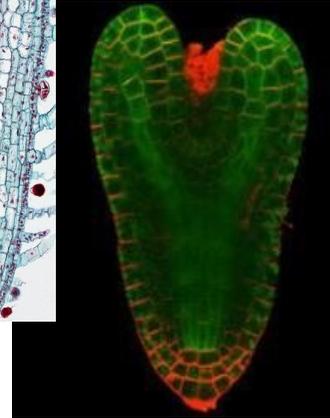
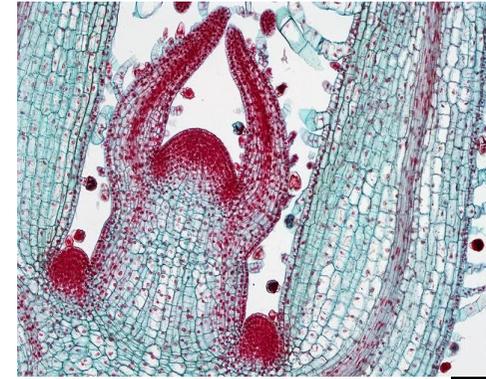
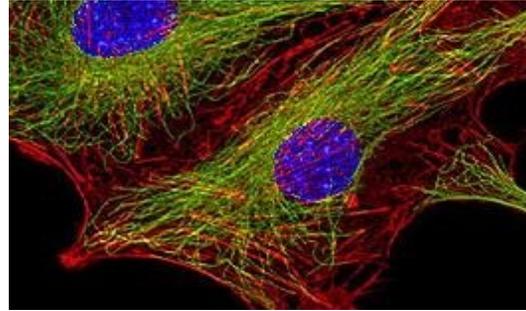
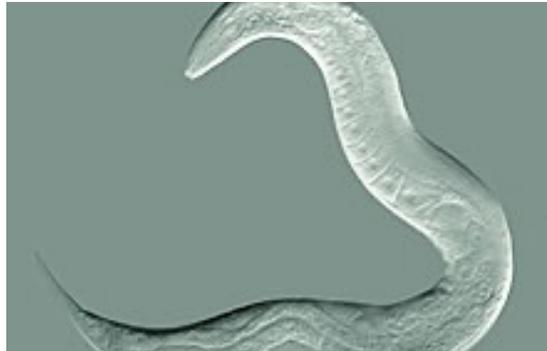


université
PARIS-SACLAY



UE Biologie cellulaire et développement



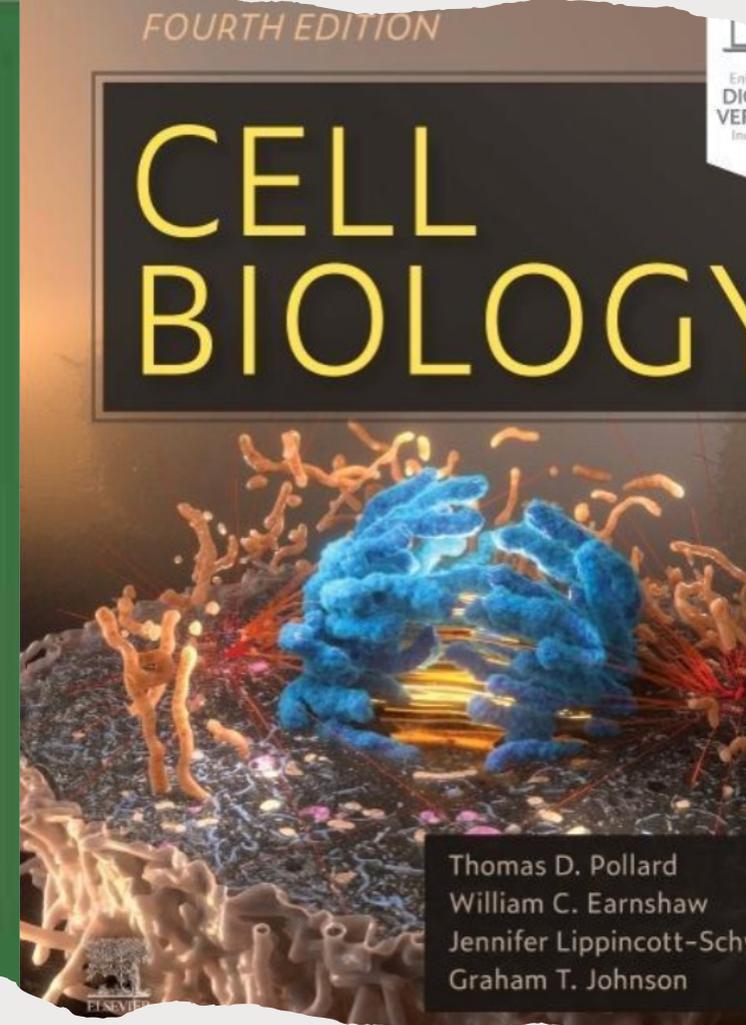
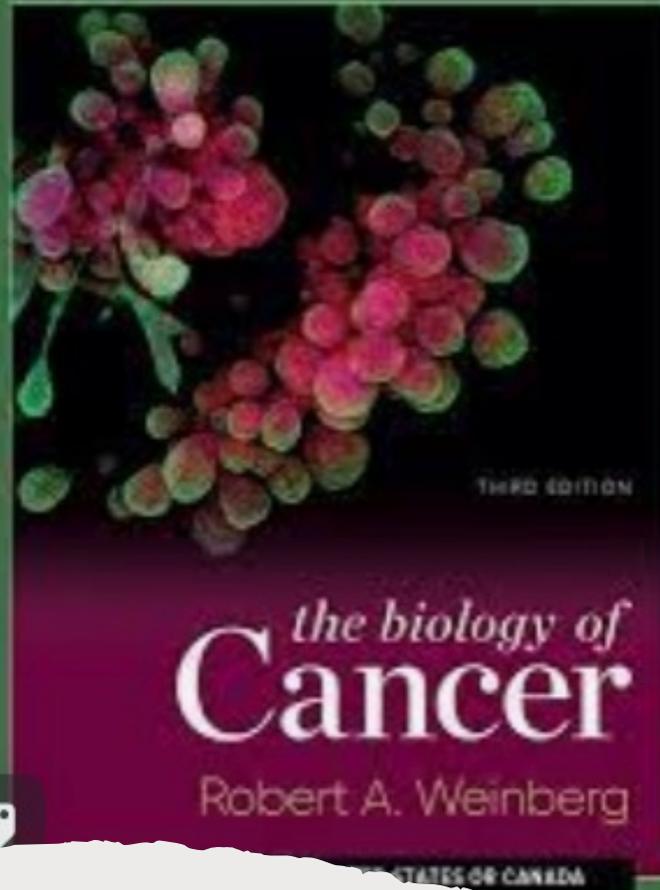
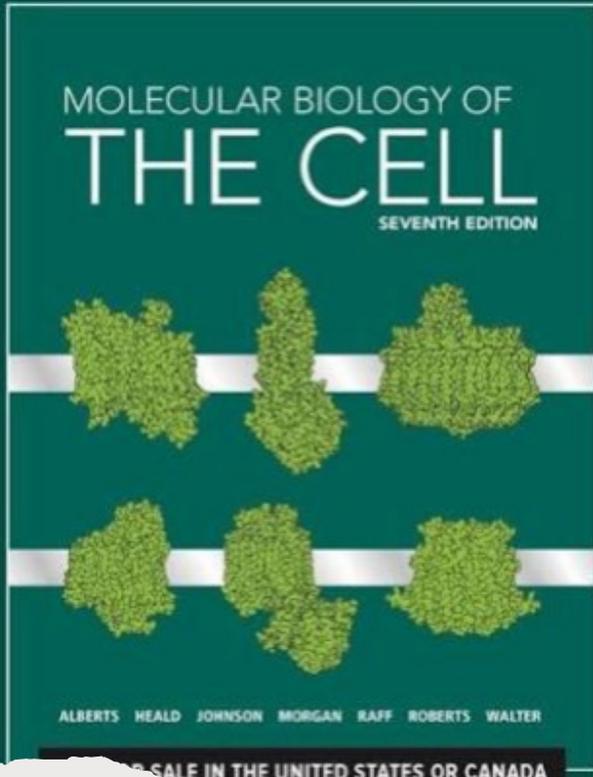
Boris BARDOT



