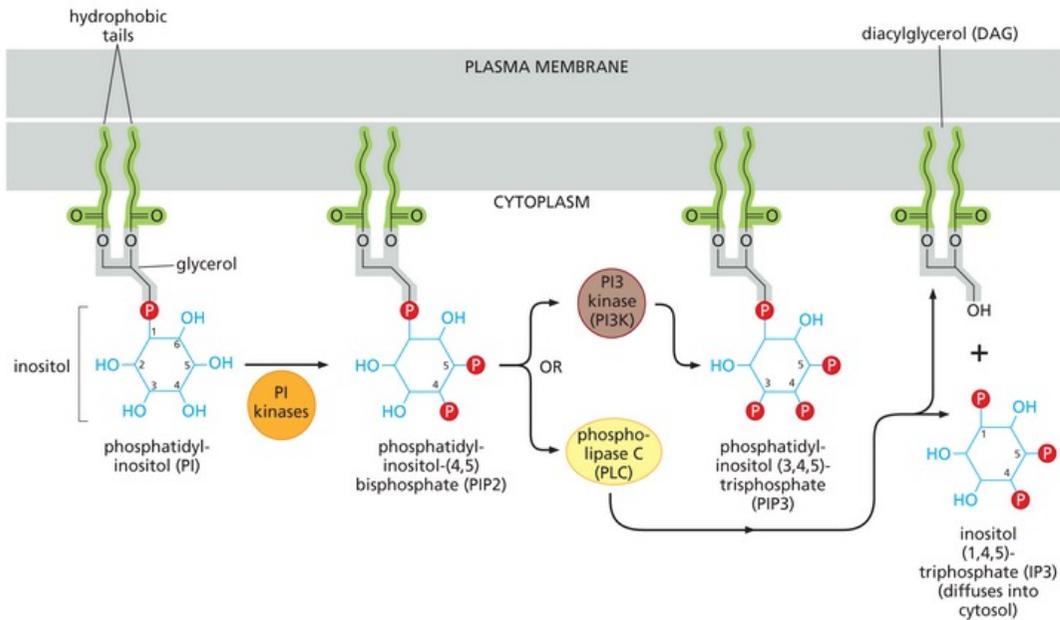
B/ Activation de Ras via les intégrines



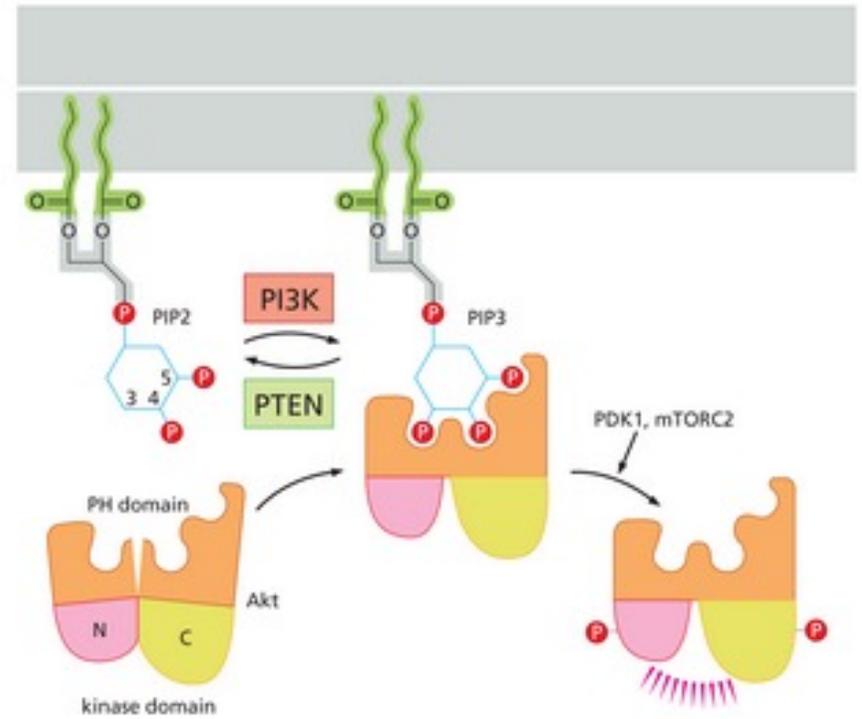
# La voie PI3K/AKT



(A)

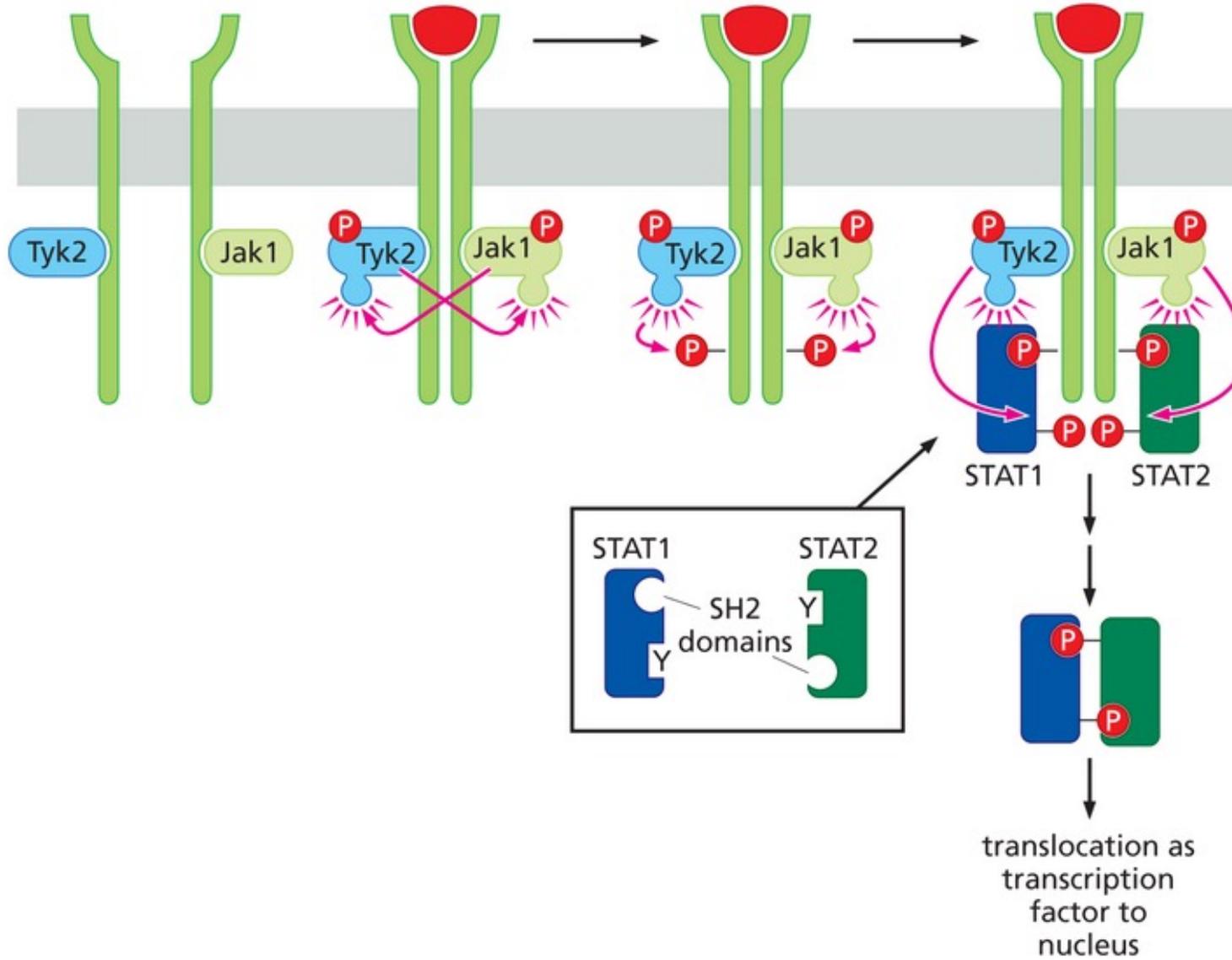


(B)



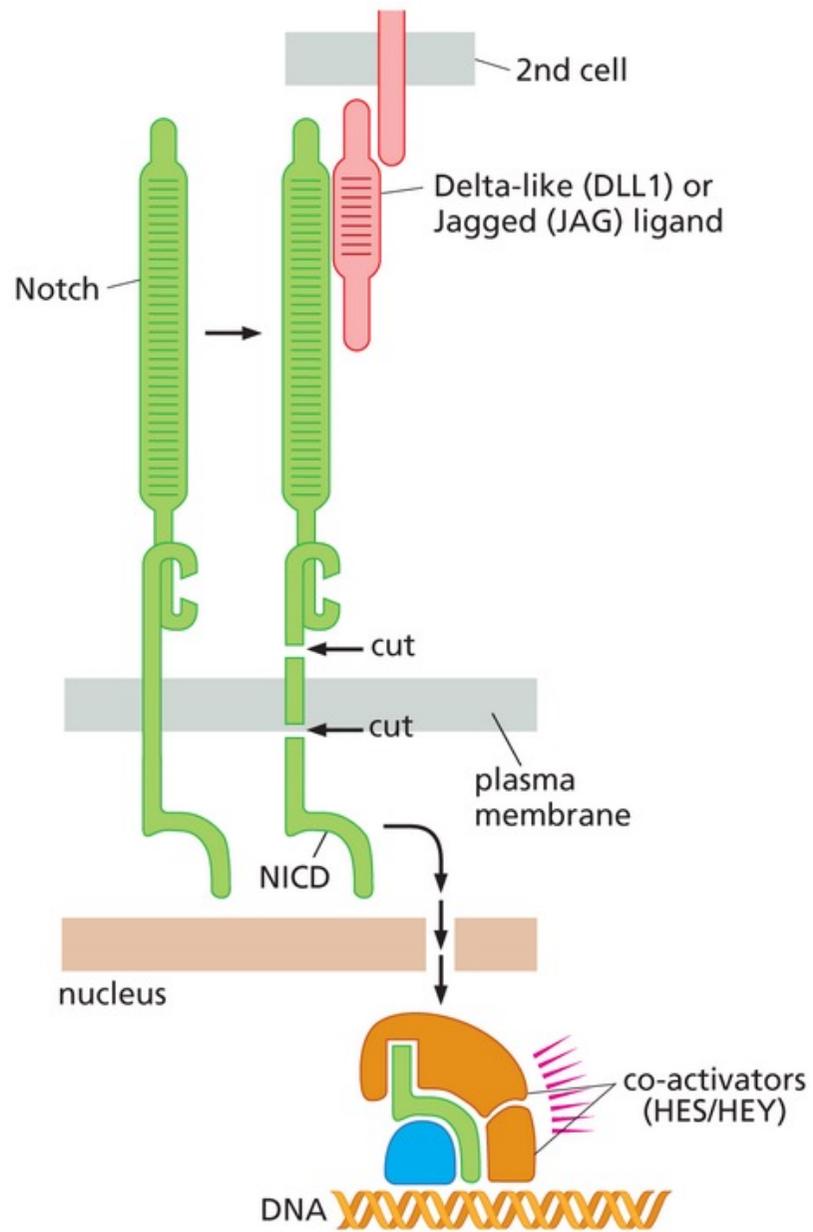
(A)

# La voie Jak/STAT



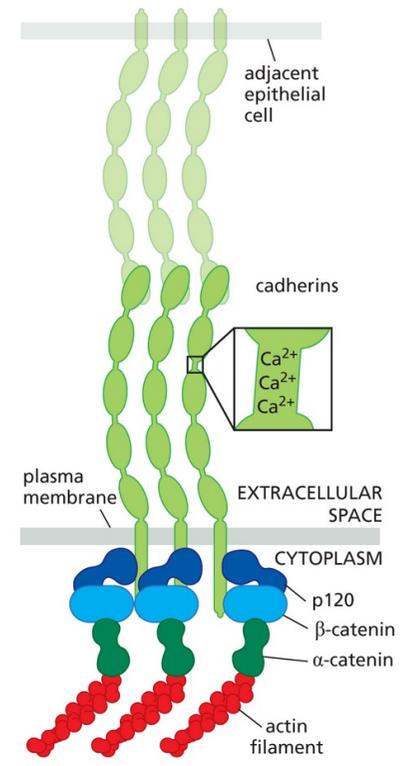
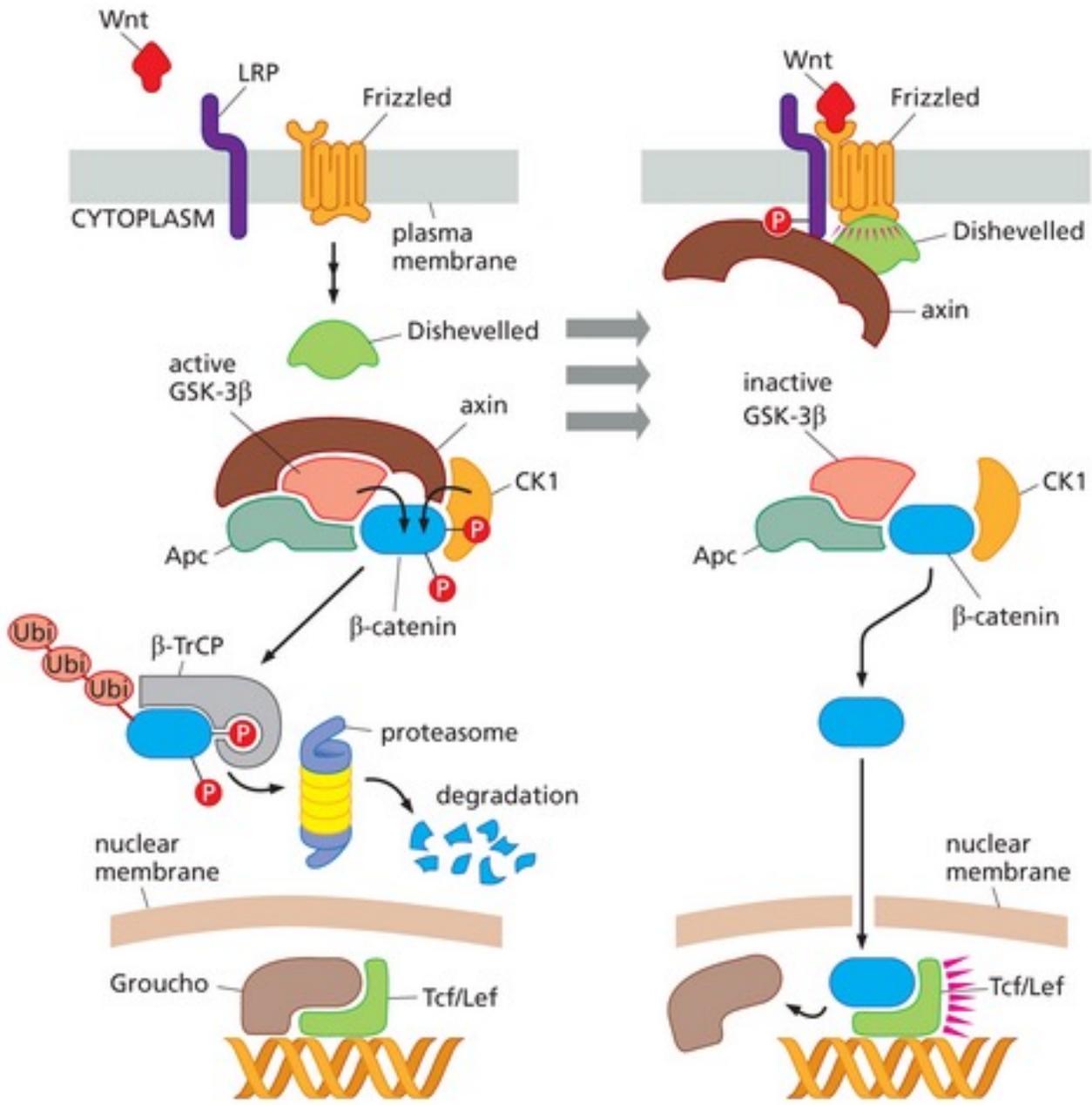
# La voie Notch

**A RETENIR !**

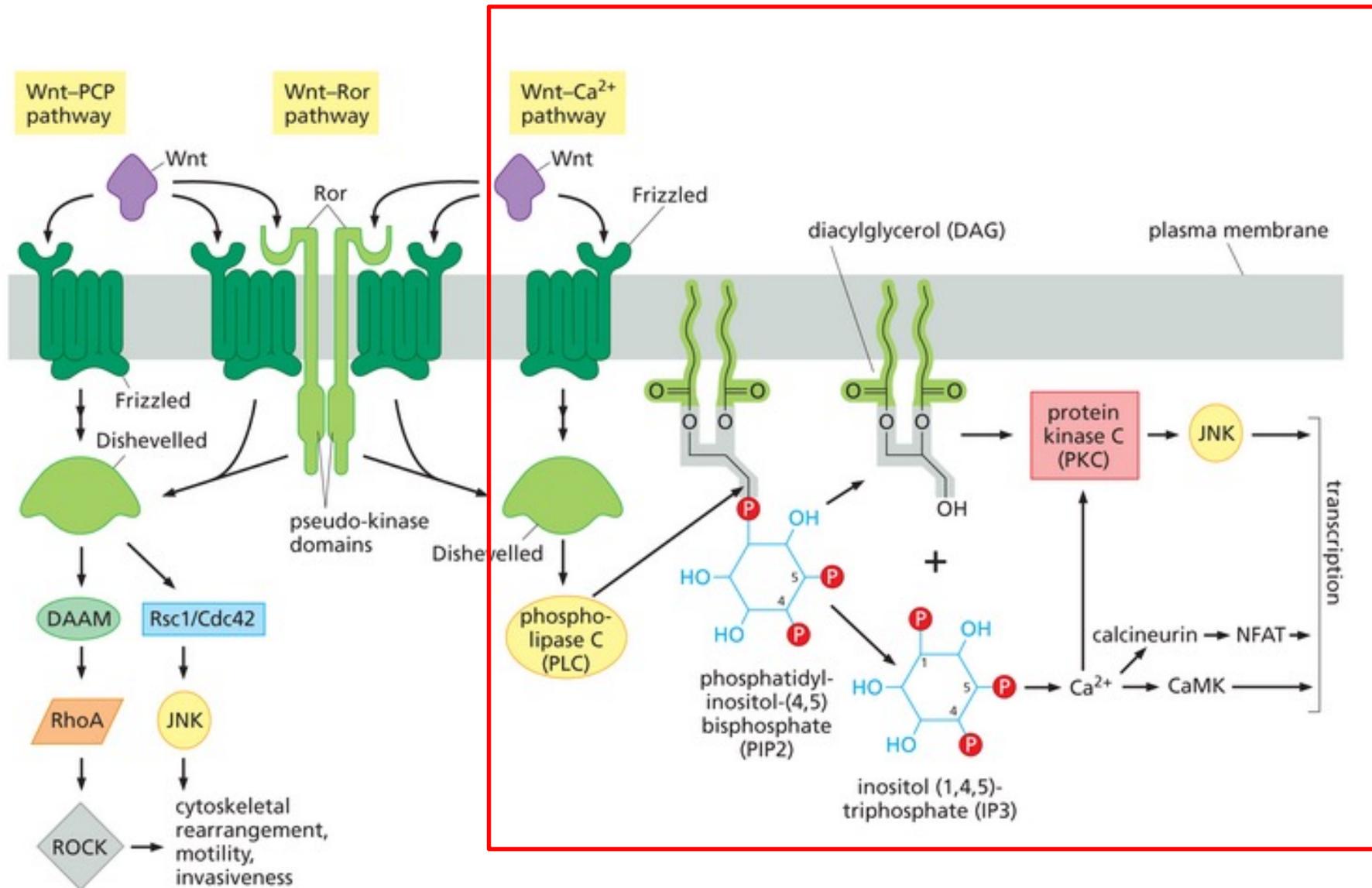


# La voie Wnt/ $\beta$ -Catenin (voie canonique)

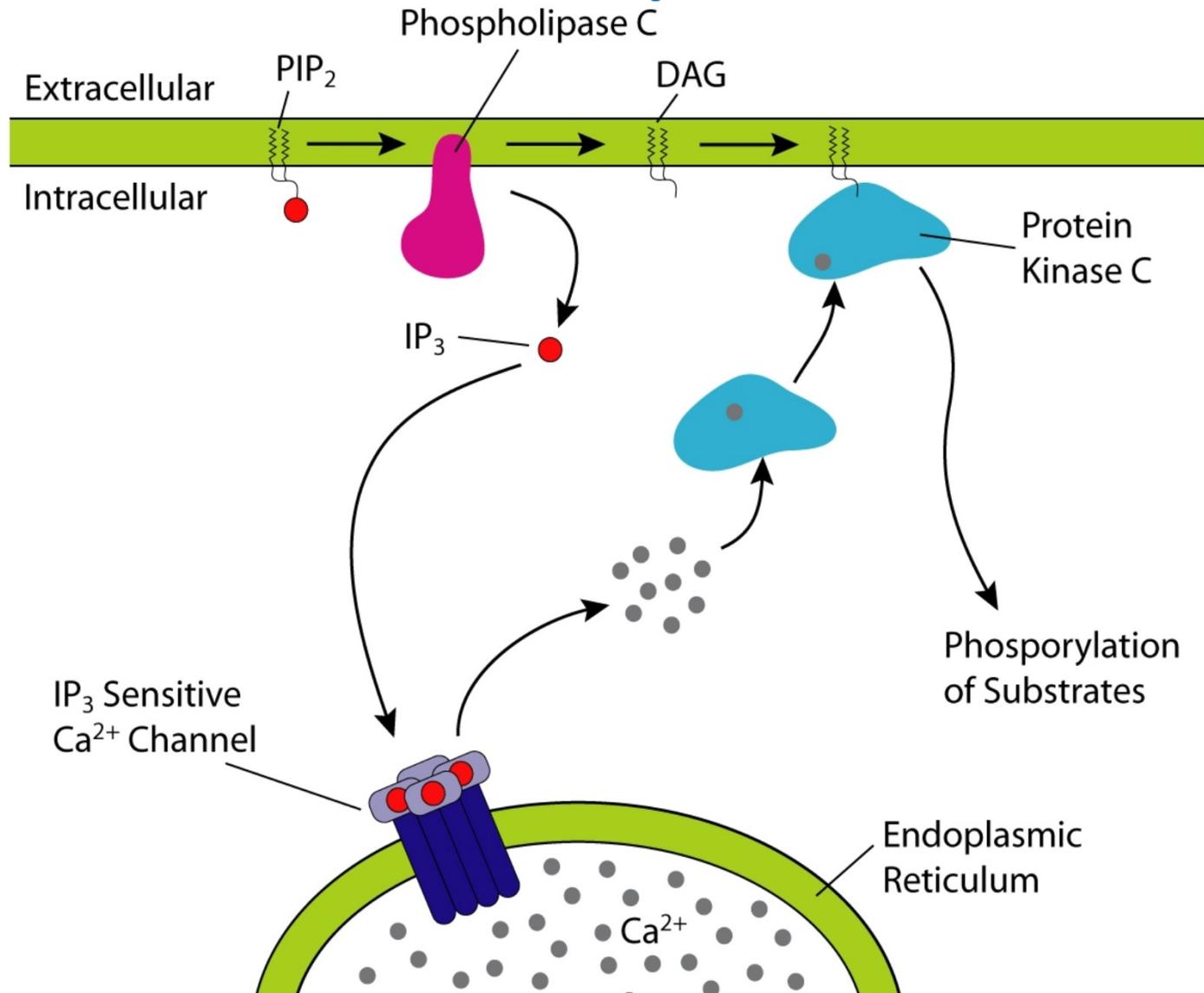
**A RETENIR !**



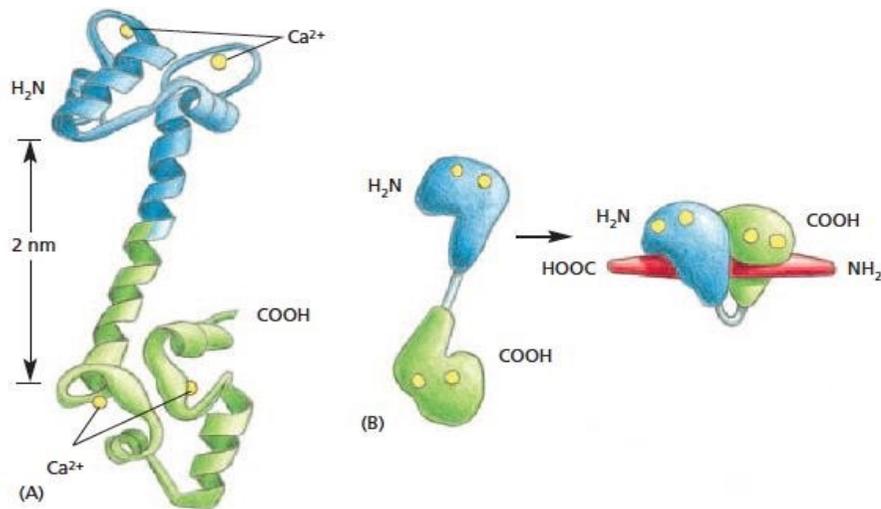
# Les voies Wnt non canoniques



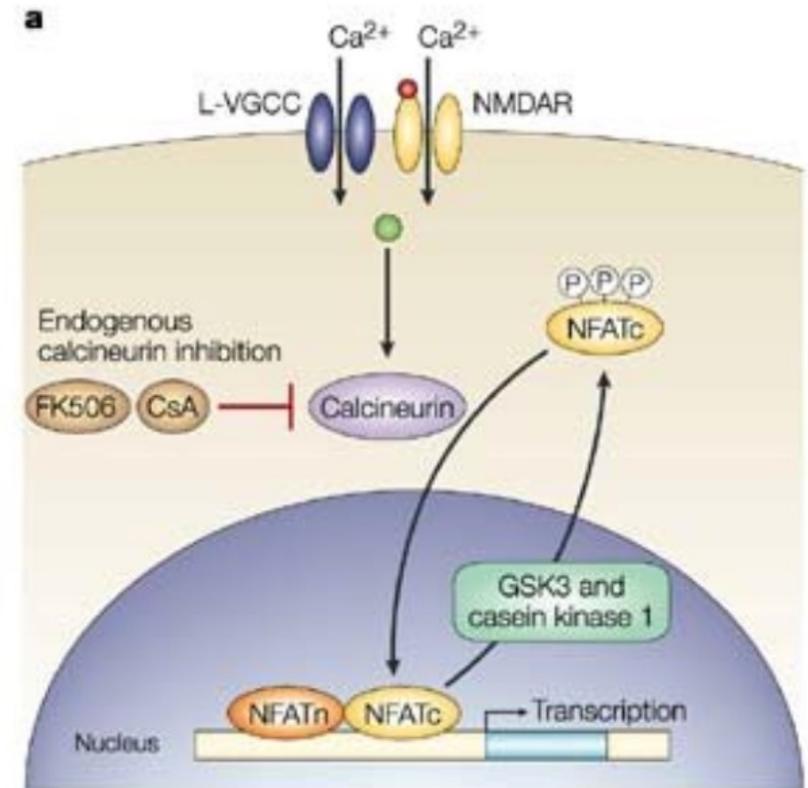
# Focus: L'inositol triphosphate favorise le relargage d'ions $\text{Ca}^{2+}$ par le RE



# Focus: La Calcineurin est une phosphatase activée par $\text{Ca}^{2+}$ qui régule l'import de NFAT dans le noyau

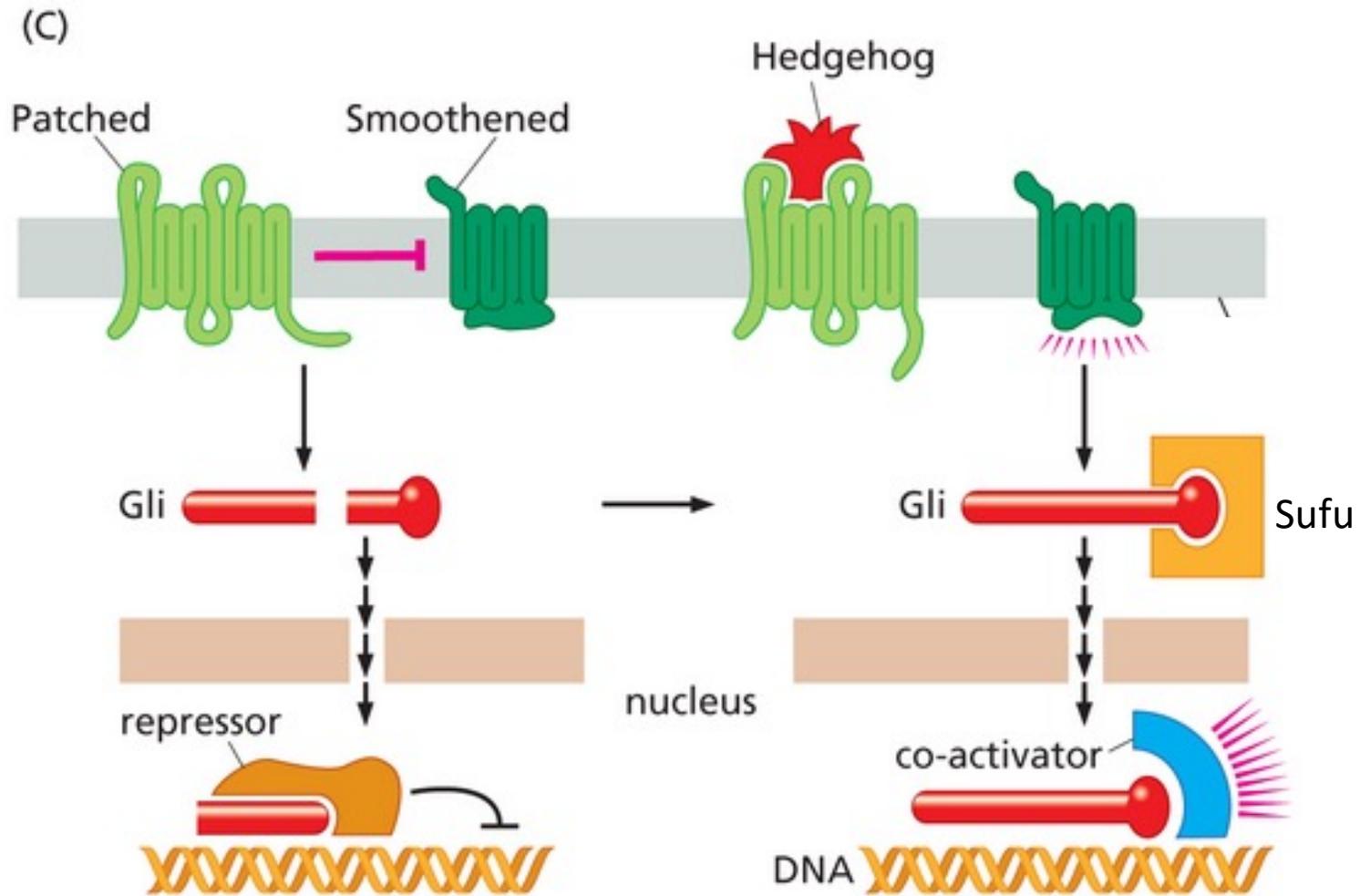


La Calcineurin

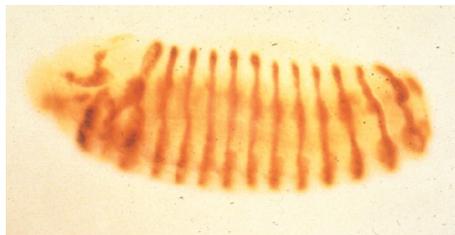


# La voie Hedgehog

A RETENIR !



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



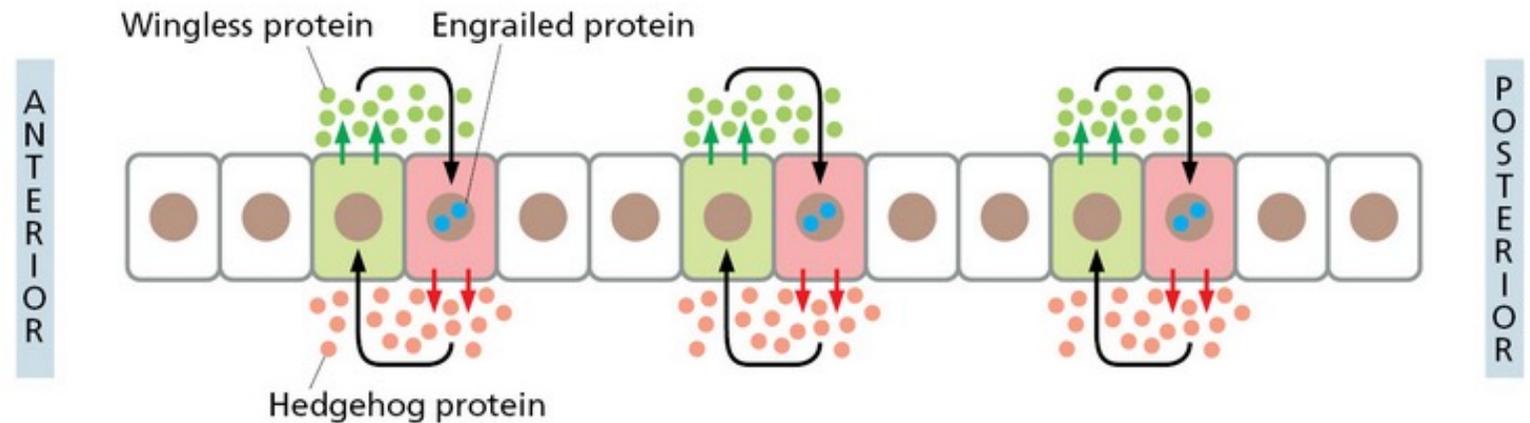
10-hour embryo

100  $\mu$ m



adult

500  $\mu$ m



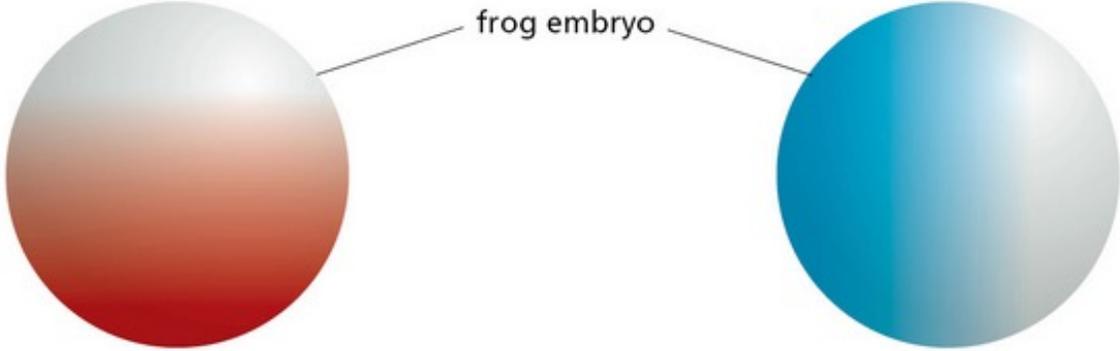
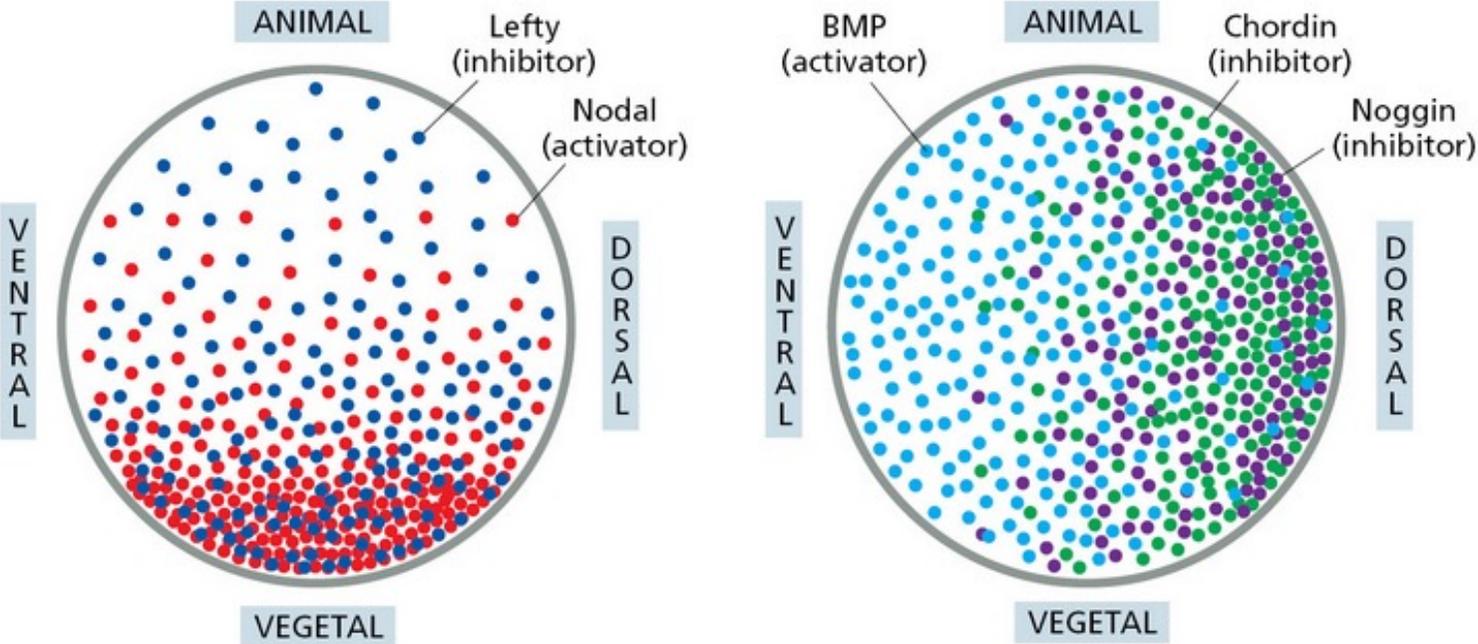
Engrailed-LacZ fly