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

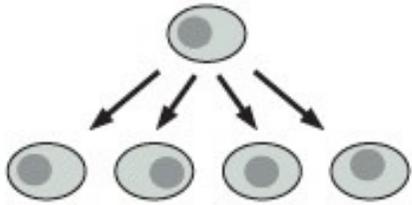
International Student Edition

International Student Edition

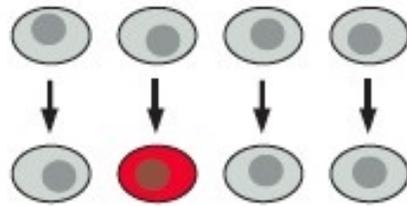


Lectures recommandées!

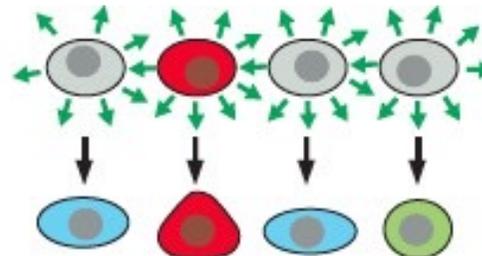
Comment créer un organisme multicellulaire ?



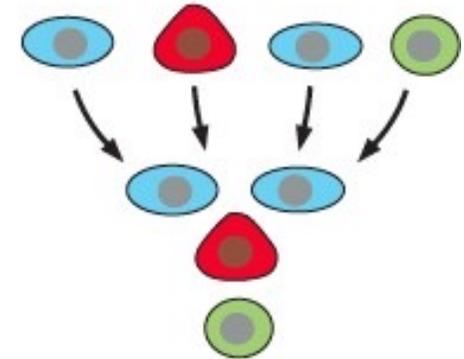
CELL PROLIFERATION



CELL SPECIALIZATION



CELL INTERACTION

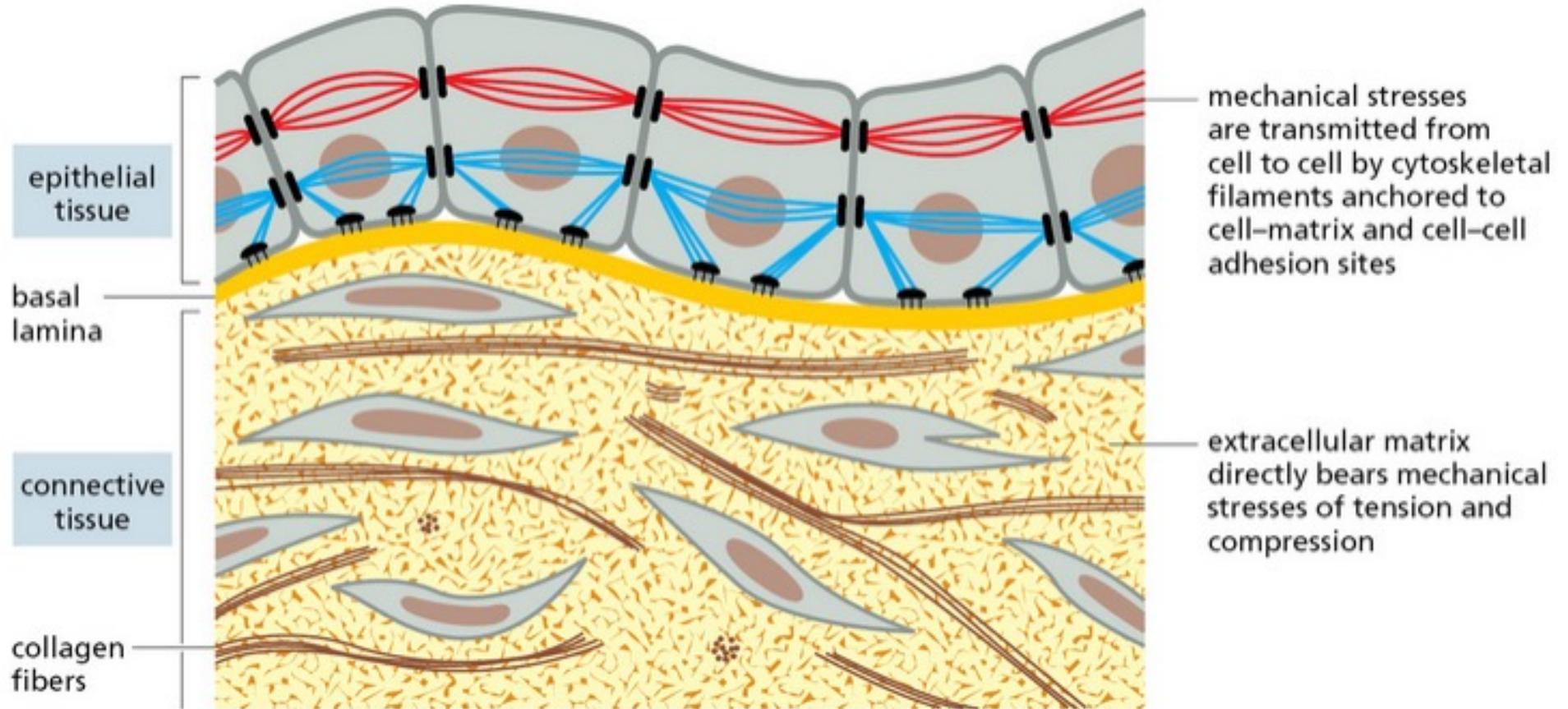


CELL MOVEMENT

A microscopic view of several cells, likely red blood cells, showing their characteristic biconcave shape and reddish color. The cells are clustered together, illustrating the concept of cell adhesion. The background is a soft, out-of-focus light purple and white.

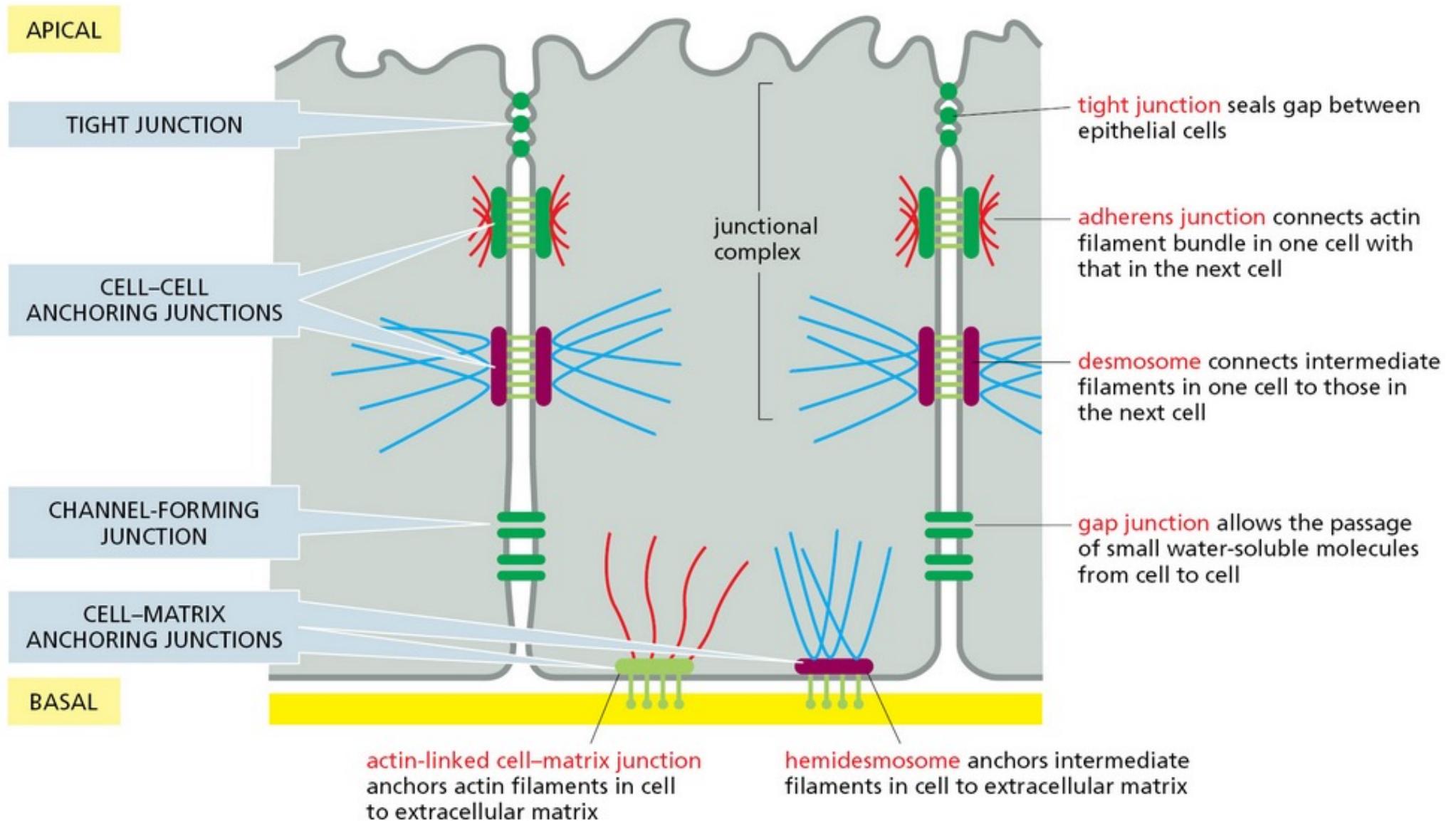
L'ADHESION CELLULAIRE

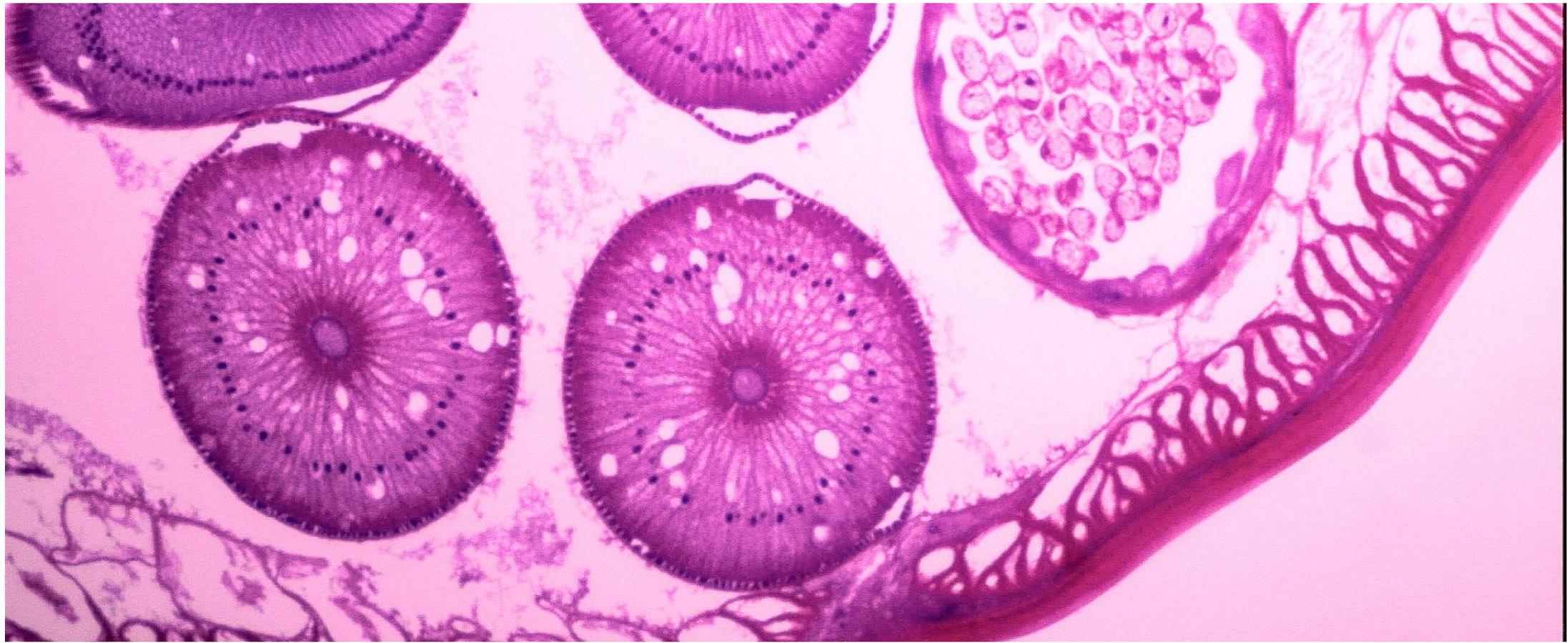
Epithéliums & tissus conjonctifs



Les jonctions cellulaires chez les vertébrés

A RETENIR !