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



Voies de signalisation  
et  
développement

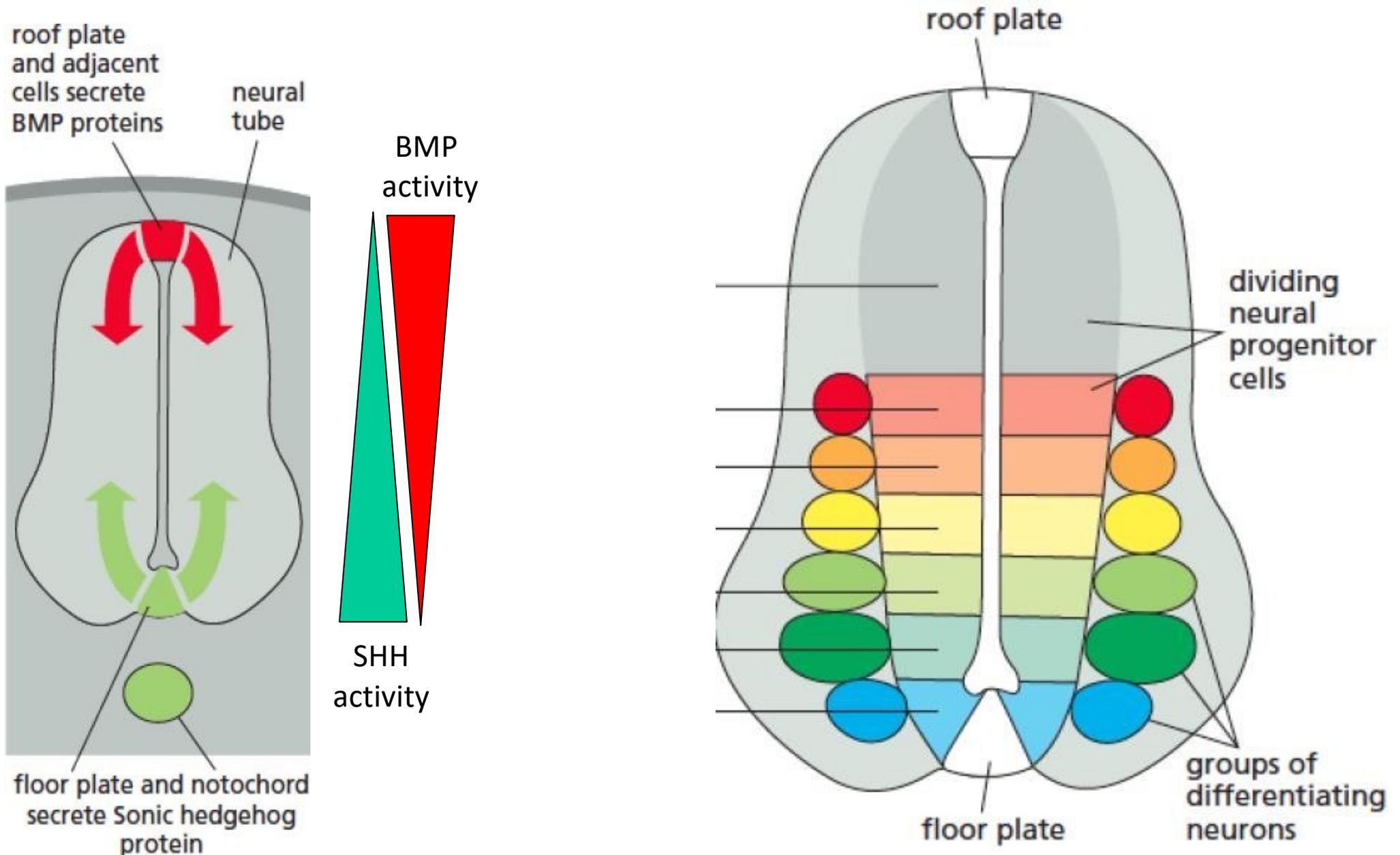
# Gradients d'activités et définition des axes embryonnaires



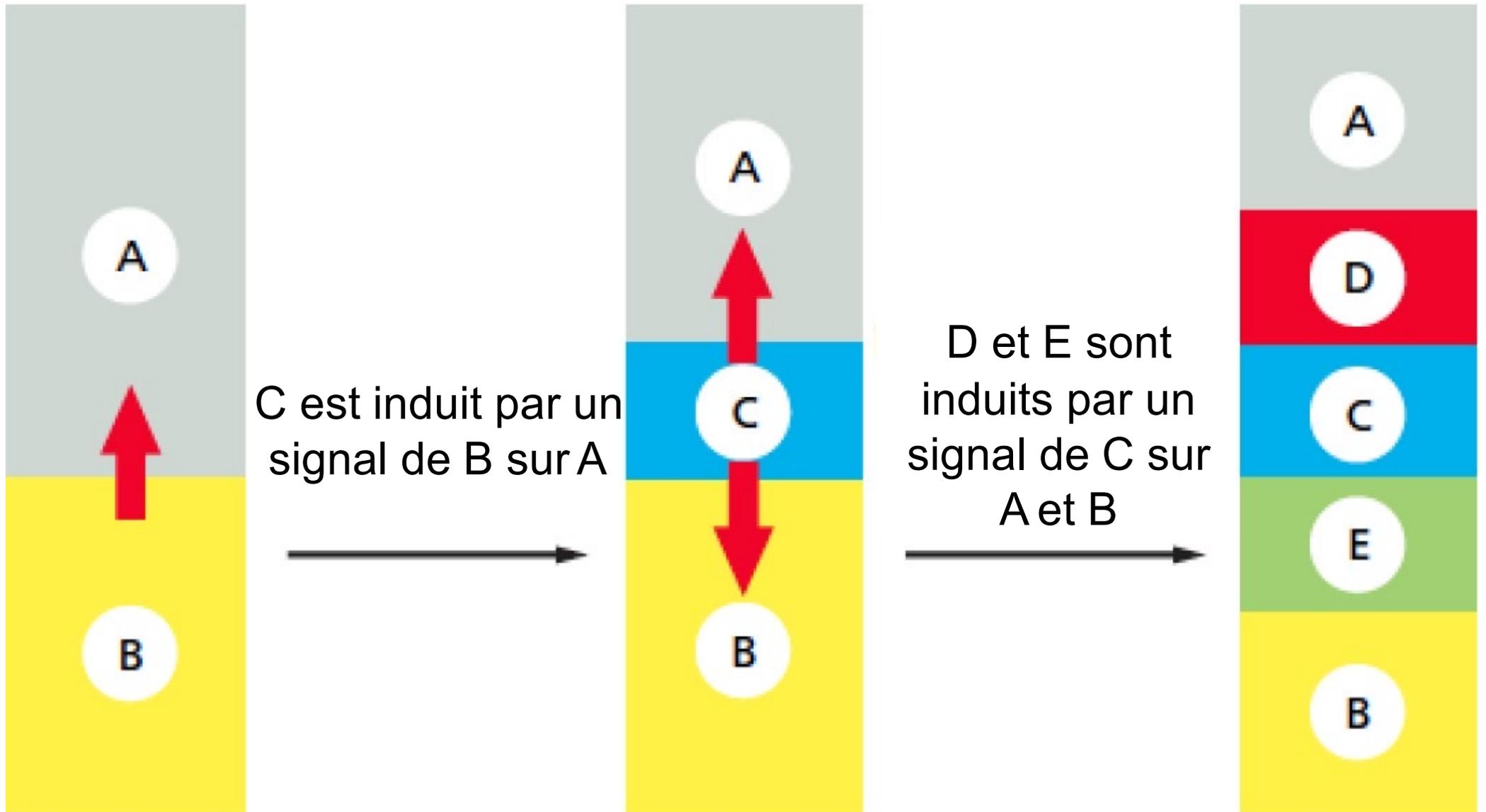
(A) resulting Nodal activity

(B) resulting BMP activity

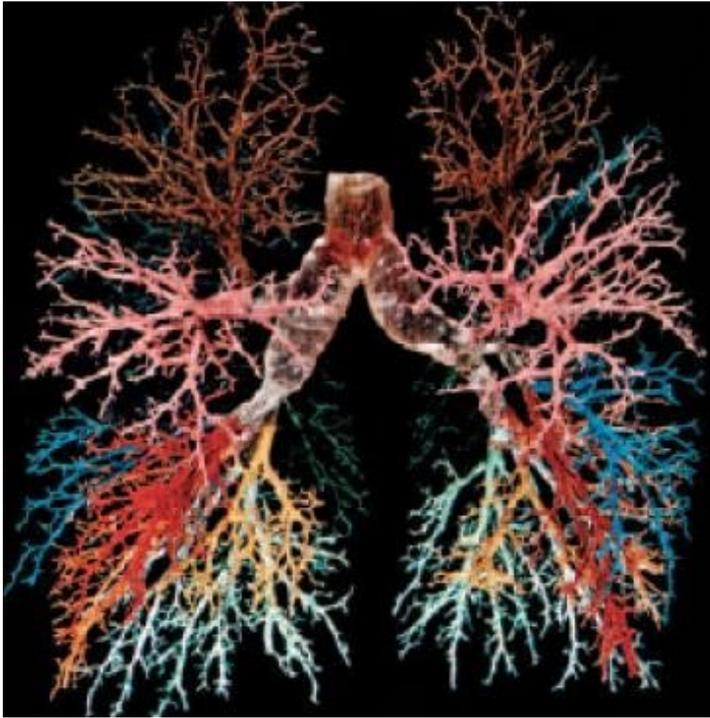
# Gradients d'activités et spécification cellulaire



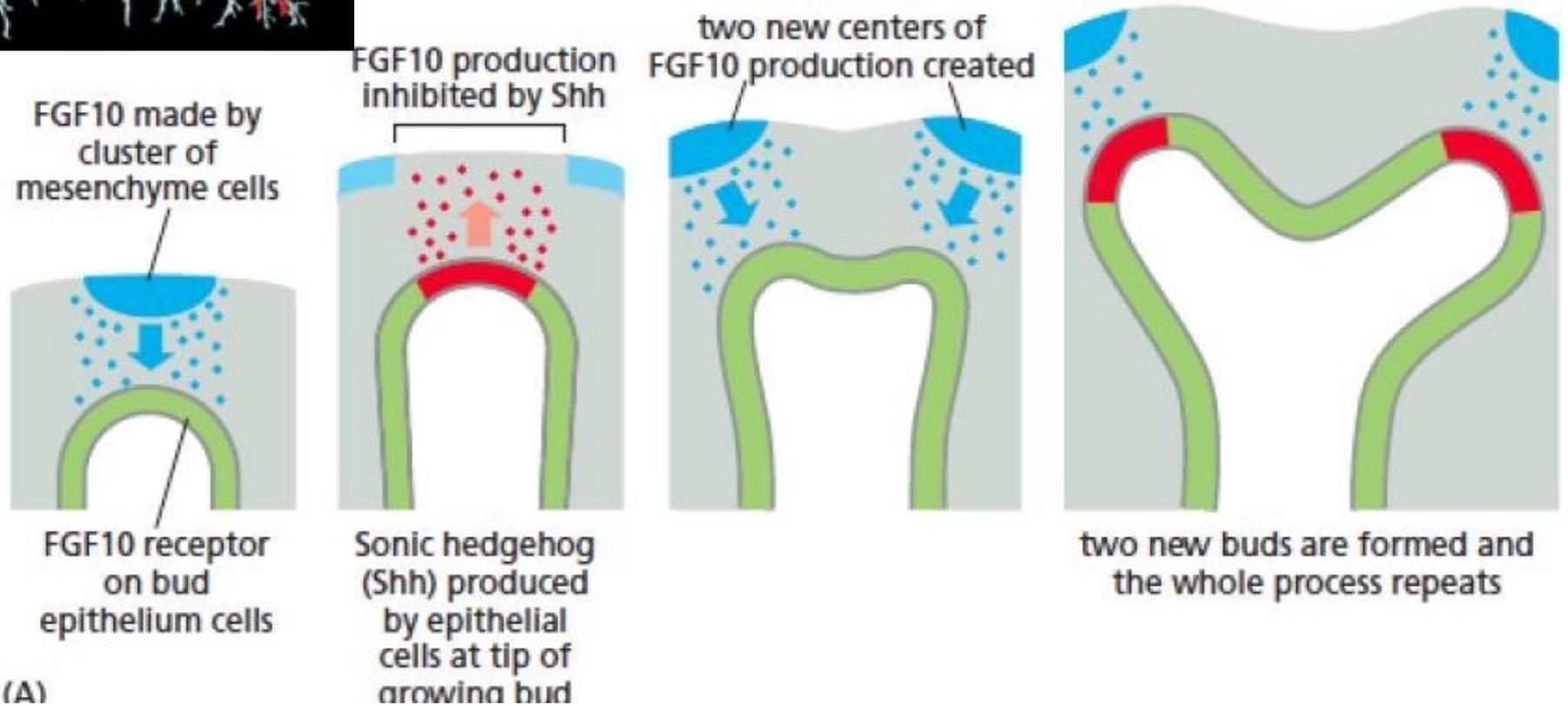
# Produire un inducteur de stimulus



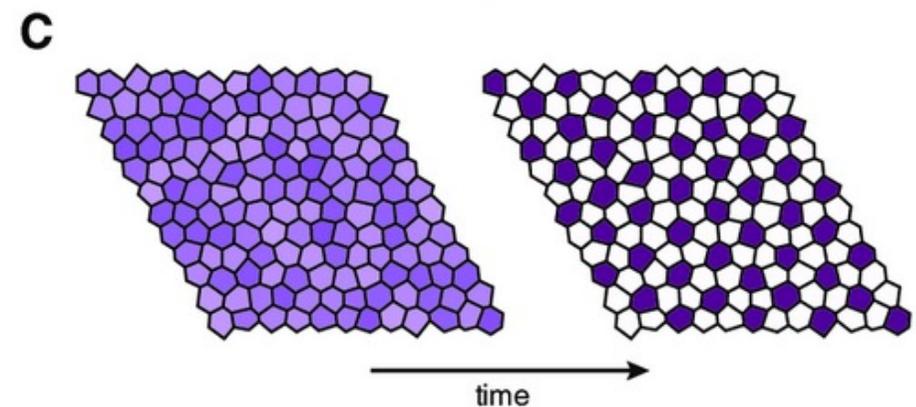
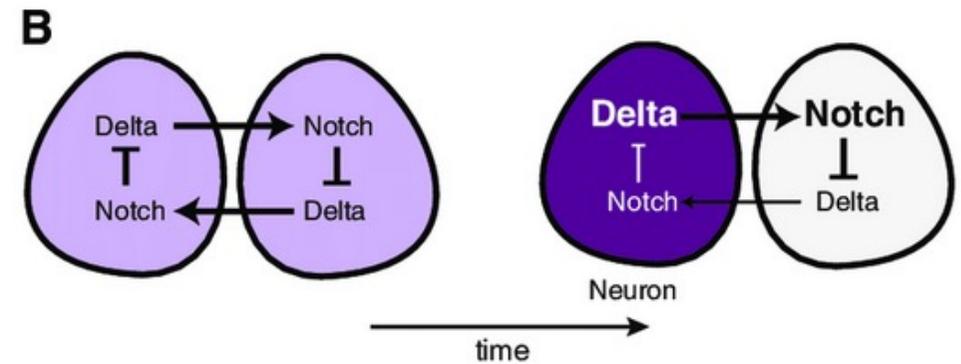
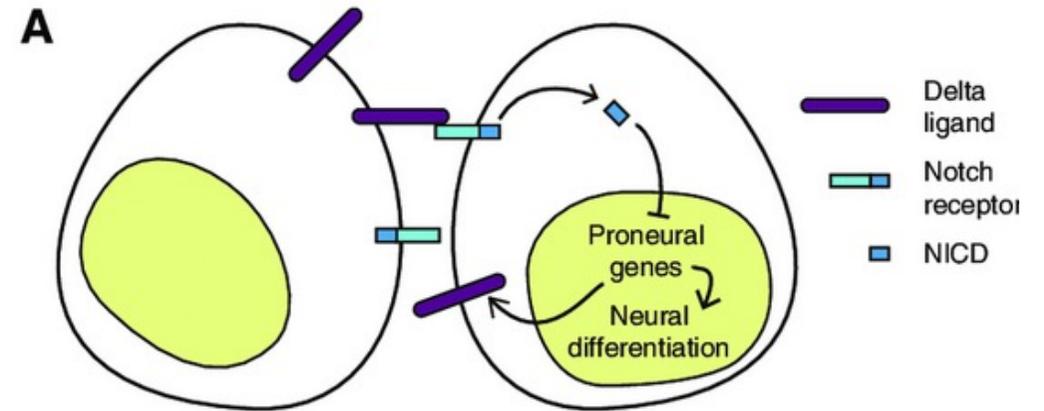
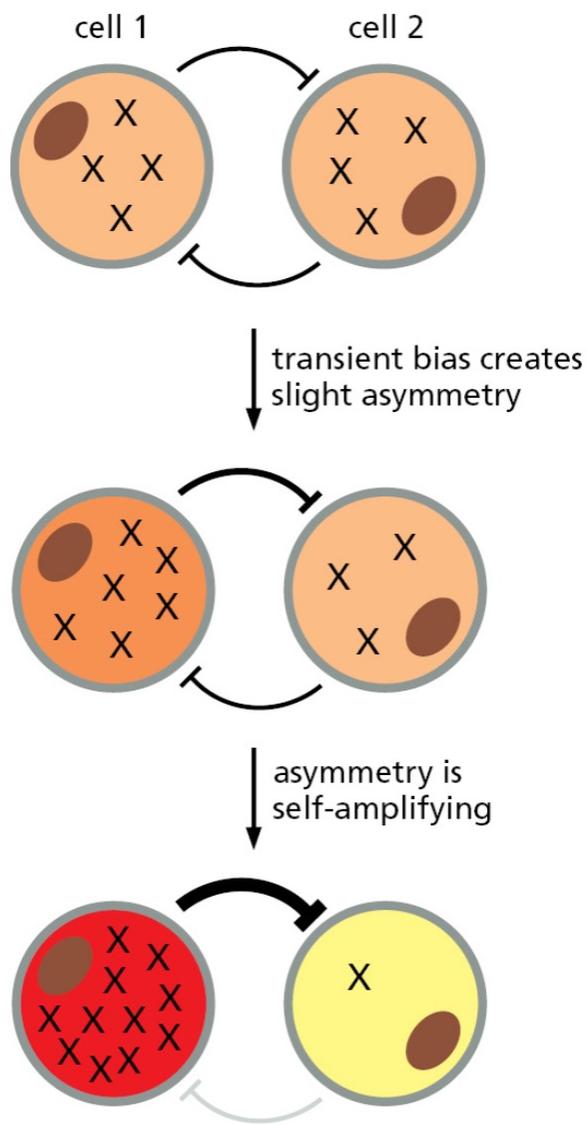
→ série d'interactions inductrices engendre de nombreux types de cellules