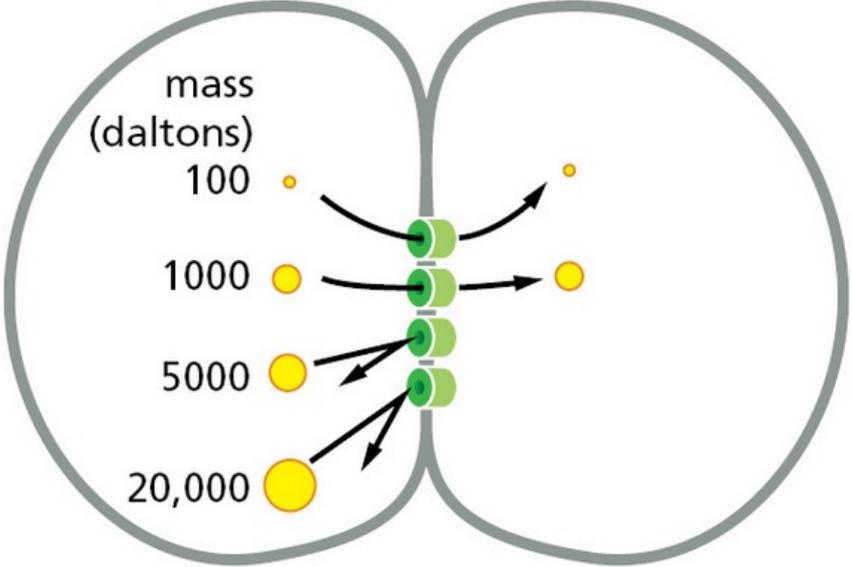
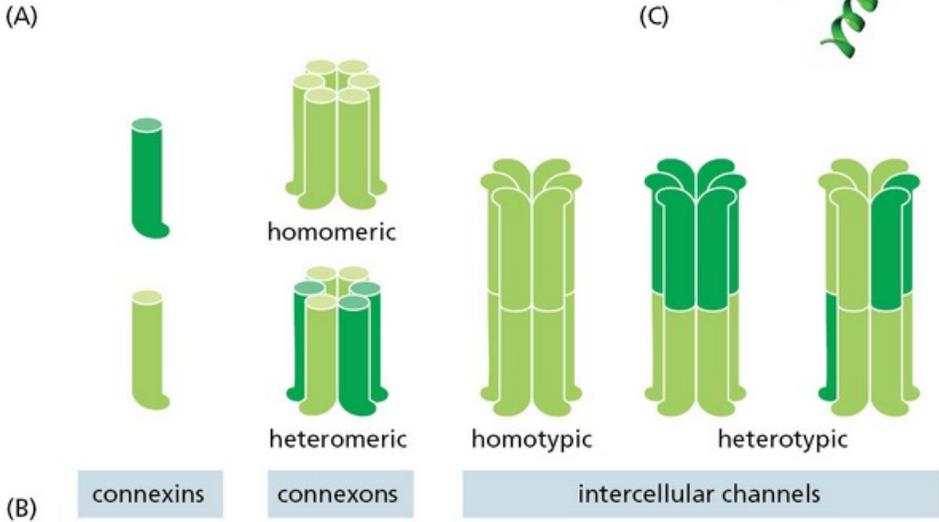
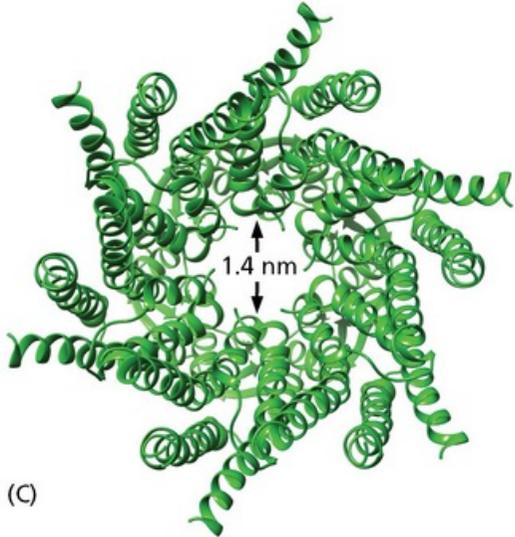
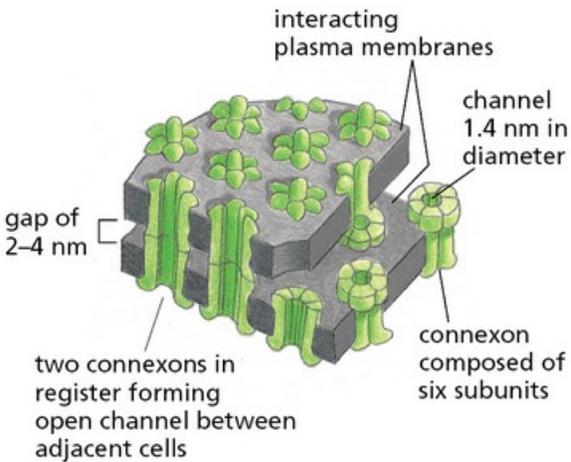




Les jonctions cellules-cellules

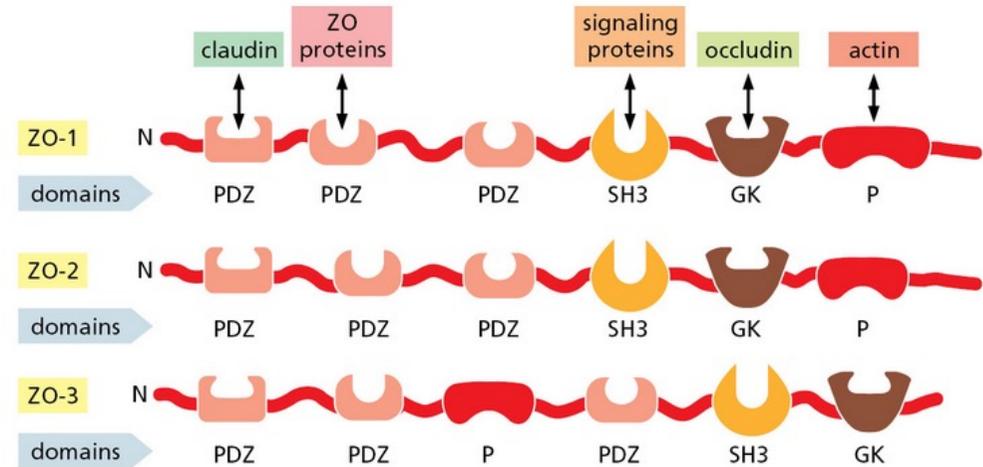
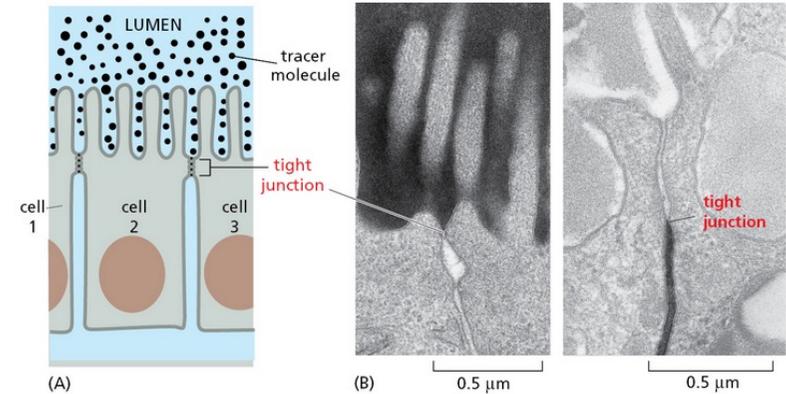
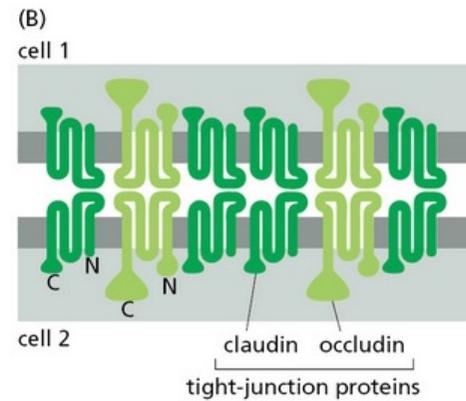
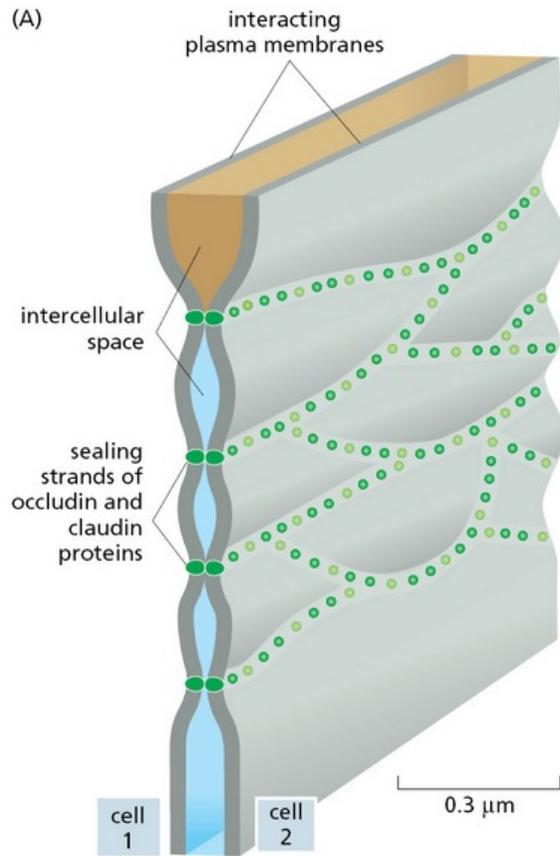
Les jonctions GAP

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! (voir cours signalisation)

Les jonctions serrées

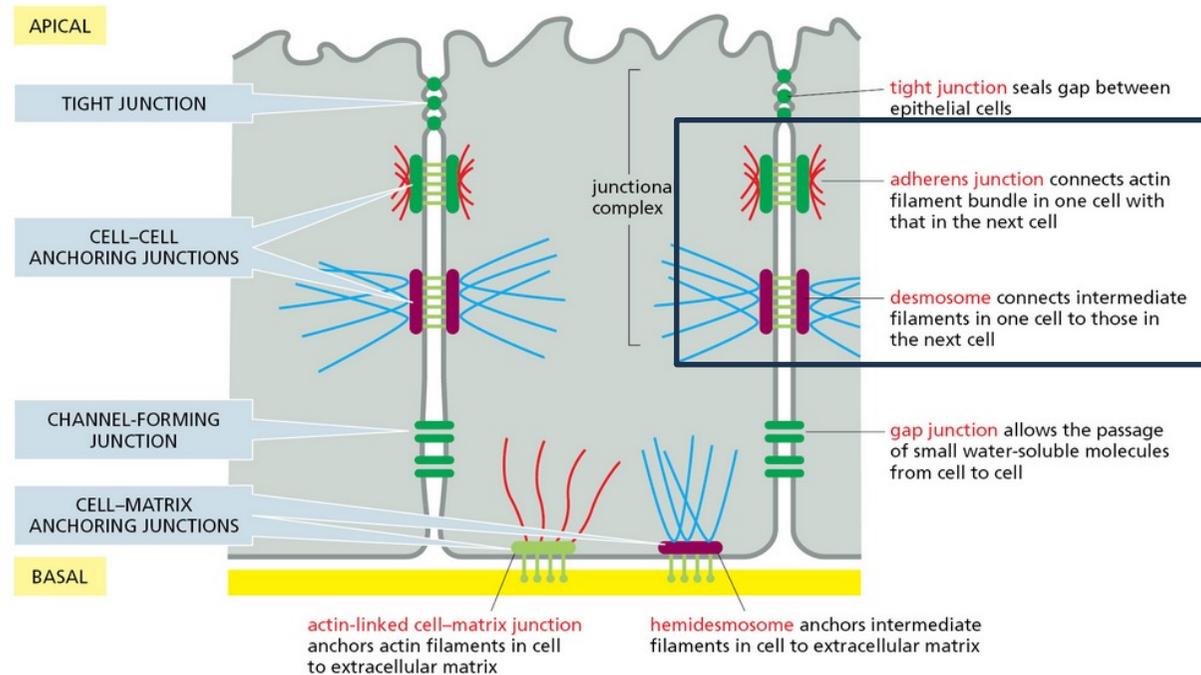


Les jonctions serrées empêchent le passage de molécules sauf les ions!

Zonula Occludens (ZO) protéines sont des protéines adaptatrices

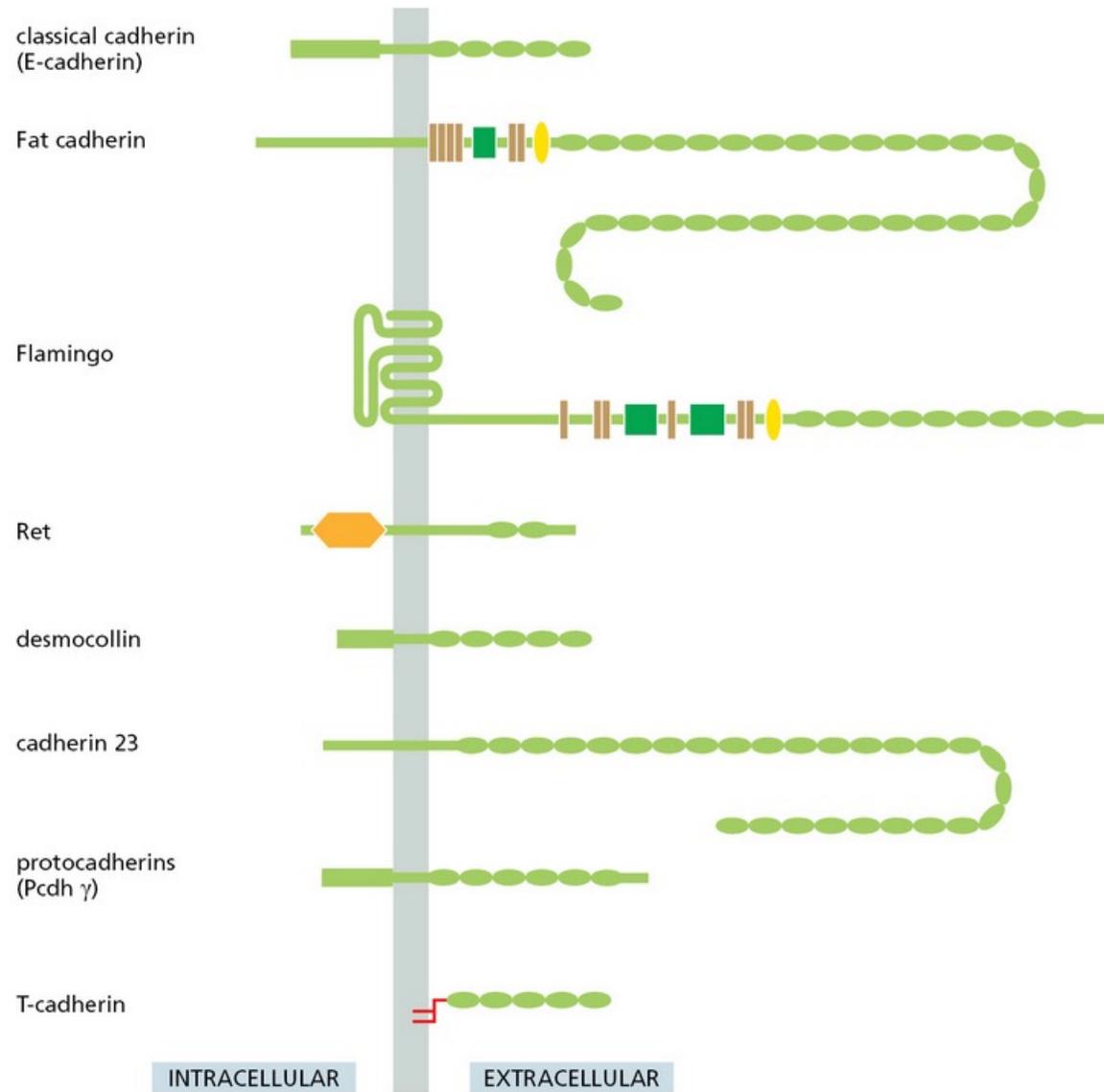
Des souris KO pour le gène claudin-1 meurent le jour de leur naissance à cause d'une perte d'eau massive par évaporation au niveau de la peau!