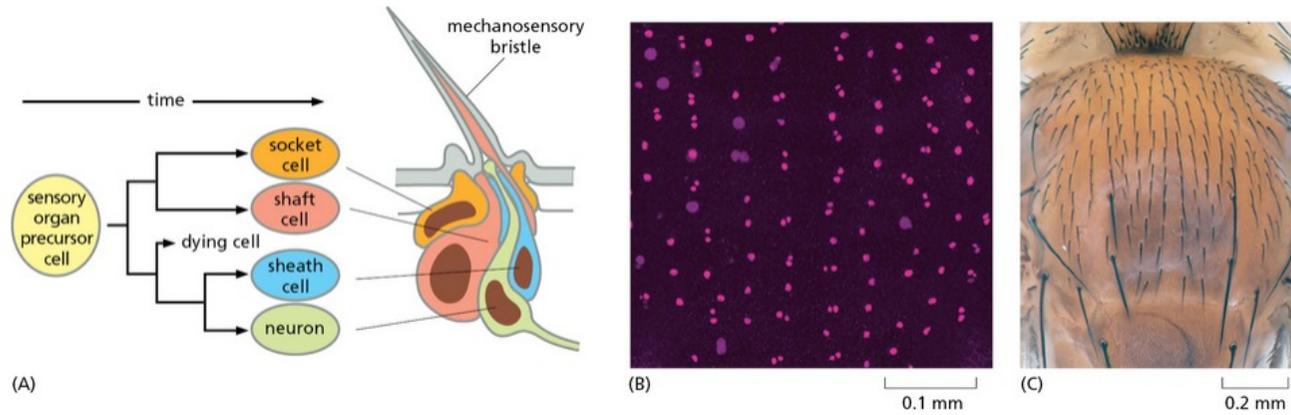
## Comment créer un système ramifié (arbre bronchique)



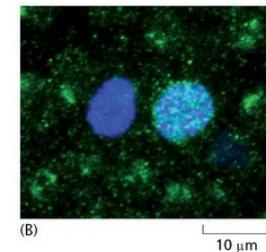
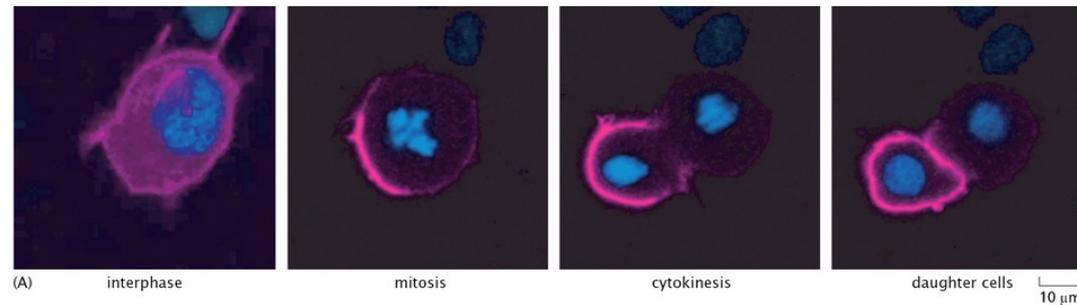
# Voie de signalisation Delta/Notch et inhibition latérale



# Activation de la voie Notch et division asymétrique

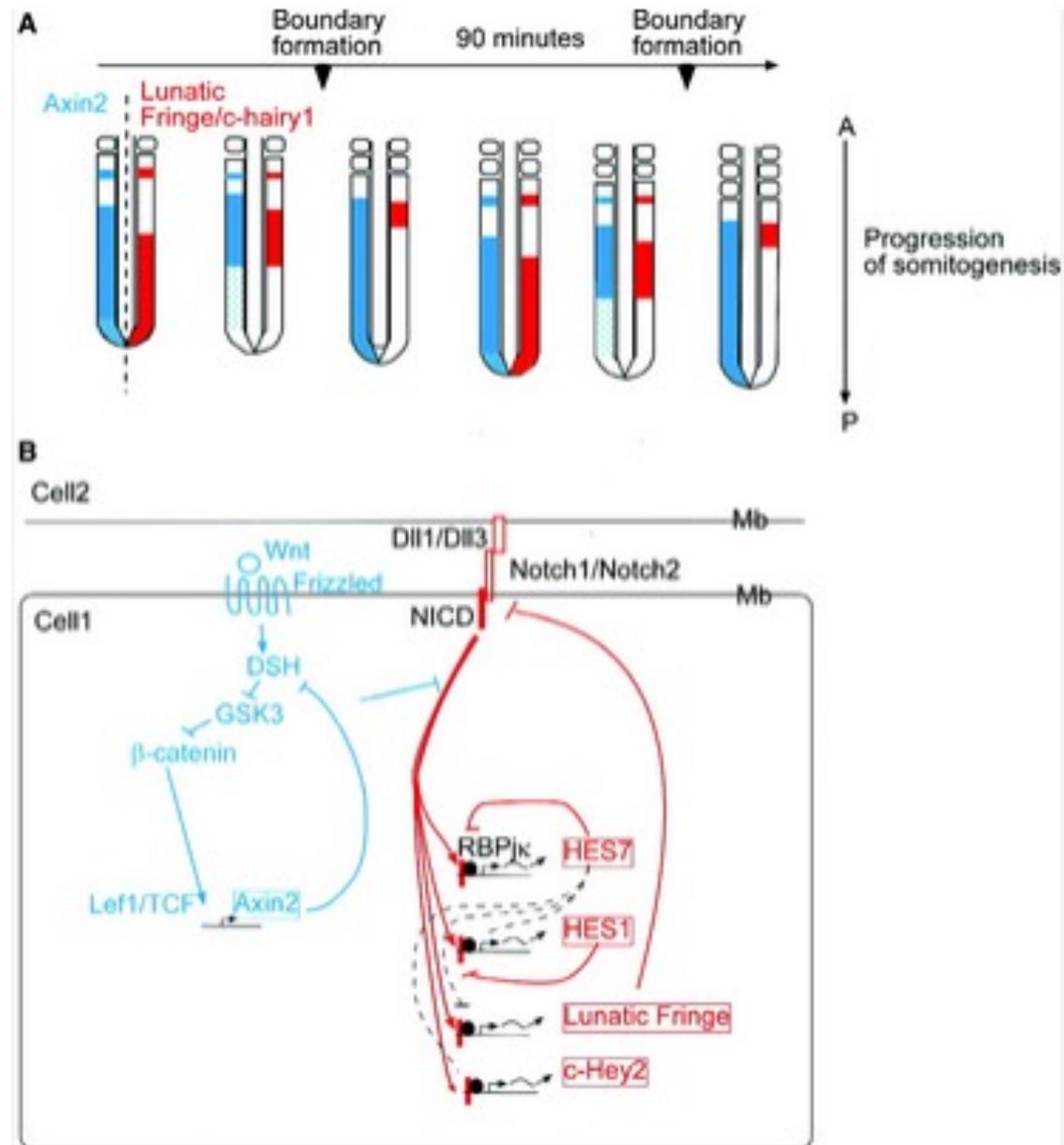


## Numb



Notch activity

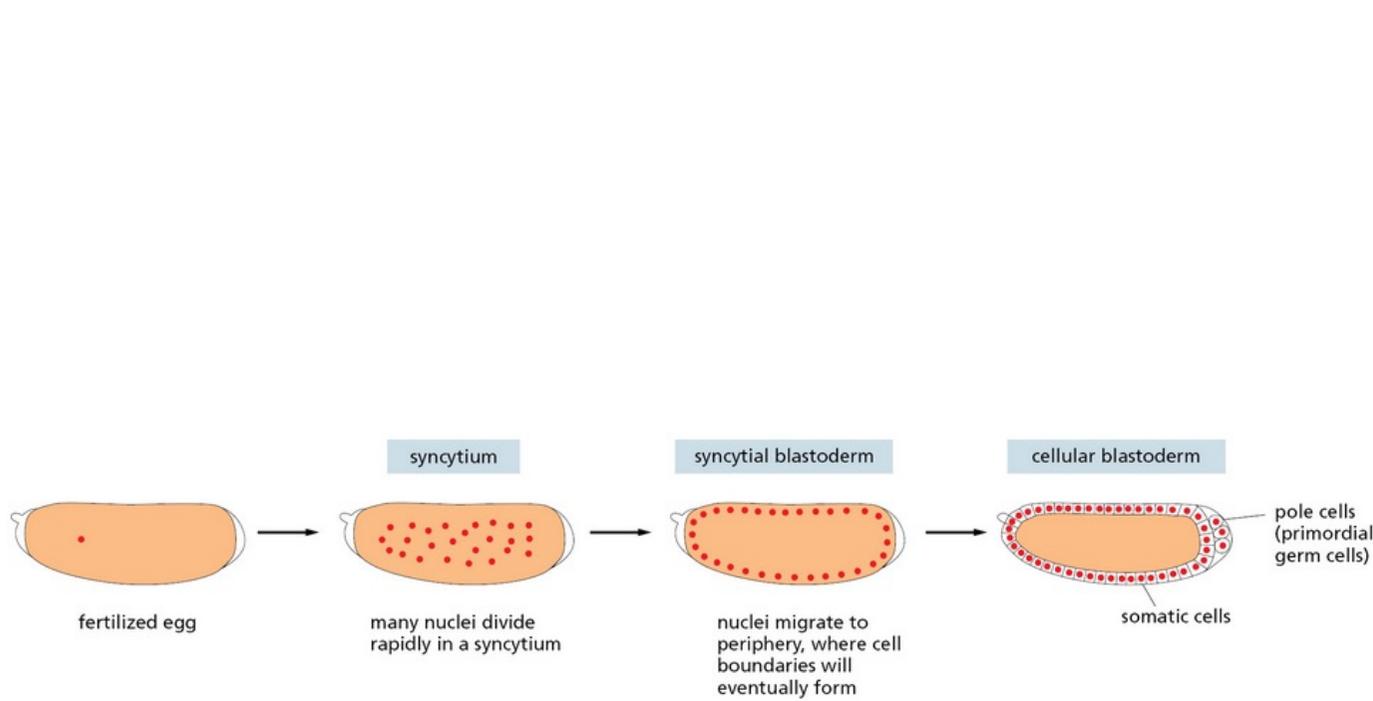
# Voie Notch et l'horloge de segmentation au cours de la somitogénèse



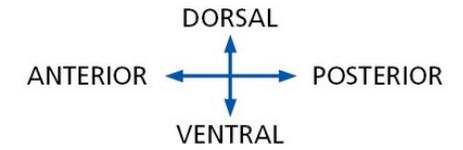


**Cytosquelette et  
signalisation cellulaire**

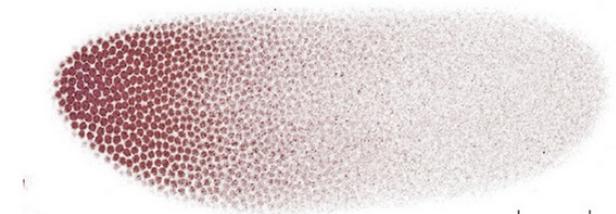
# Gradient de Bicoid et spécification de l'axe A/P de l'embryon chez la drosophile



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

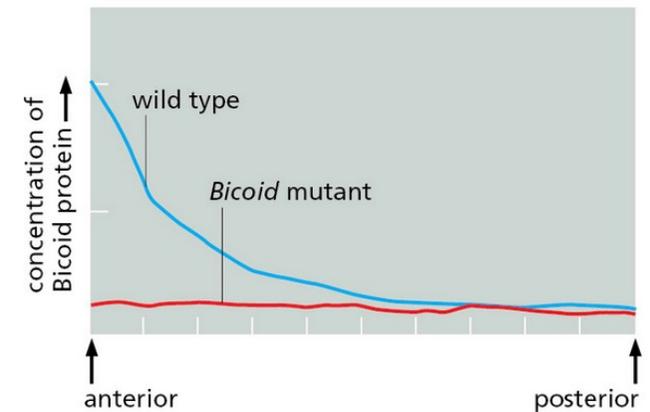


(A) *Bicoid* mRNA



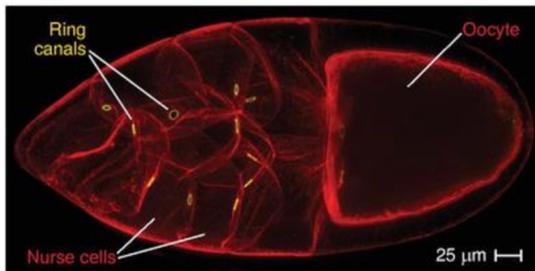
(B) Bicoid protein

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

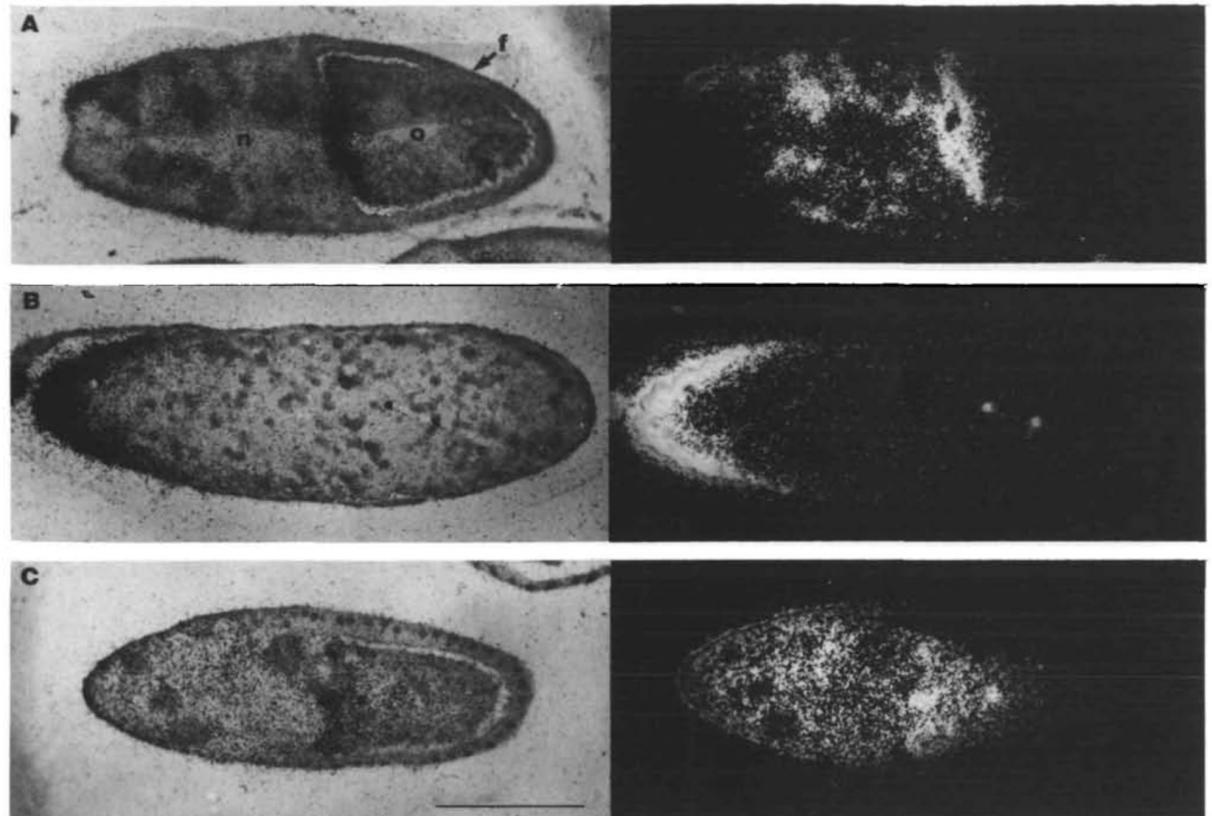


WT stage 10  
egg chamber

WT stage 14  
embryo

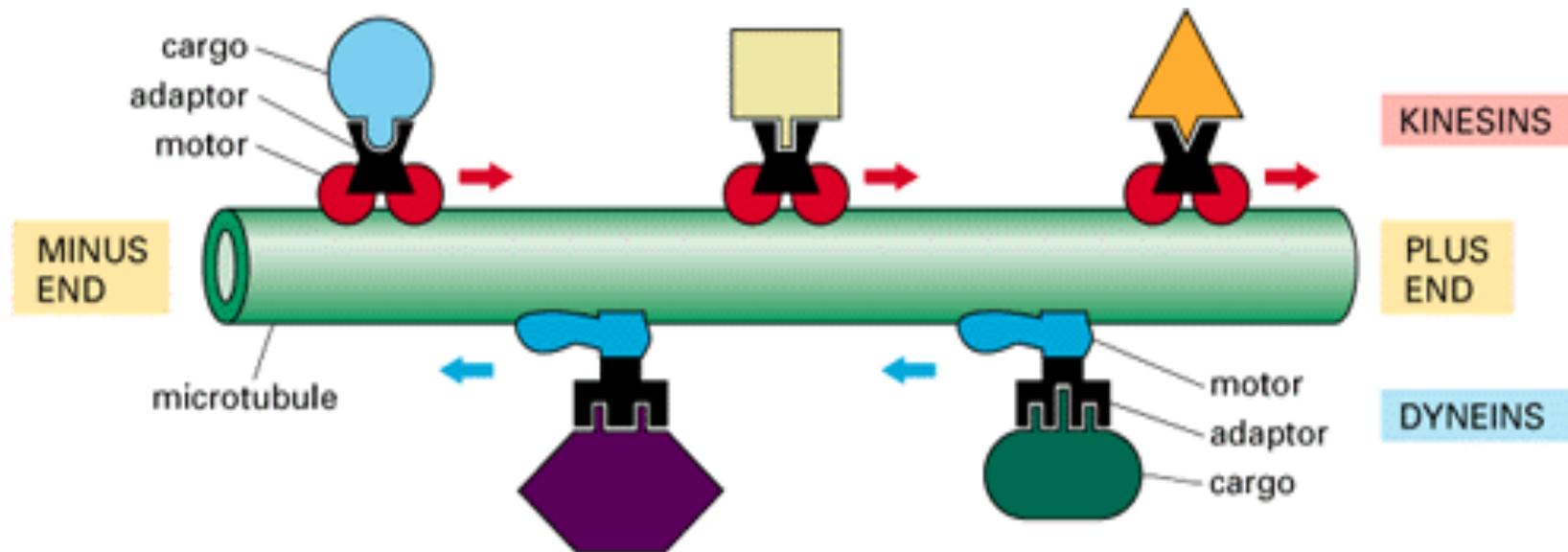
Nocodazole treated  
stage 14  
embryo

ARNm Bicoïd



**A RETENIR !**

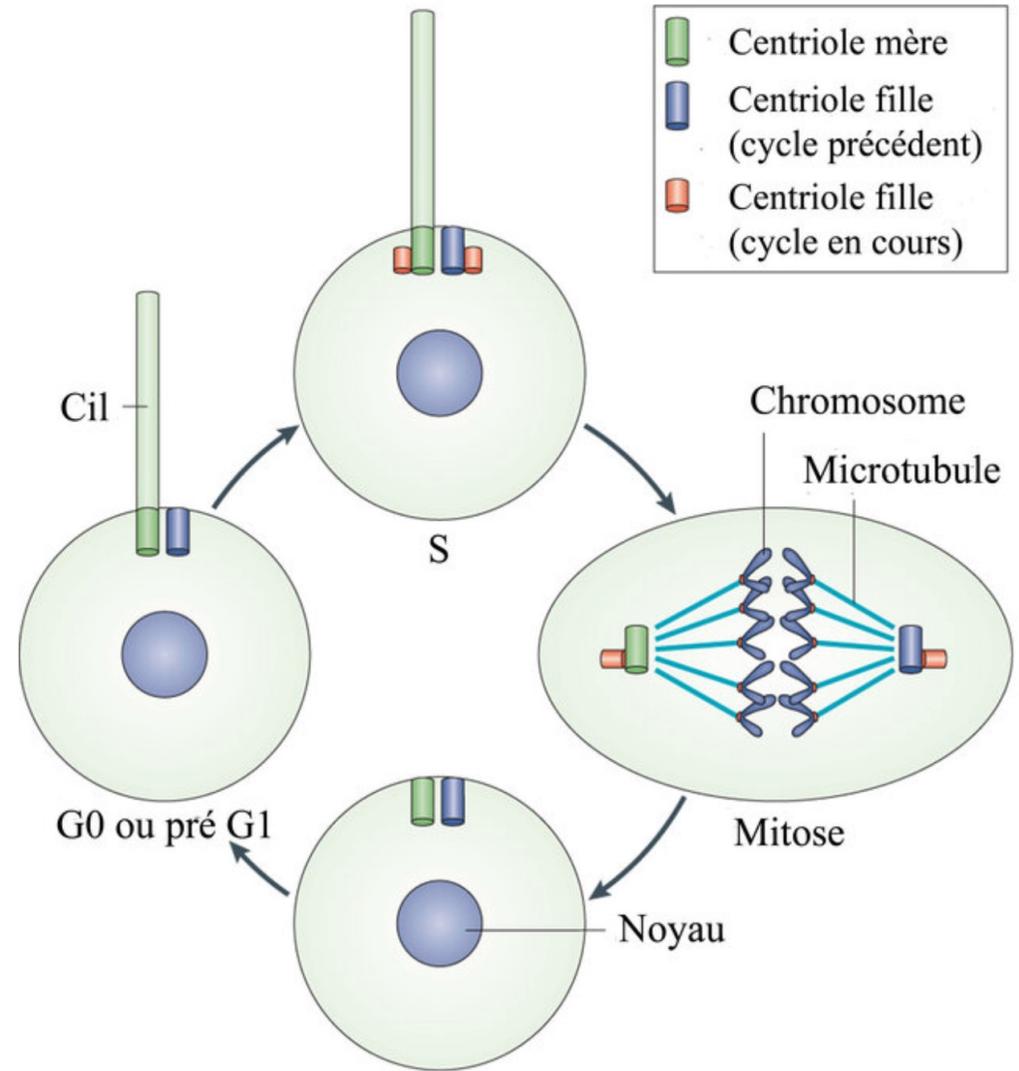
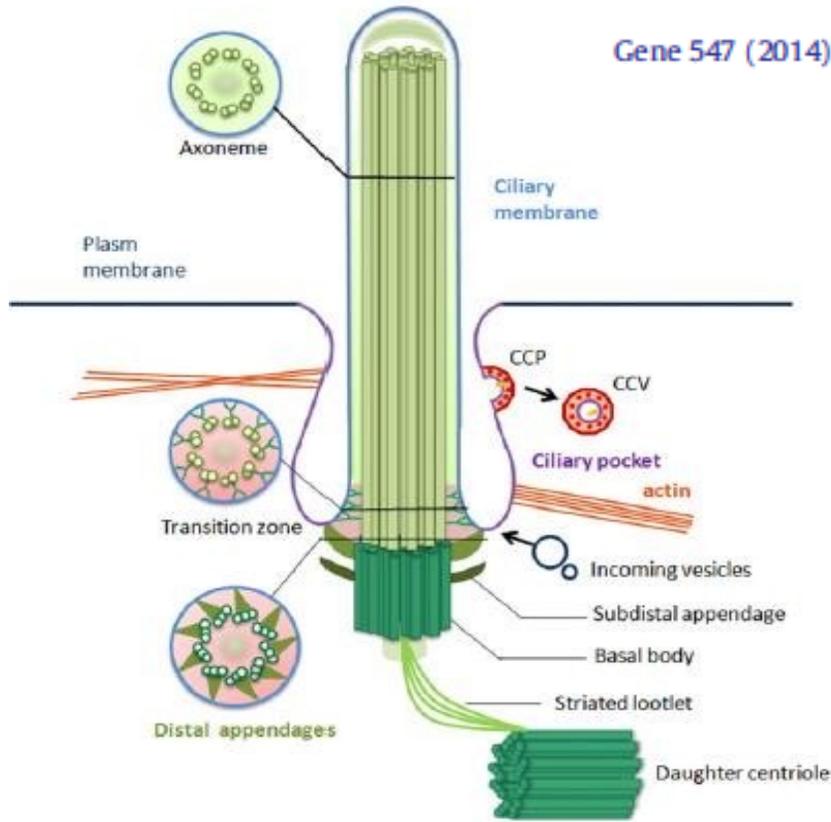
**Rappel: Dynéines et Kinésines sont des moteurs moléculaires pouvant transporter des molécules (ARN, Protéines) ou des vésicules le long des microtubules**



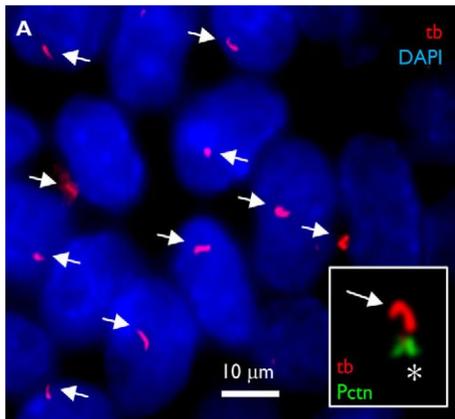
# Cil primaire et activation de la voie Hedgehog

# Le cil primaire

Gene 547 (2014) 175-185



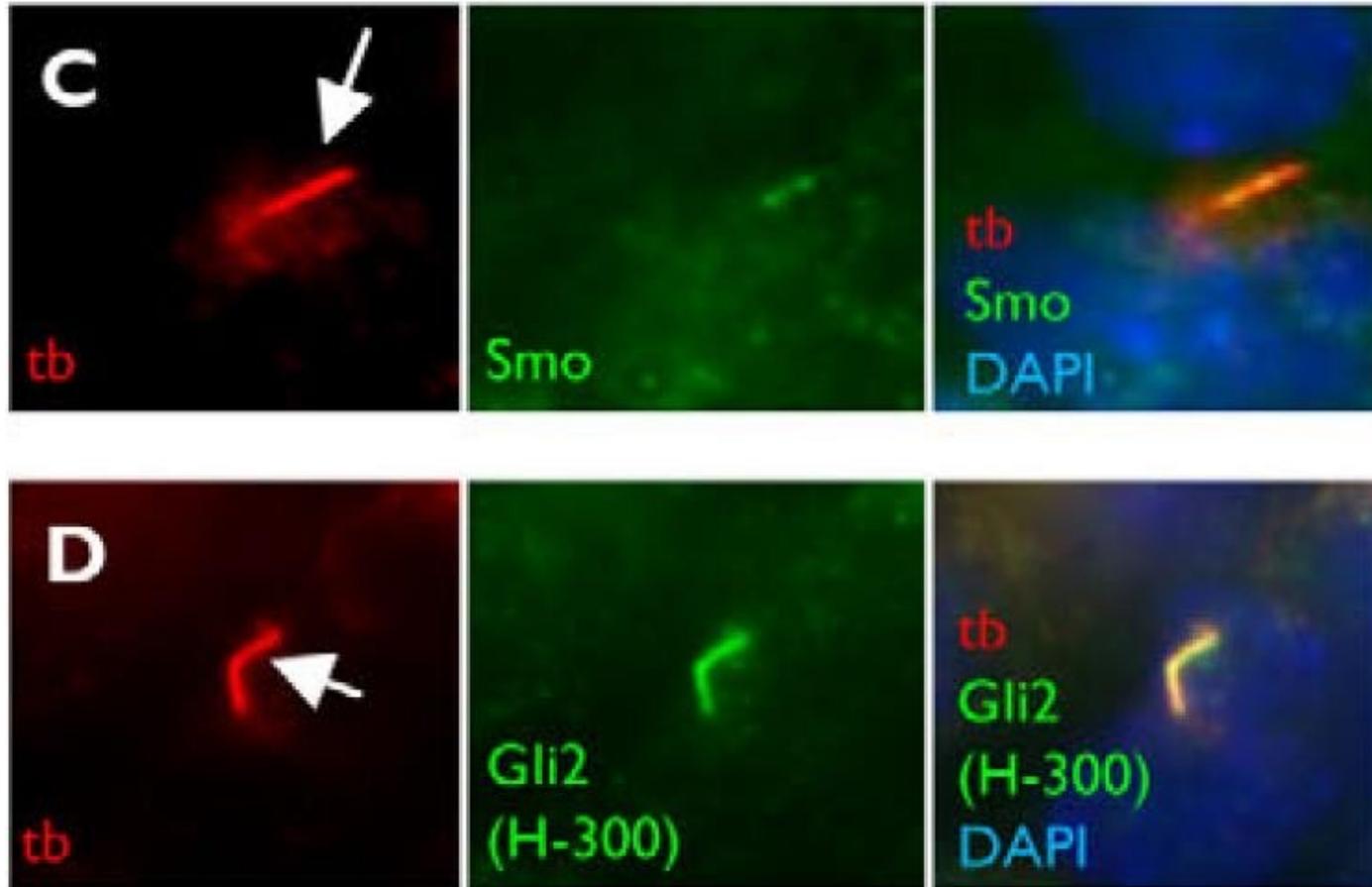
- Centriole mère
- Centriole fille (cycle précédent)
- Centriole fille (cycle en cours)



**Tubuline  
acetylée**

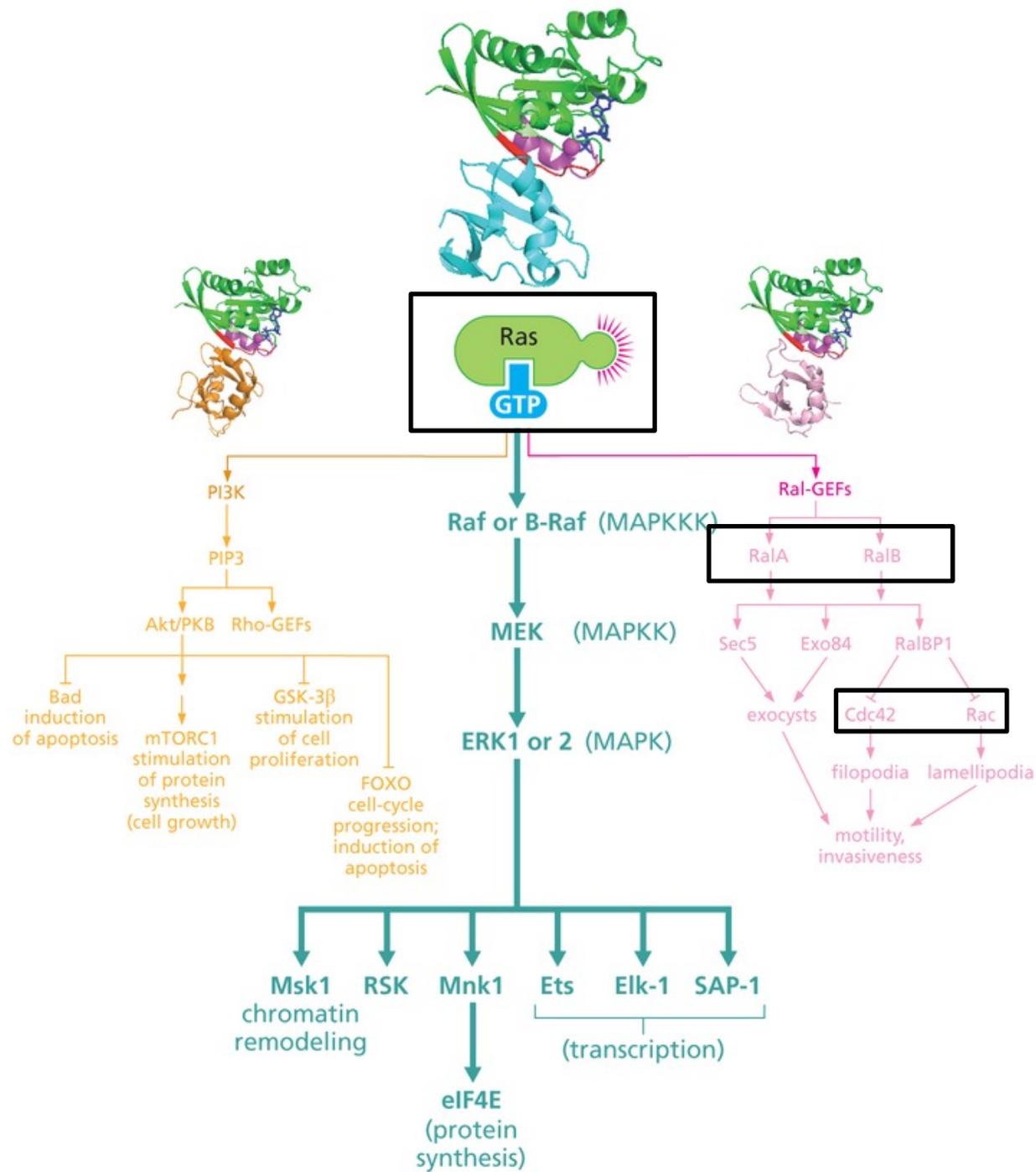
Journal of Cell Science 122, 3070-3082

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



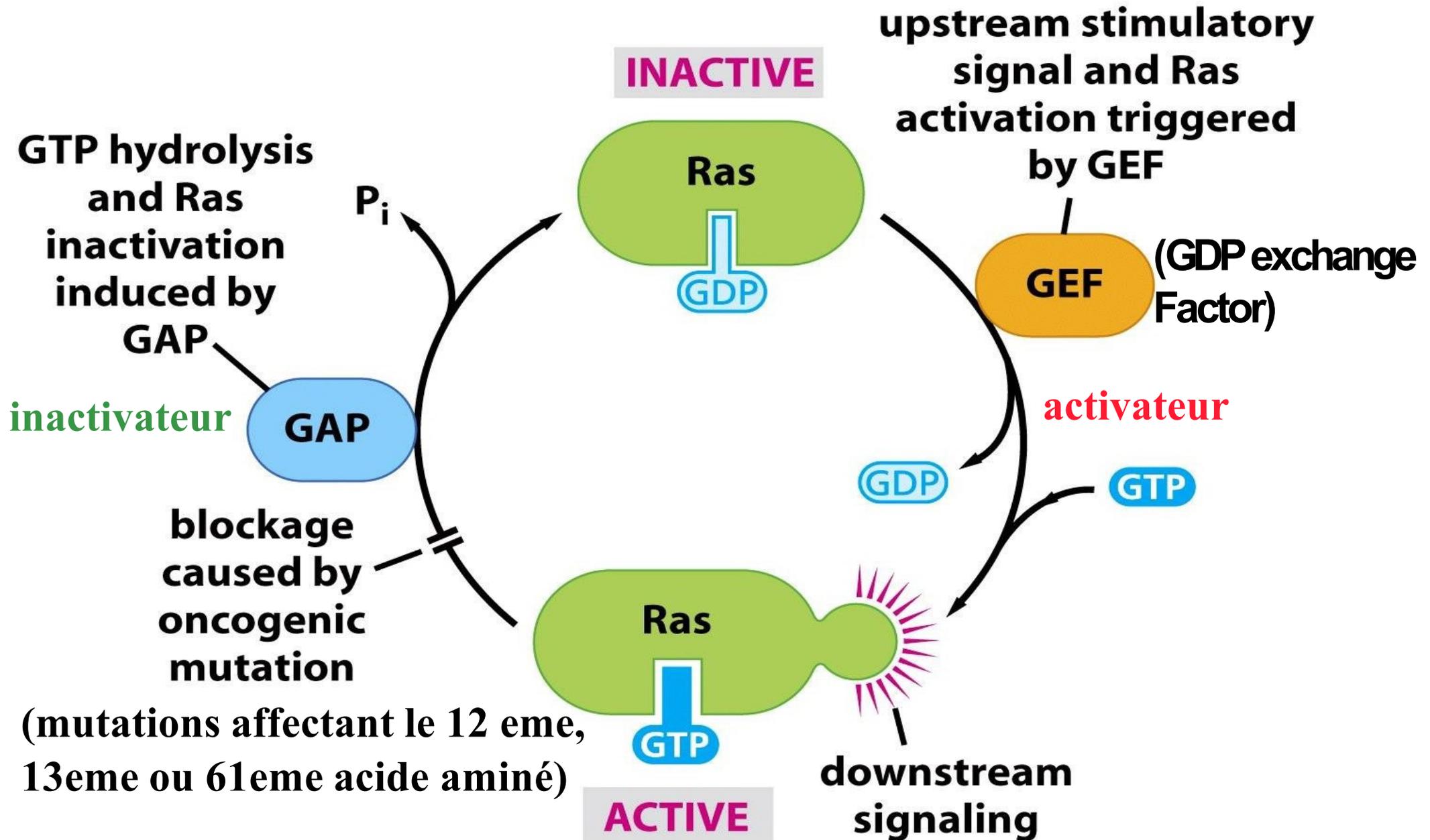
**Localisation des éléments de la voie Hh dans le cil primaire**

# **Petites protéines G et remodelage du cytosquelette d'actine**



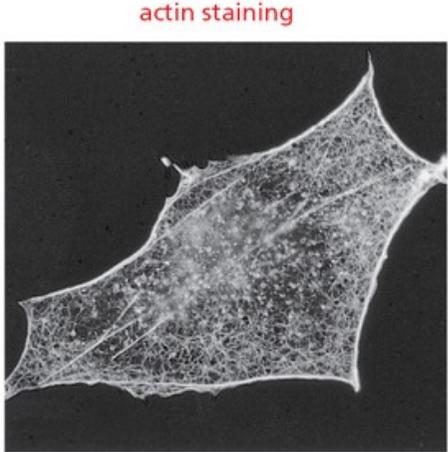
# Cycle d'activation des petites protéines G

A RETENIR !

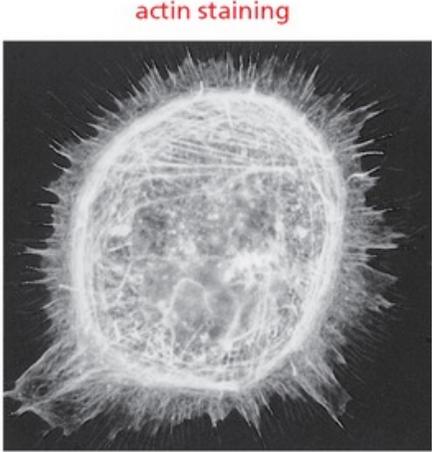


A RETENIR !