Cadhérines, jonctions adhérentes et desmosomes



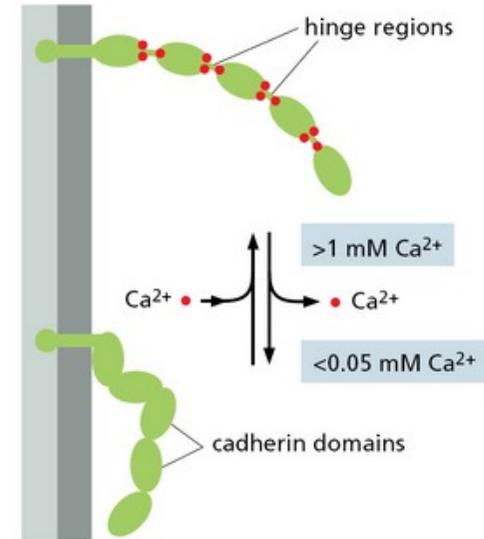
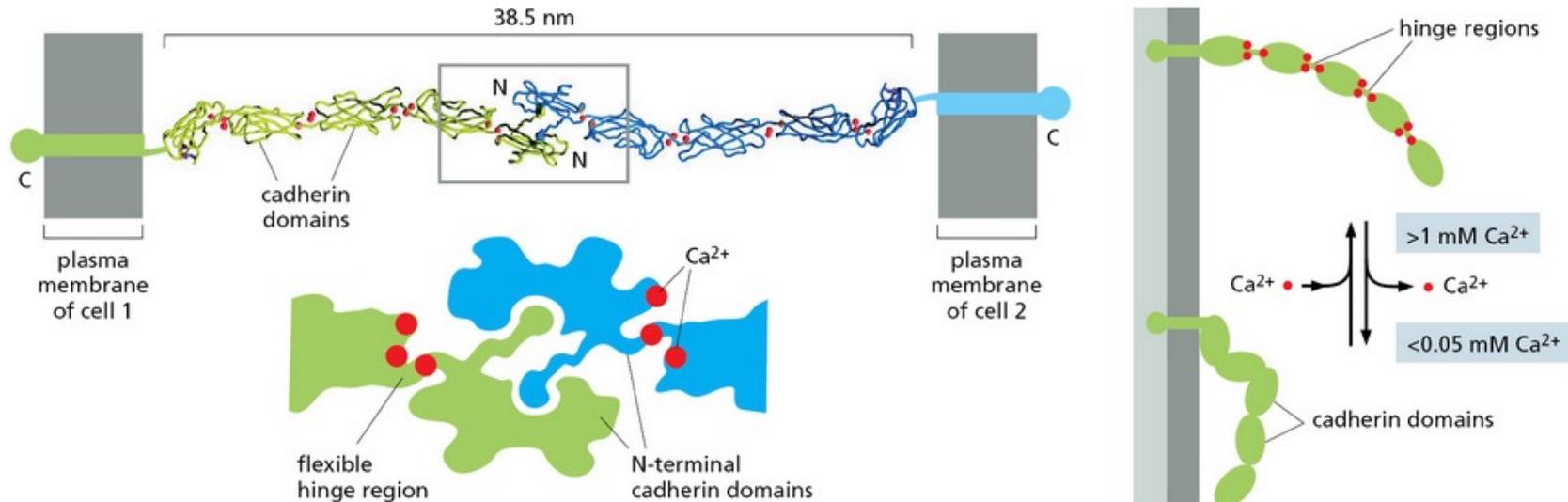
Junction	Transmembrane adhesion protein	Extracellular ligand	Intracellular cytoskeletal attachment	Intracellular adaptor proteins
Cell-cell				
Adherens junction	Classical cadherins	Classical cadherin on neighboring cell	Actin filaments	α -Catenin, β -catenin, p120-catenin, vinculin
Desmosome	Nonclassical cadherins (desmoglein, desmocollin)	Desmoglein and desmocollin on neighboring cell	Intermediate filaments	Plakoglobin, plakophilin, desmoplakin

La superfamille des cadhérines



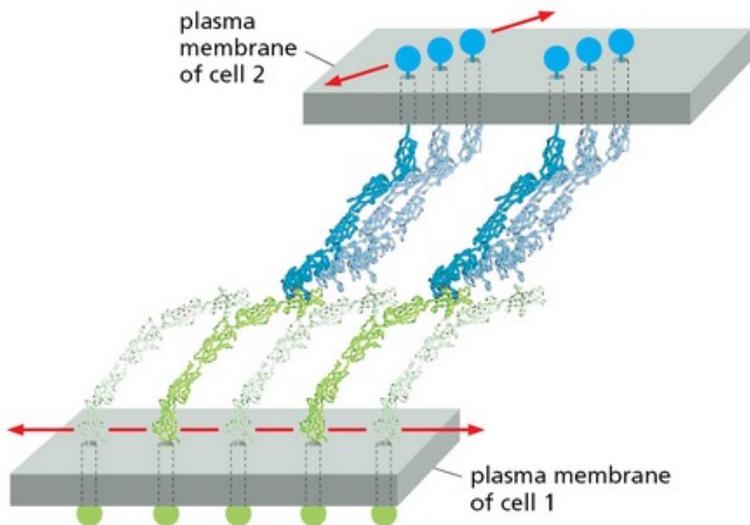
Structure et fonction des cadhérines

A RETENIR !



(A)

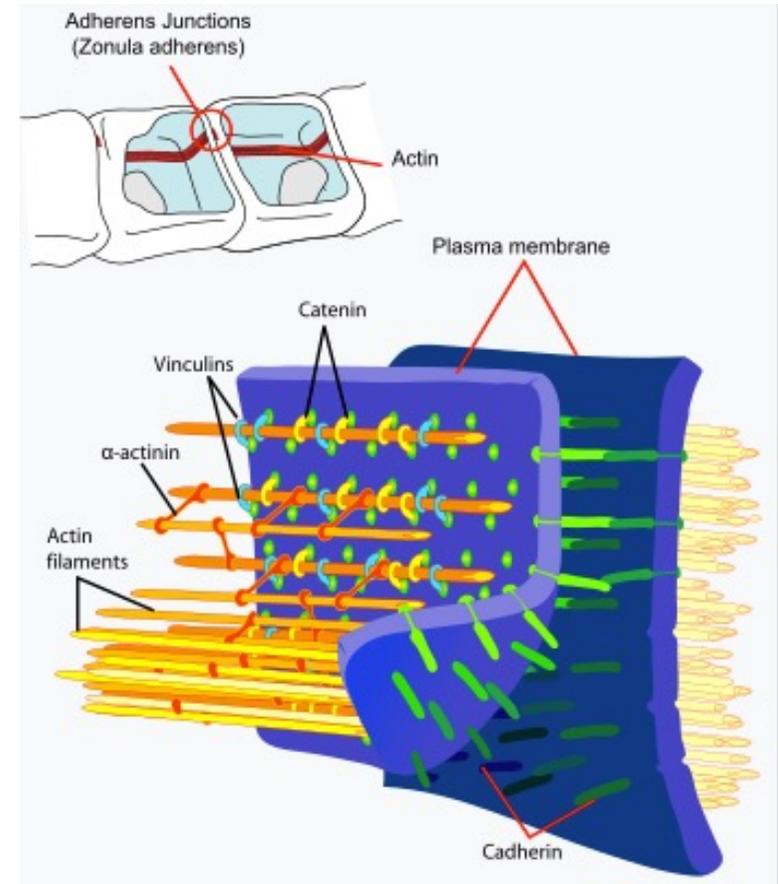
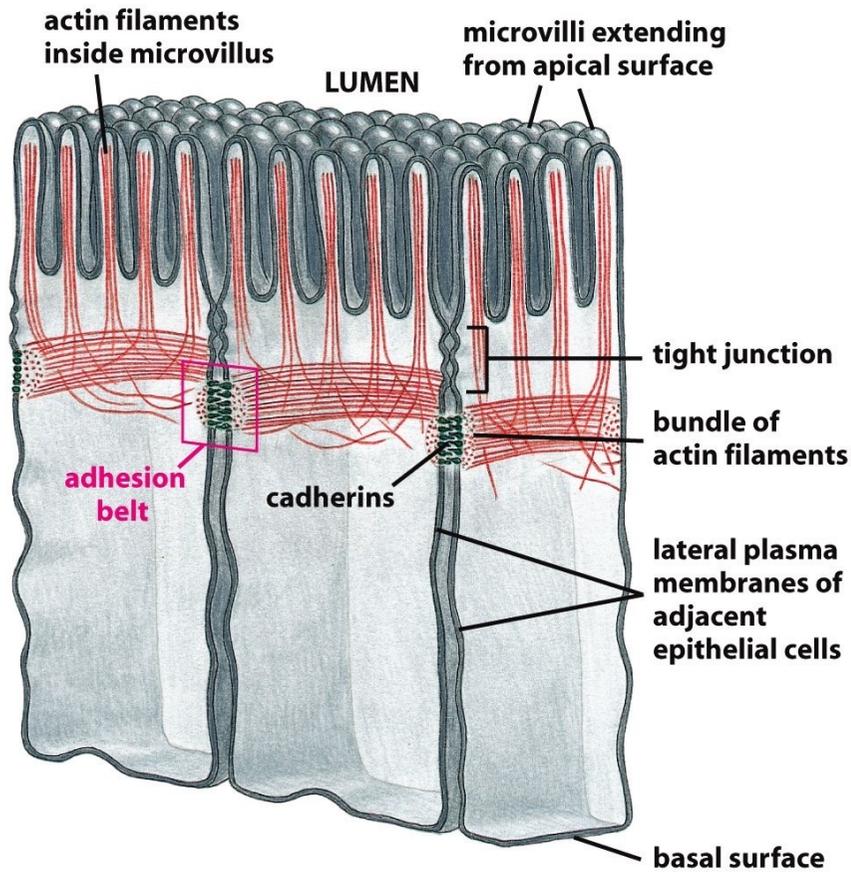
(B)



(C)

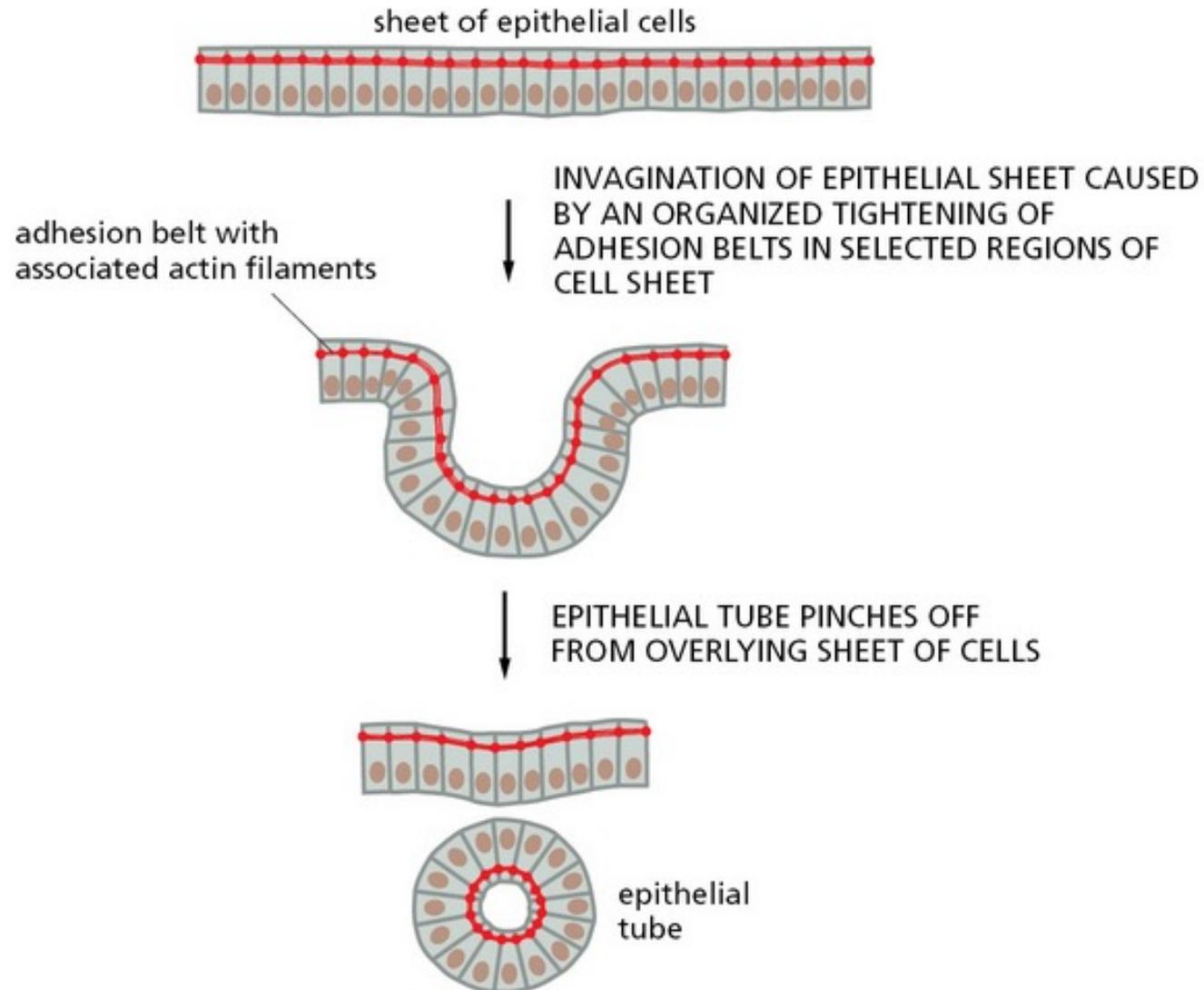
Jonctions adhérentes et cytosquelette d'actine

A RETENIR !