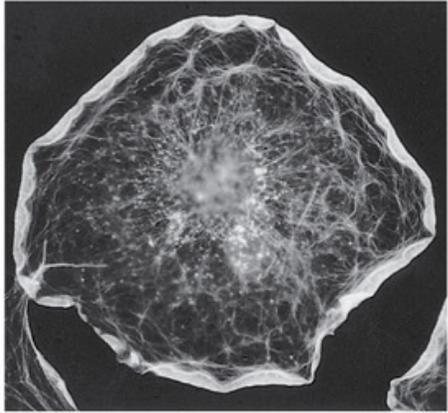
# Remodelage par les petites GTPases



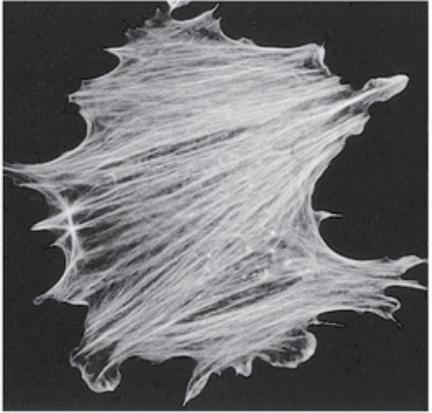
(A) QUIESCENT CELLS



(B) Cdc42 ACTIVATION

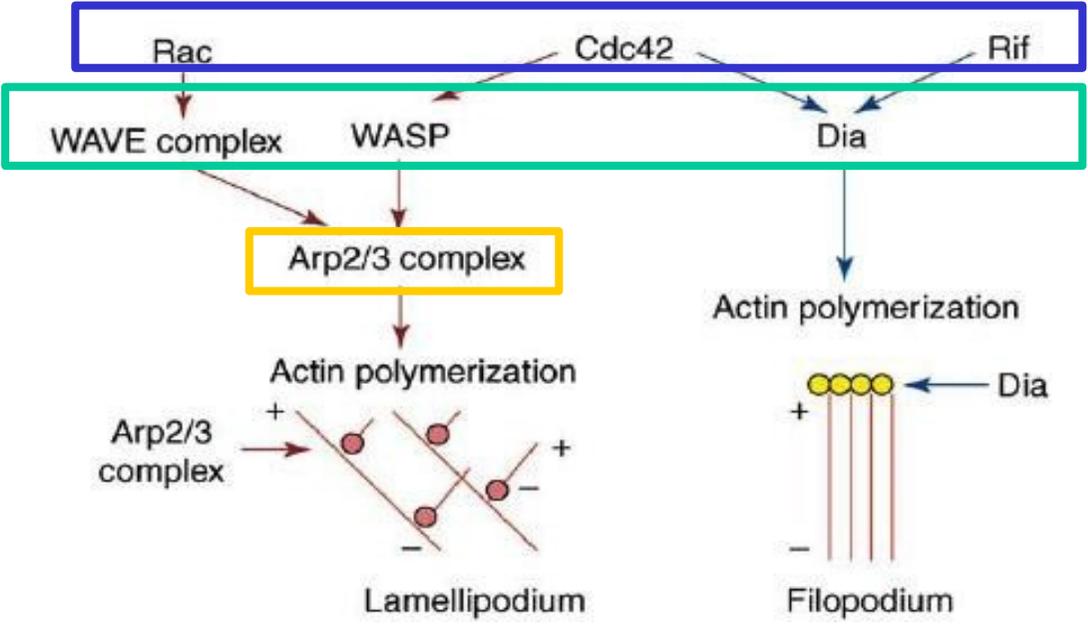


(C) Rac ACTIVATION



(D) Rho ACTIVATION

20 μm



Rac=RAS-RELATED C3 BOTULINUM TOXIN SUBSTRATE 1

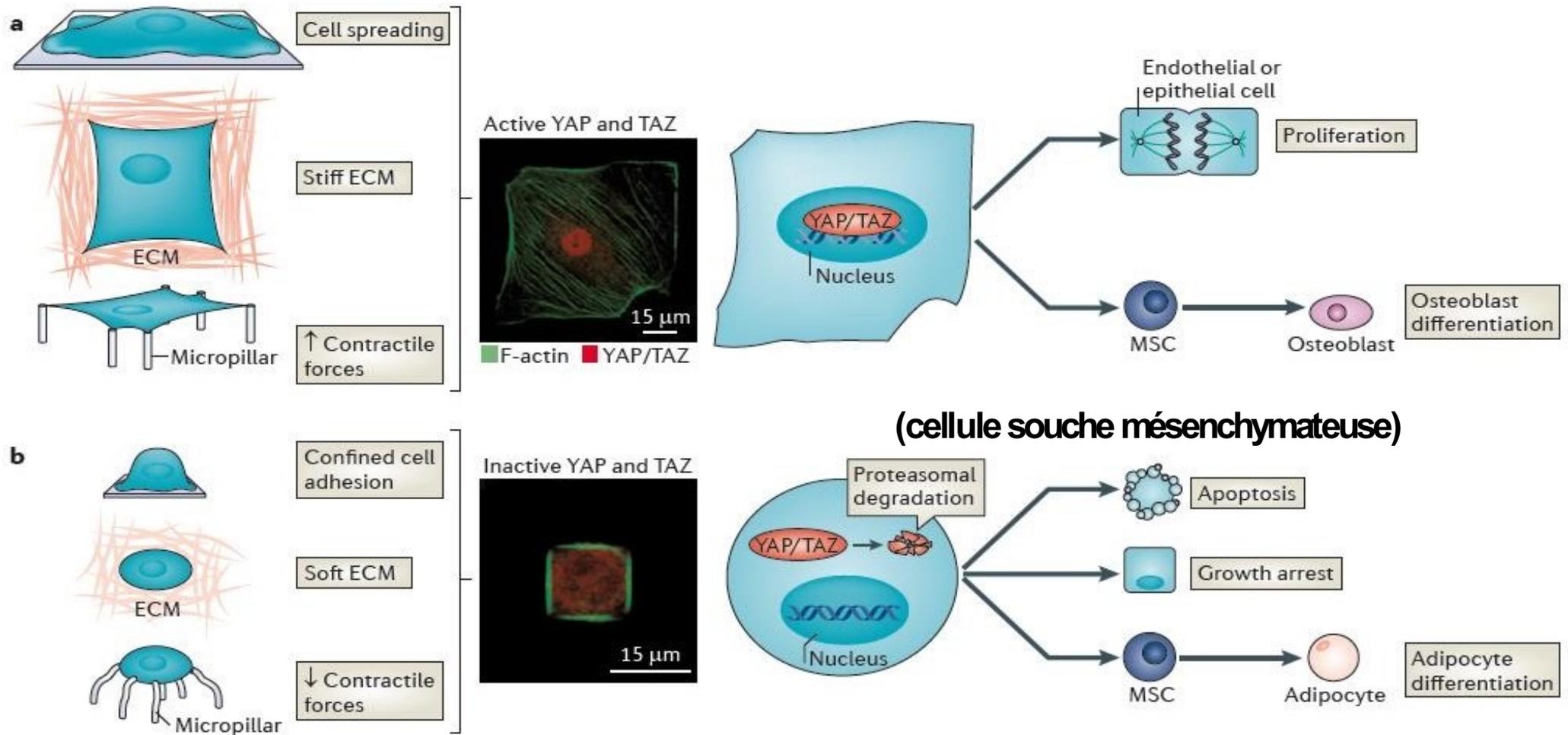
Rho=RAS HOMOLOG GENE FAMILY

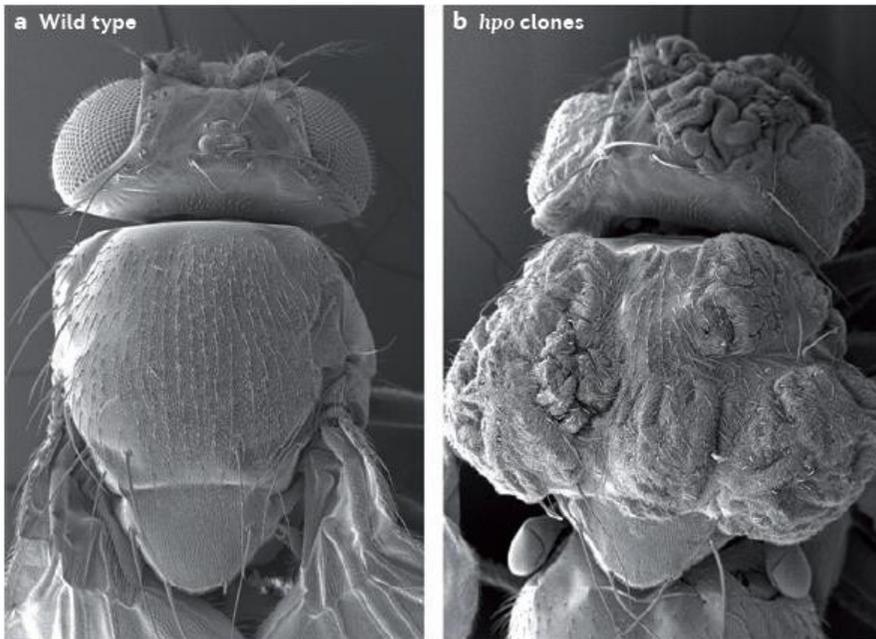


**Matrice extracellulaire et  
mechano-transduction**

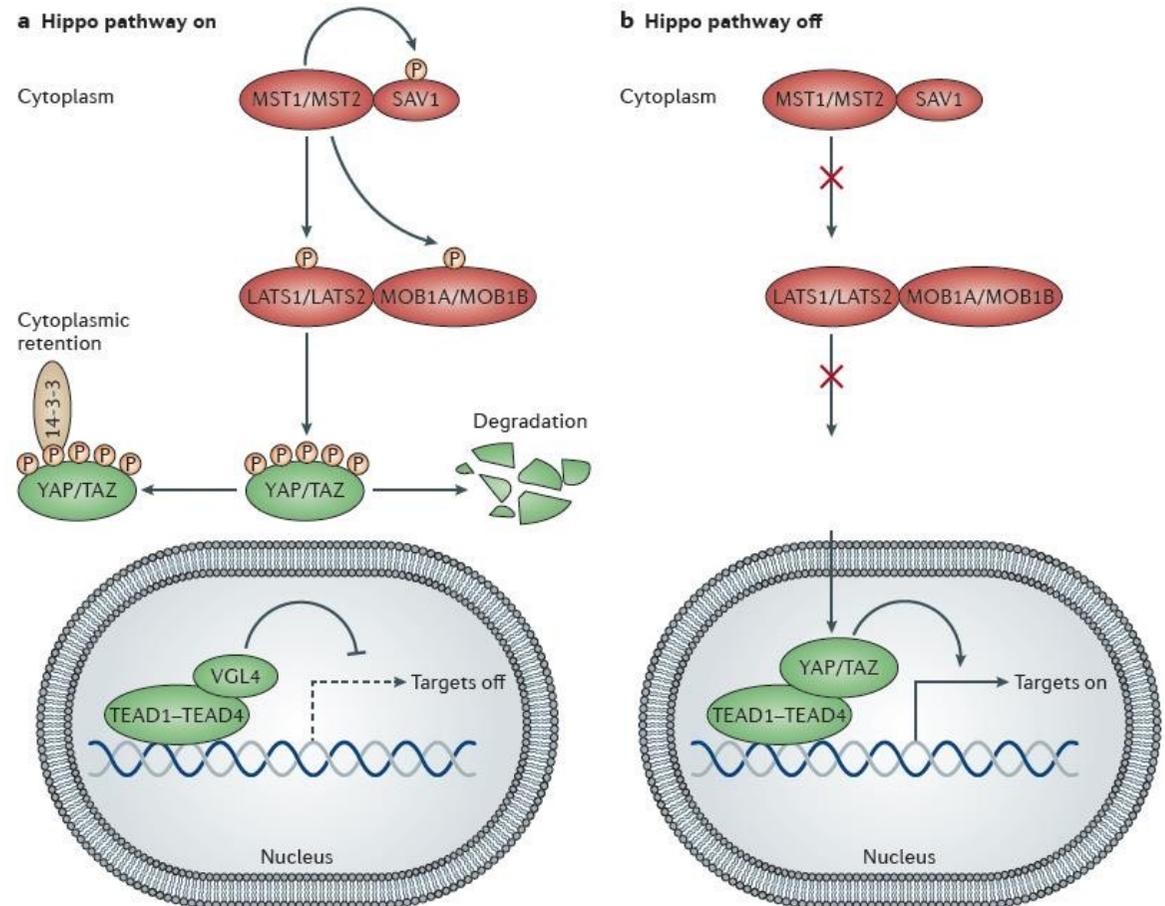
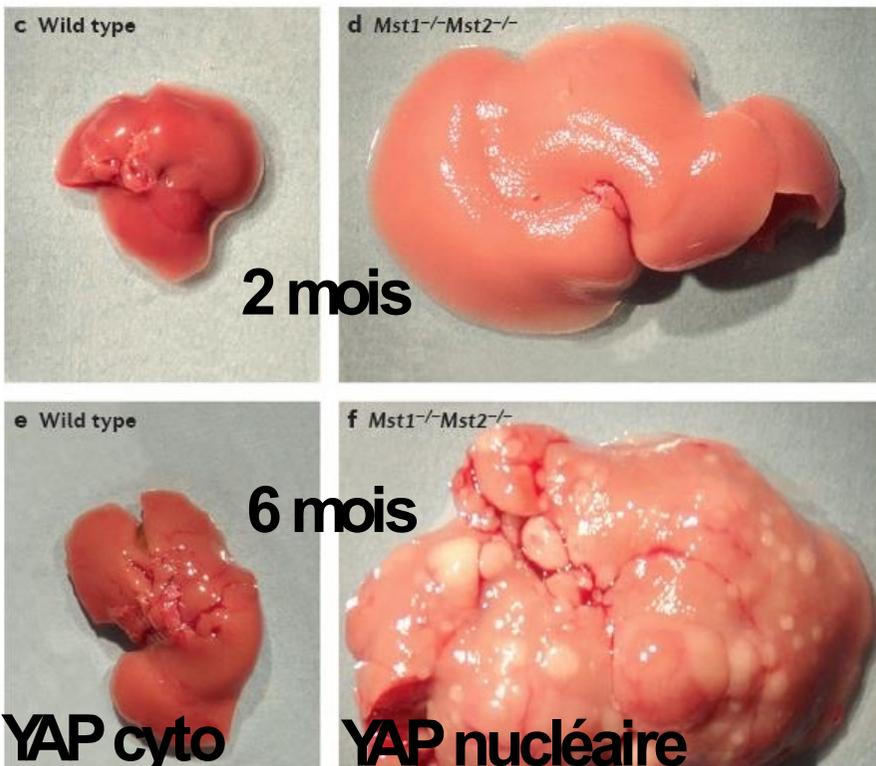
# Stimulation mécanique

La rigidité du support contrôle la localisation sub-cellulaire de facteurs de transcription de la voie Hippo





# L'activation de la voie Hippo conduit à la dégradation du régulateur de la transcription YAP/TAZ



Hippo chez drosophile = MST1 humain

# 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**

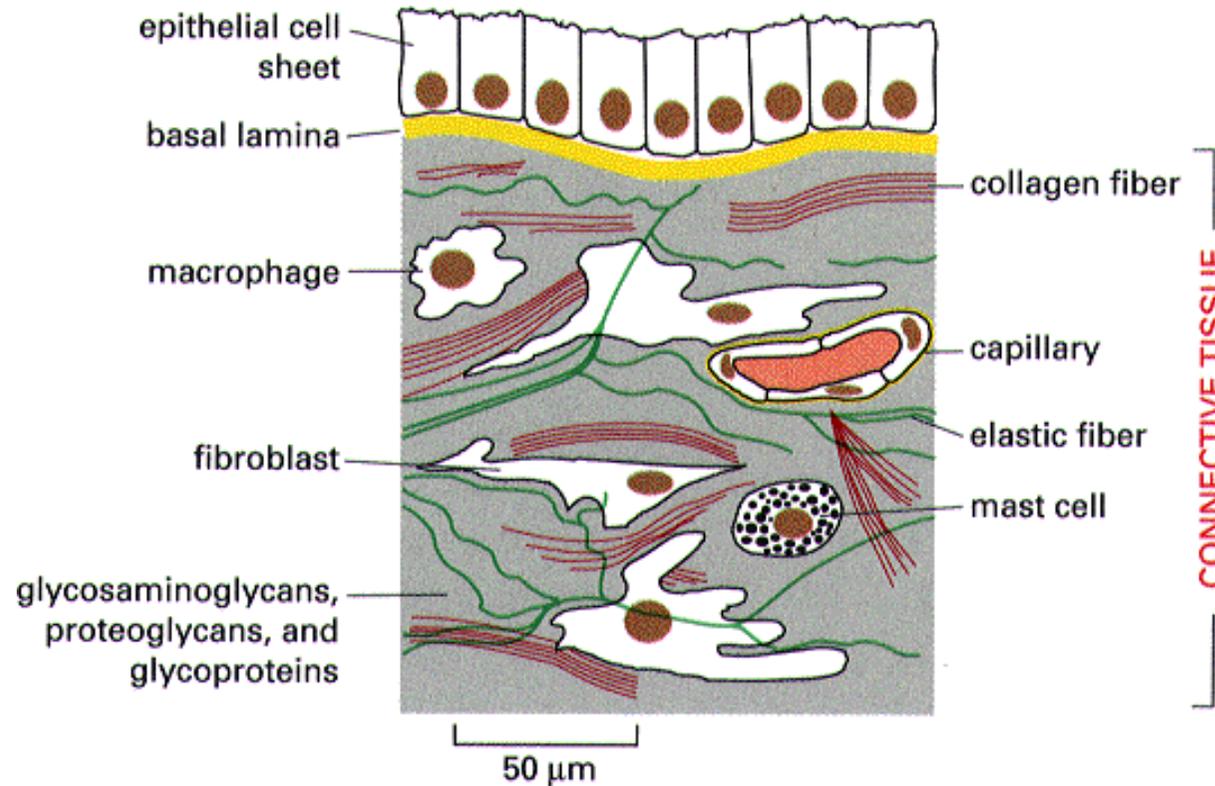
Ex: tissu conjonctif présent dans tous les organes

2 types:

- . **non-spécialisé**: produit par les fibroblastes (ex: derme)
- . **spécialisé**: produit par les chondrobalstes (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.

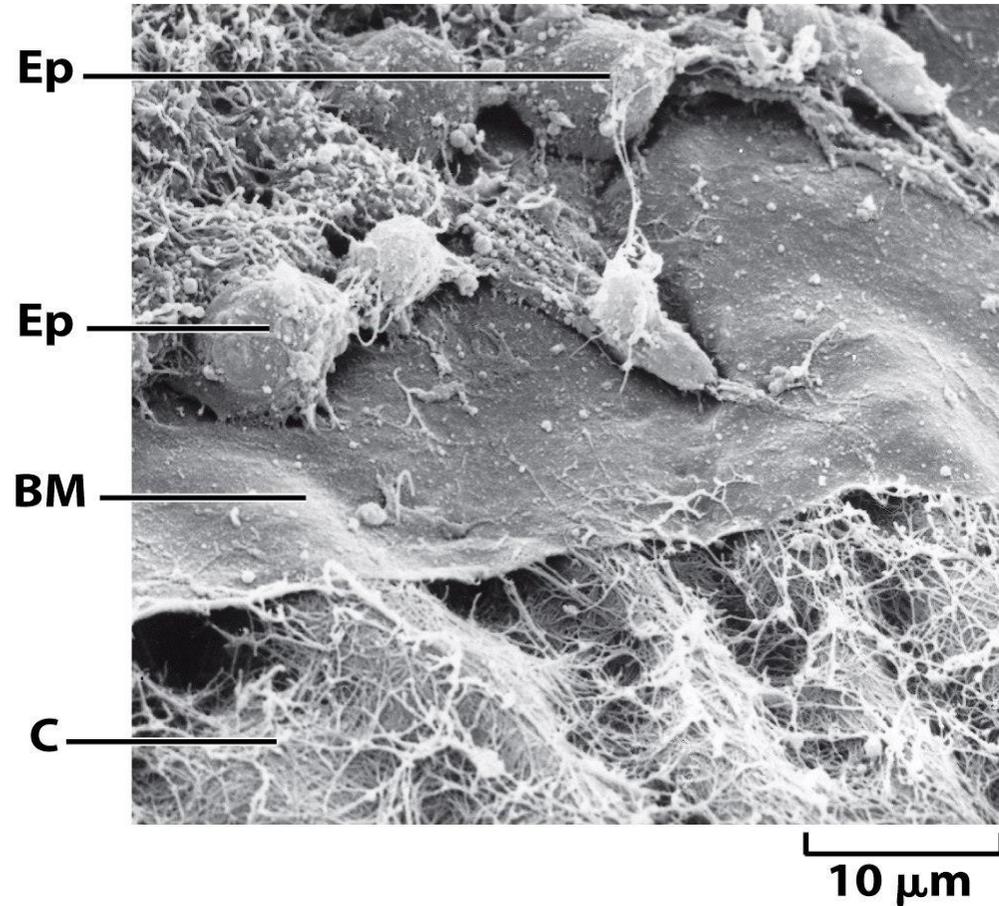
# Epithélium et tissu conjonctif lâche



From The Art of MBoC<sup>3</sup> © 1995 Garland Publishing, Inc.

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

# La matrice extracellulaire *in vivo*

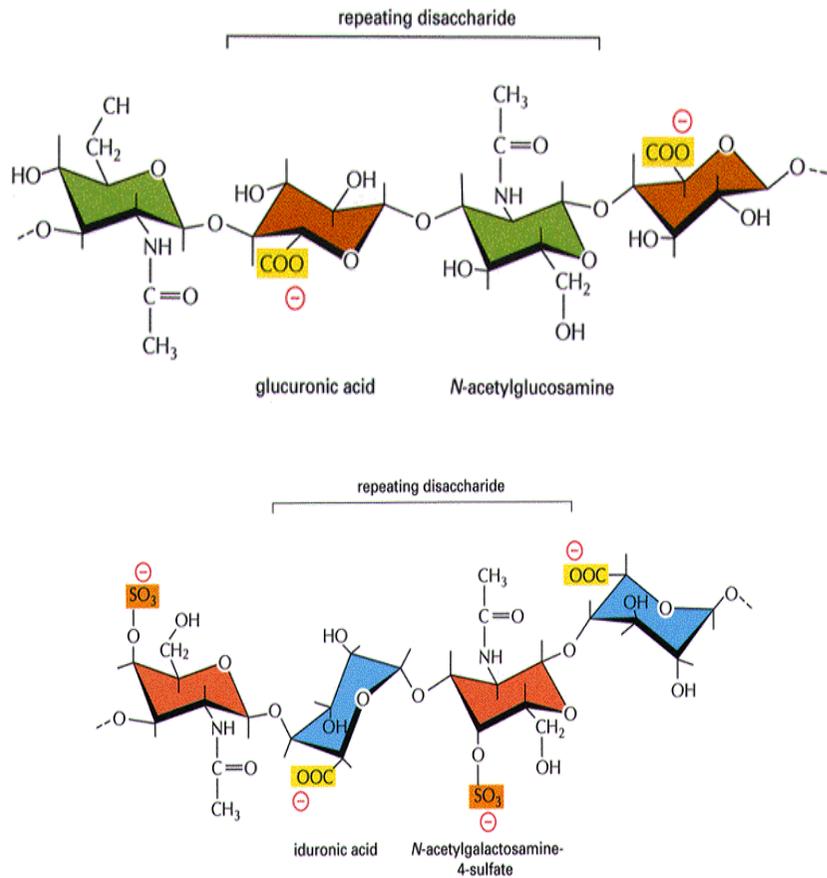


Ep: Cellule épithéliale  
C: fibres de collagène  
BM: Membrane Basale

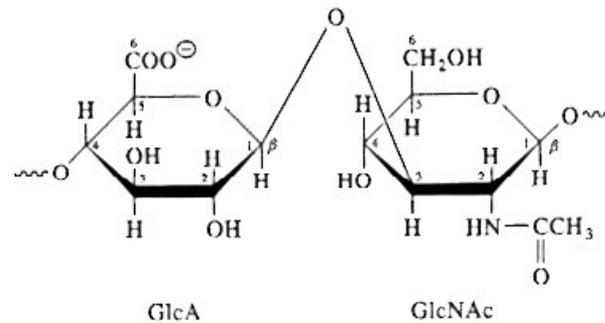
Cornée

# 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  $\text{Na}^+$  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.



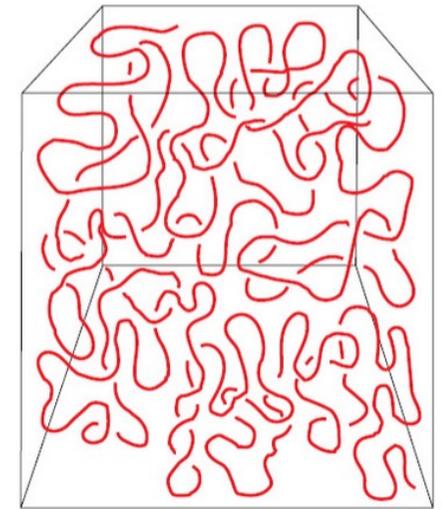
Acide hyaluronique; facilite la migration et la réparation tissulaire



● globular protein (50,000)

∞ spectrin ( $1 \times 10^6$ )

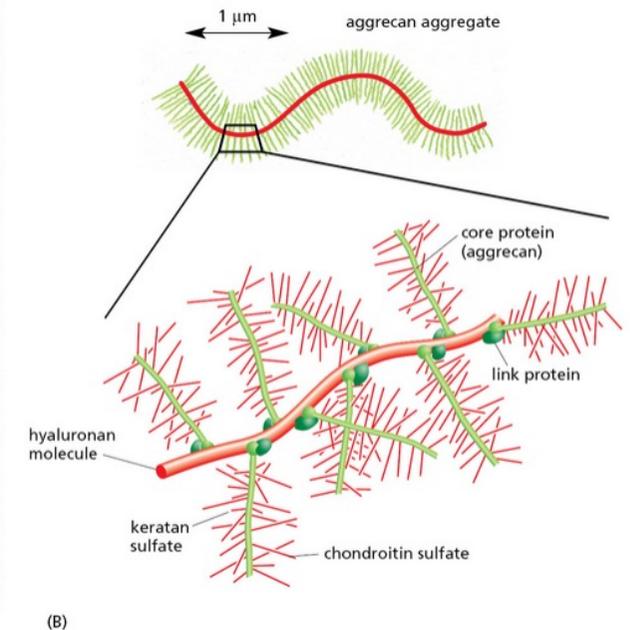
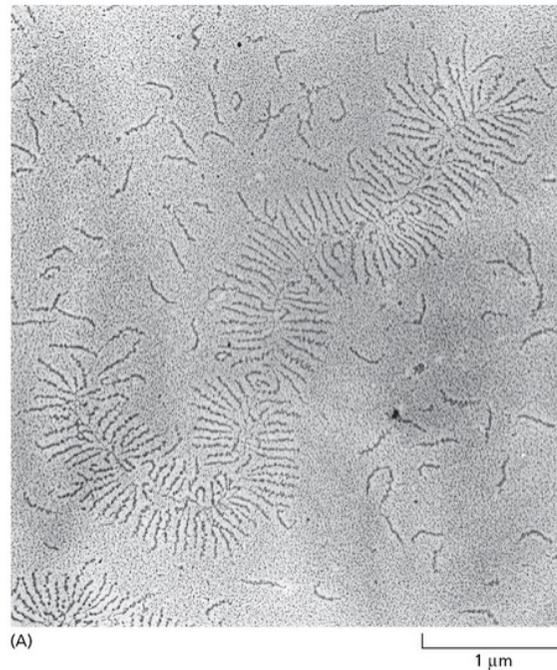
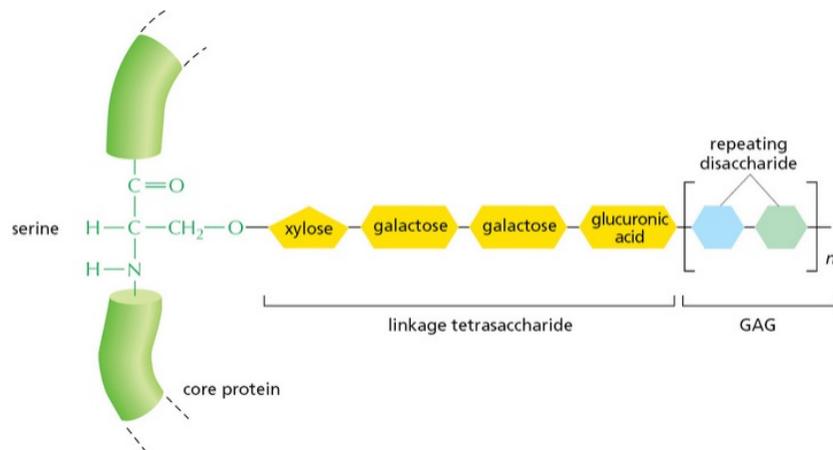
— collagen (400,000)



hyaluronan ( $8 \times 10^6$ )

300 nm

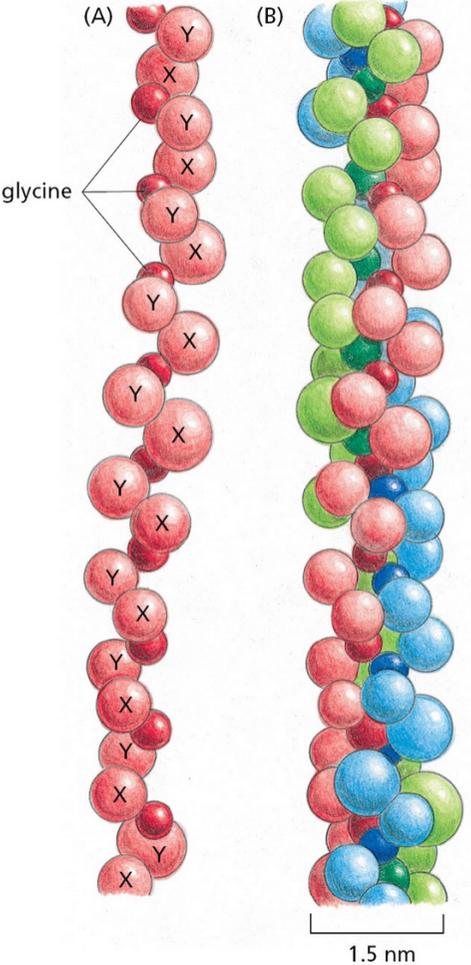
# Les protéoglycans sont composés de chaînes GAG liées de manière covalente à une protéine



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.

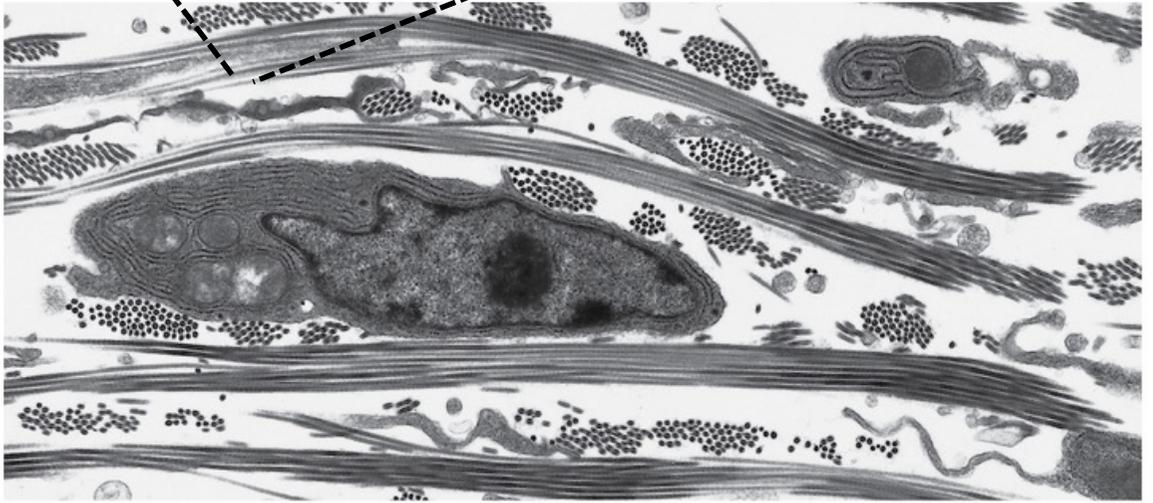
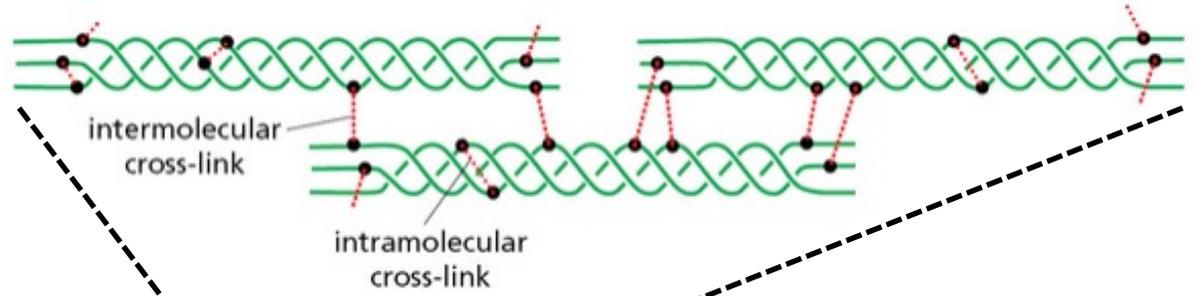
# Les collagènes

**A RETENIR !**



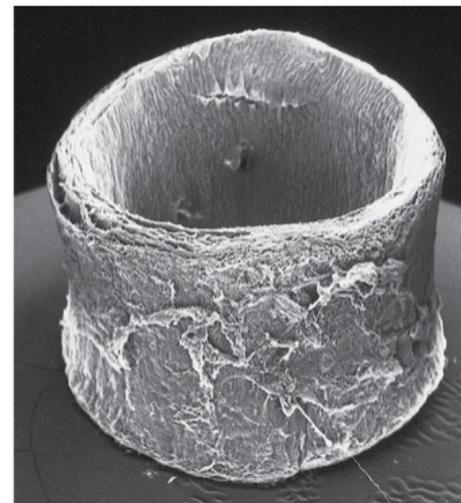
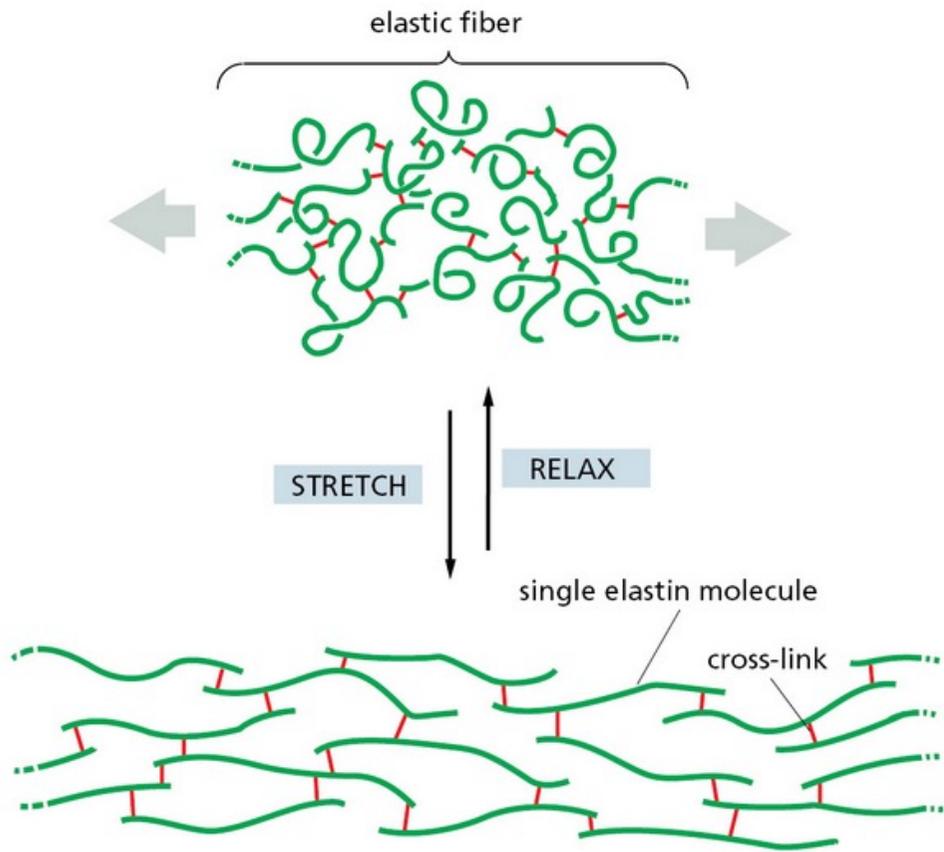
1 Chaîne  $\alpha$   
(1000 aa)

1 bâtonnet  
(= 3 chaînes  $\alpha$ )



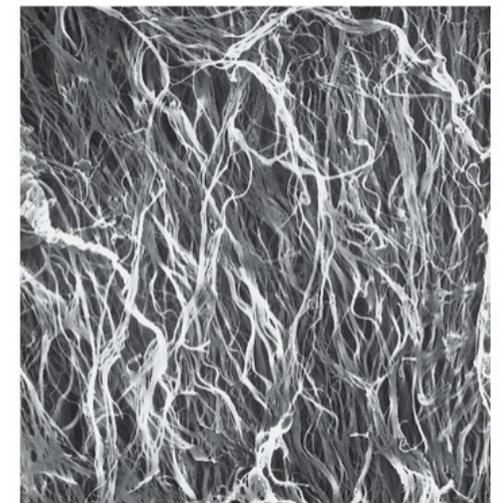
Fibres de collagènes

# Les élastines donnent au tissu leur élasticité



(A)

1 mm



(B)

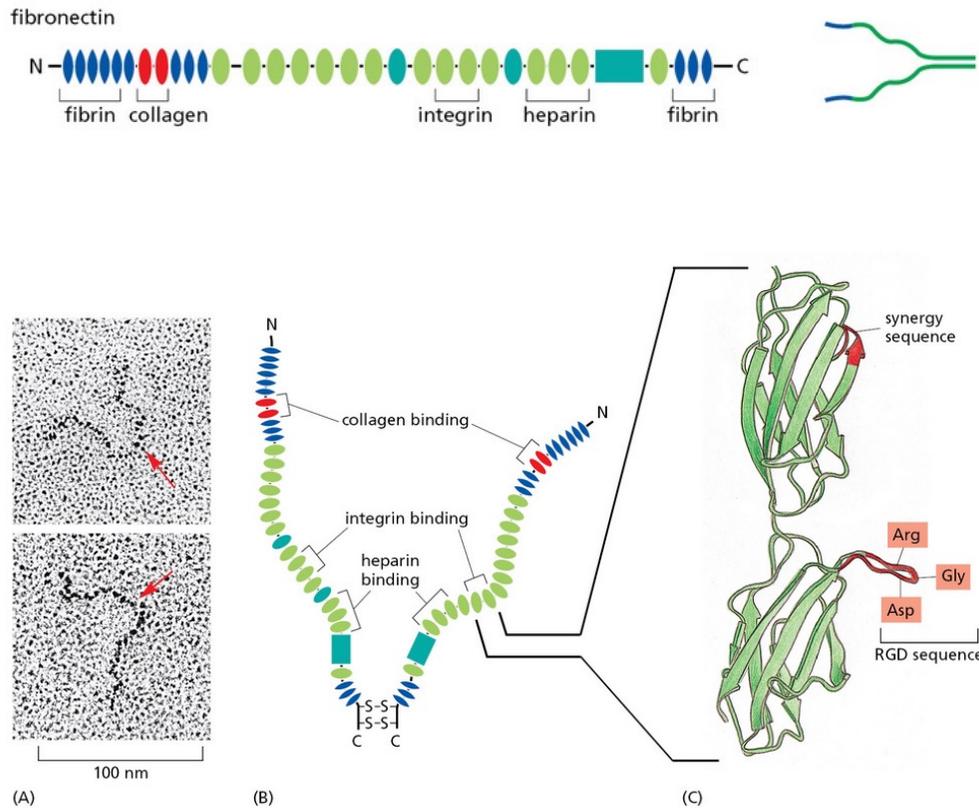
100 μm

Réseau d'élastine autour de l'aorte

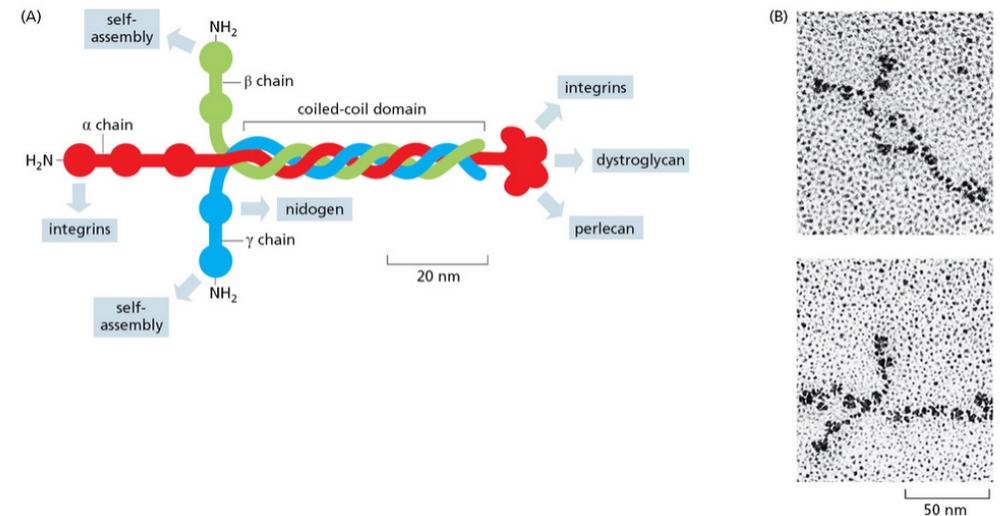
# La Fibronectine et la Laminine sont des glycoprotéines qui interagissent avec les intégrines et qui contribuent à l'organisation de la MEC

**A RETENIR !**

## A : La Fibronectine



## B: La Laminine



# La lame basale est une forme spécialisée de MEC

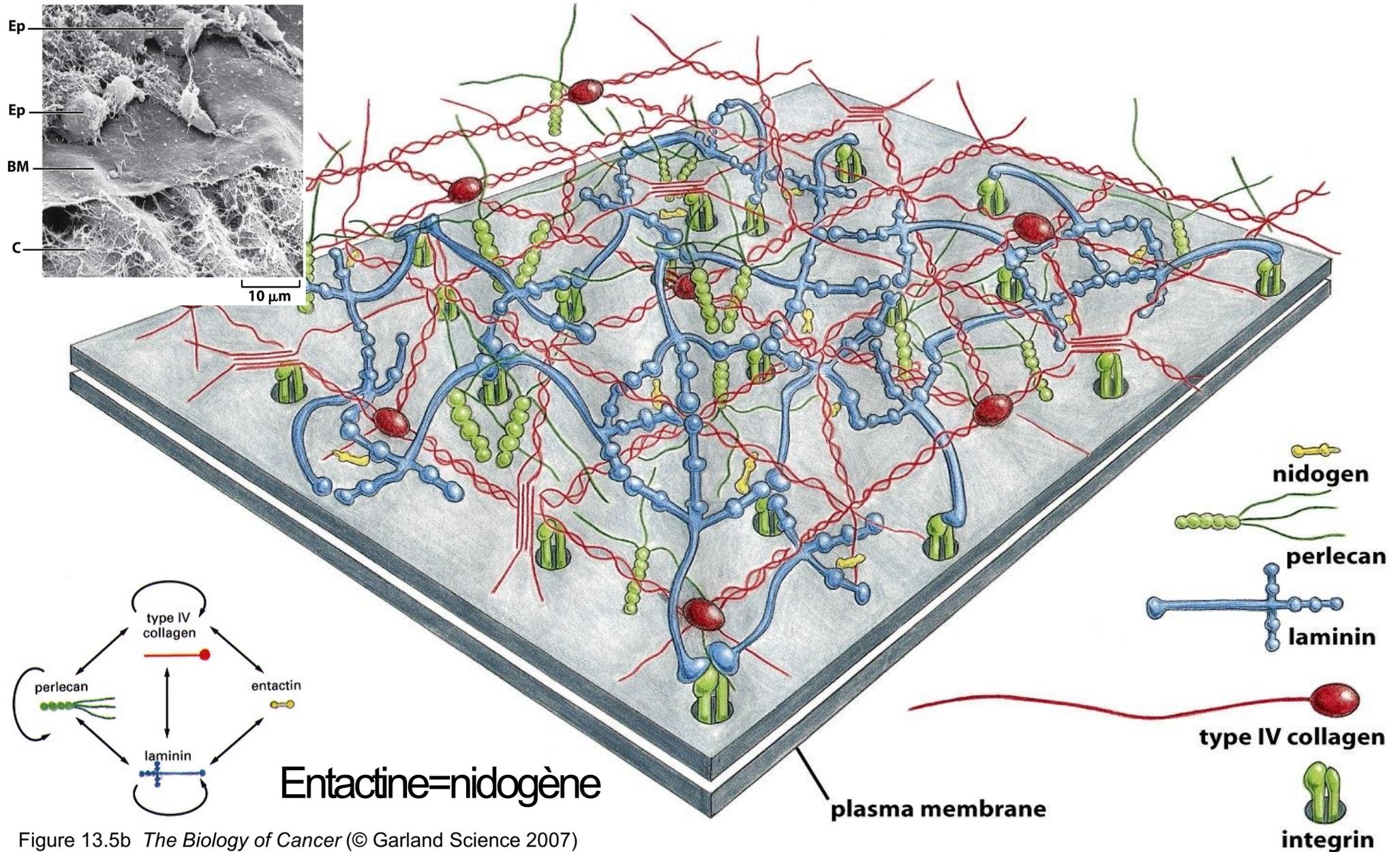


Figure 13.5b *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

# Les intégrines interagissent avec divers composants de la MEC

A RETENIR !

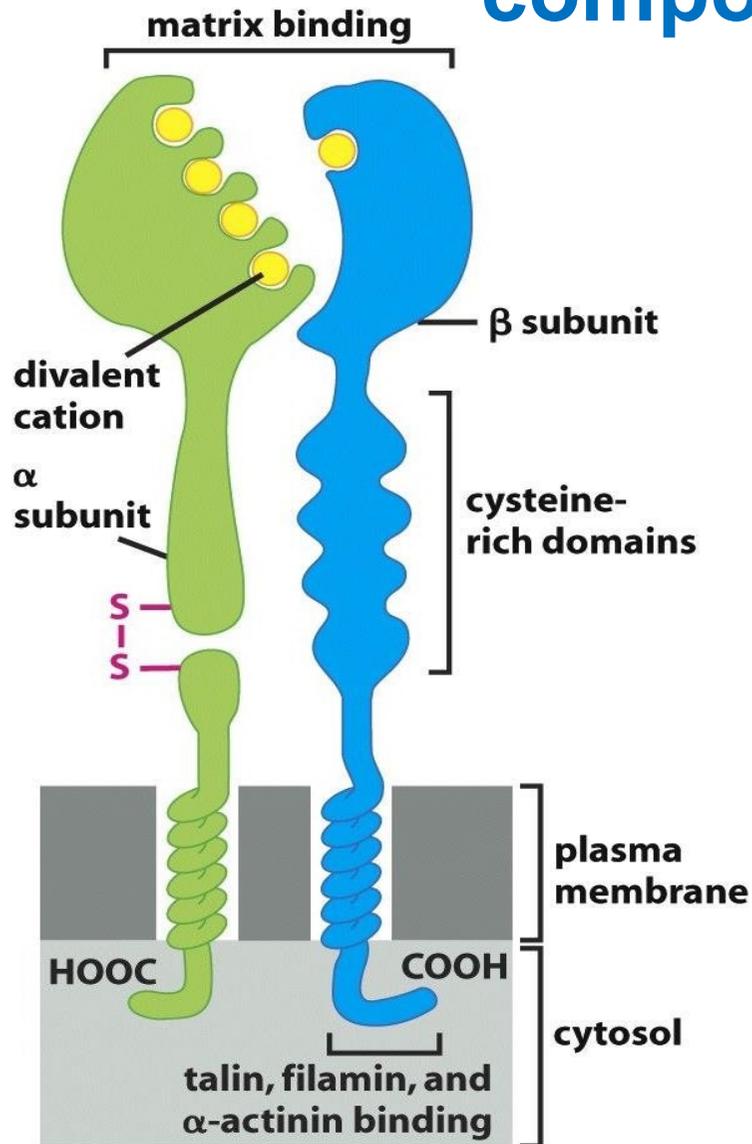
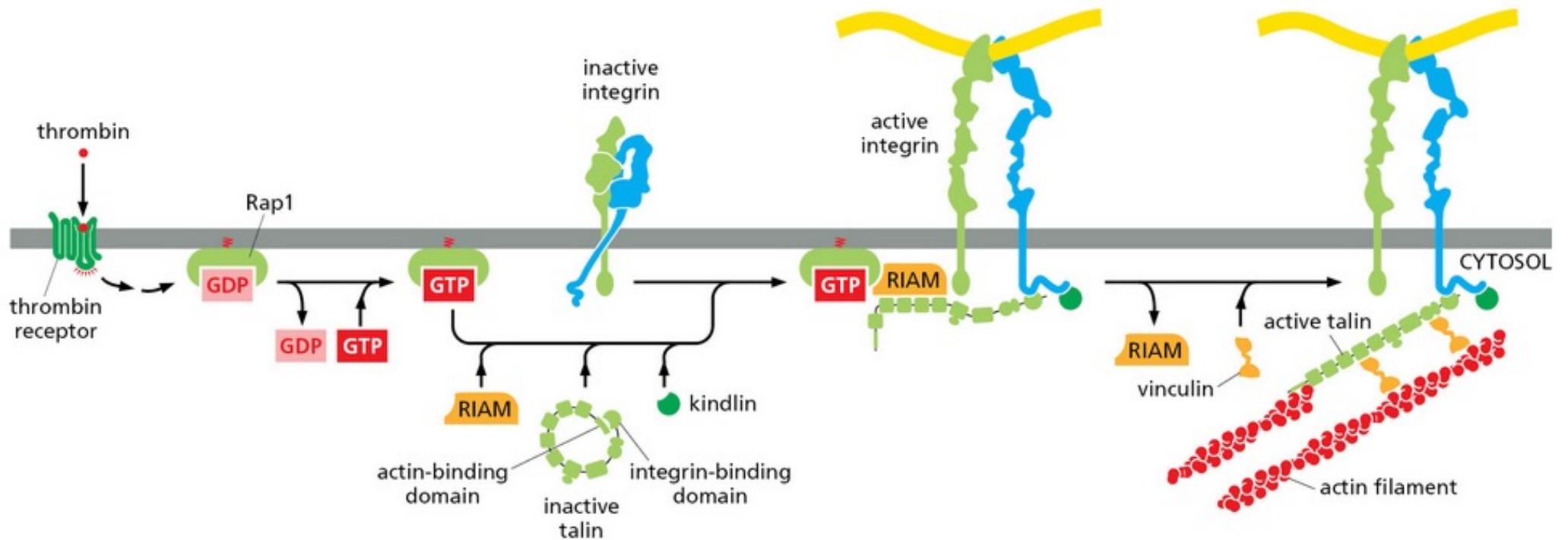


Table 5.4 Examples of integrins and their extracellular matrix ligands

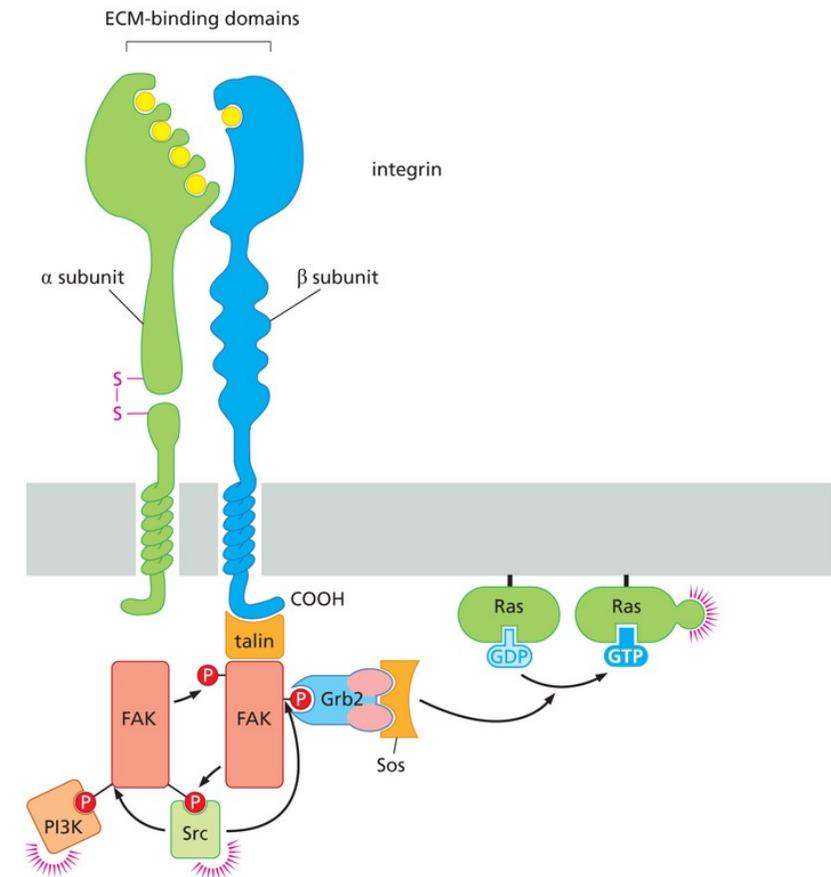
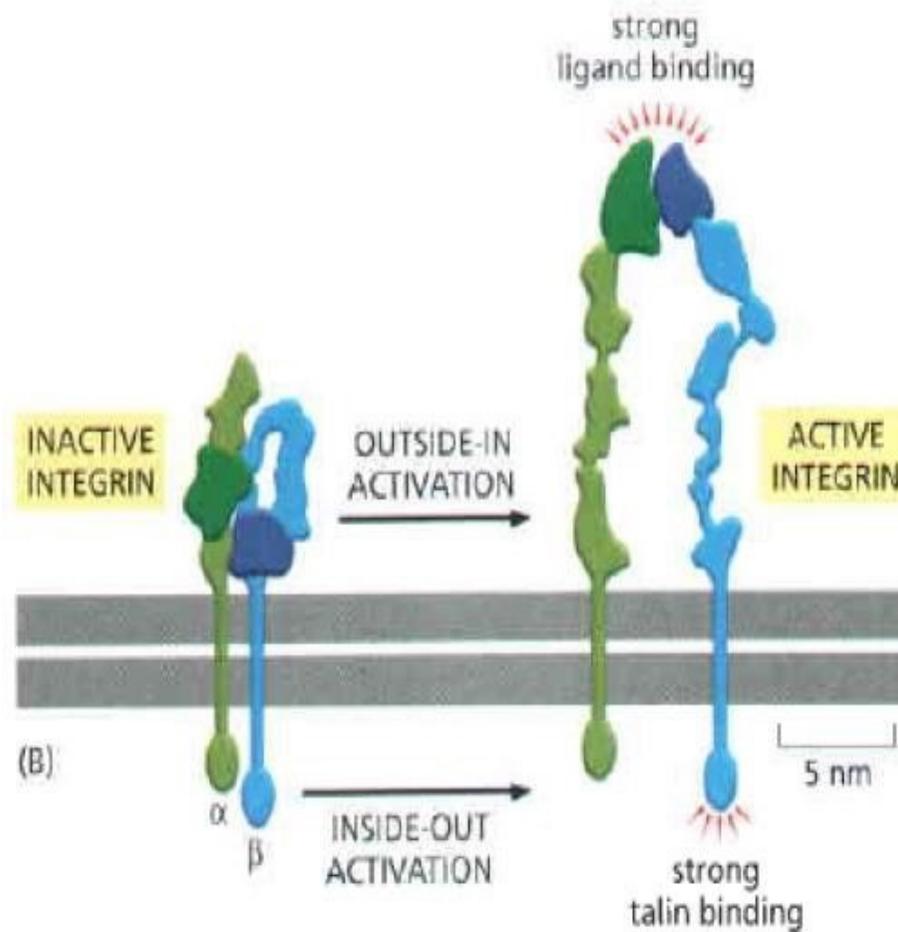
Integrin	ECM ligand
$\alpha 1\beta 1$	collagens, laminin
$\alpha 1\beta 1$	vitronectin, fibronectin
$\alpha v\beta 3$	vitronectin, fibrinogen, thrombospondin
$\alpha 5\beta 1$	fibronectin
$\alpha 6\beta 1$	laminin
$\alpha 7\beta 1$	laminin
$\alpha 2\beta 3$	fibrinogen
$\alpha 6\beta 4$	laminin-epithelial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



# Déclenchement d'une signalisation intracellulaire en réponse à l'activation des intégrines



Remarque: La survie des cellules in vitro dépend de leur attachement à un substrat !