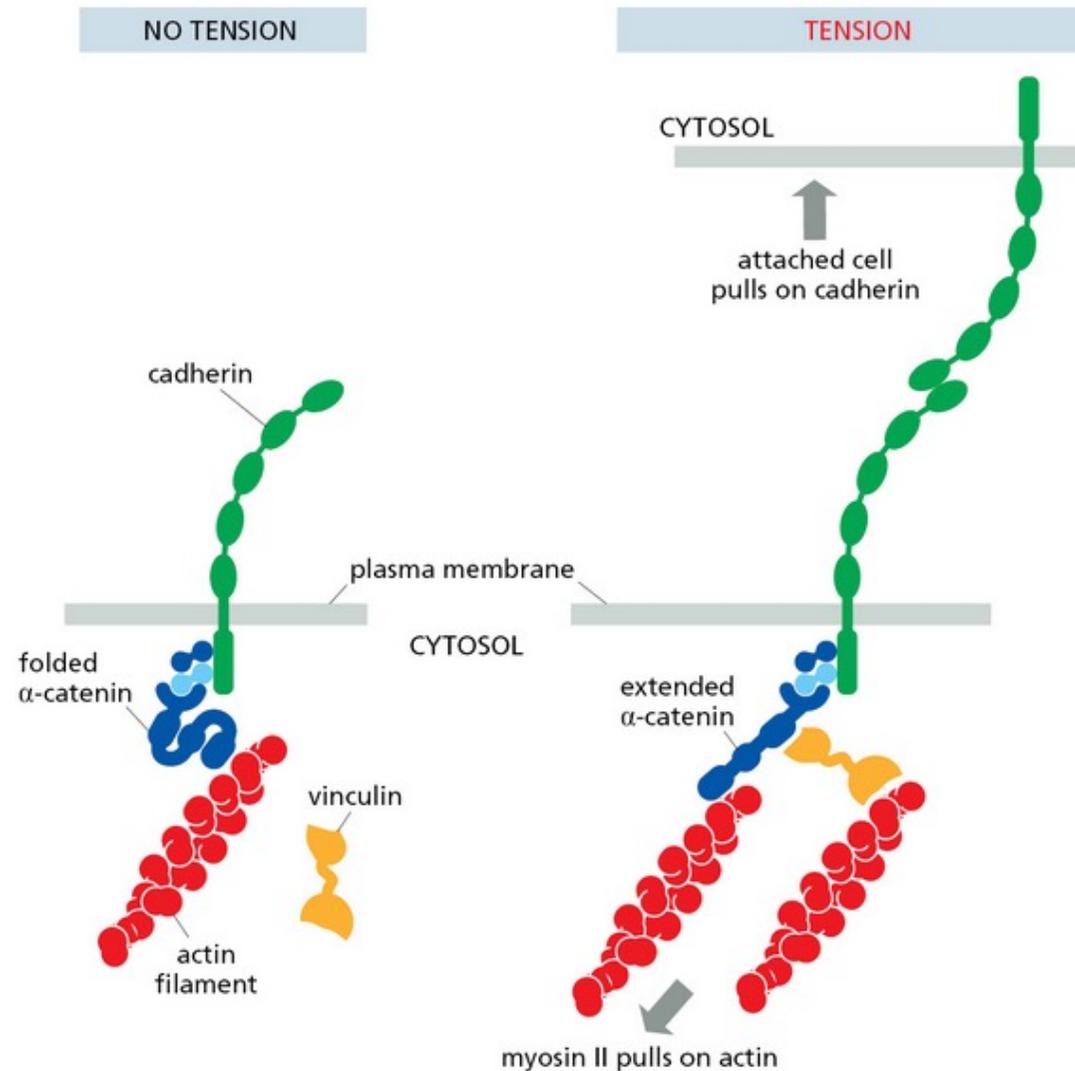


Jonctions adhérentes
au niveau de l'épithélium intestinal

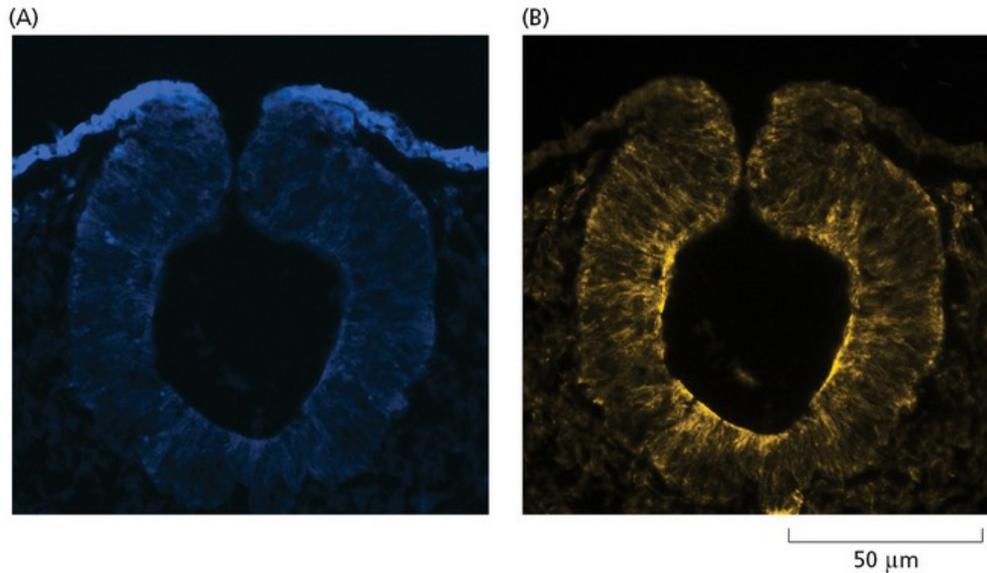
Jonctions adhérentes, cadhérines, ceinture d'adhérence et développement du tube neural (1/2)



Couplage entre force de tension exercée entre cellules adhérentes et contraction de la ceinture d'adhérence

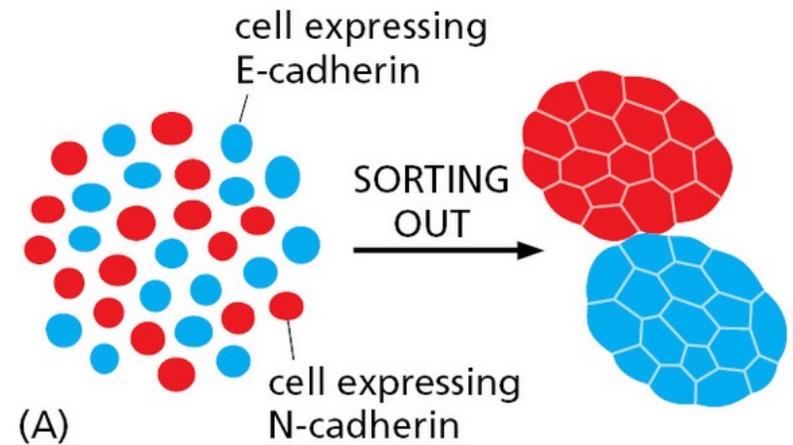


Jonctions adhérentes, cadhérines et développement du tube neural (2/2)

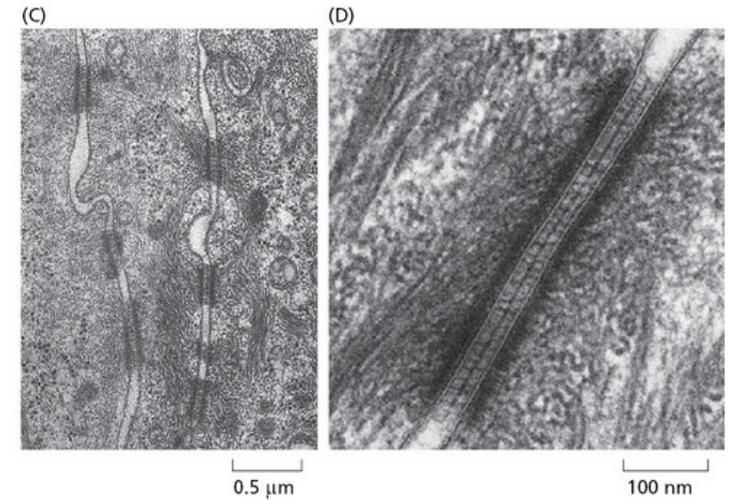
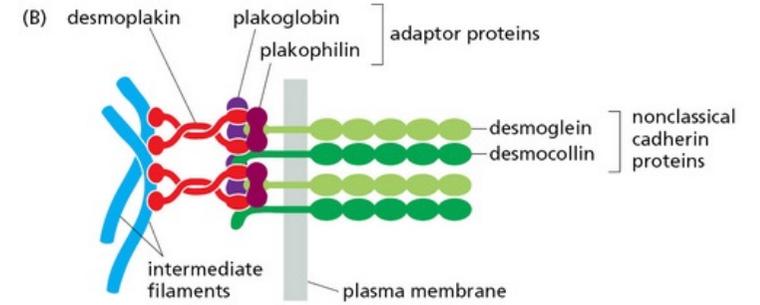
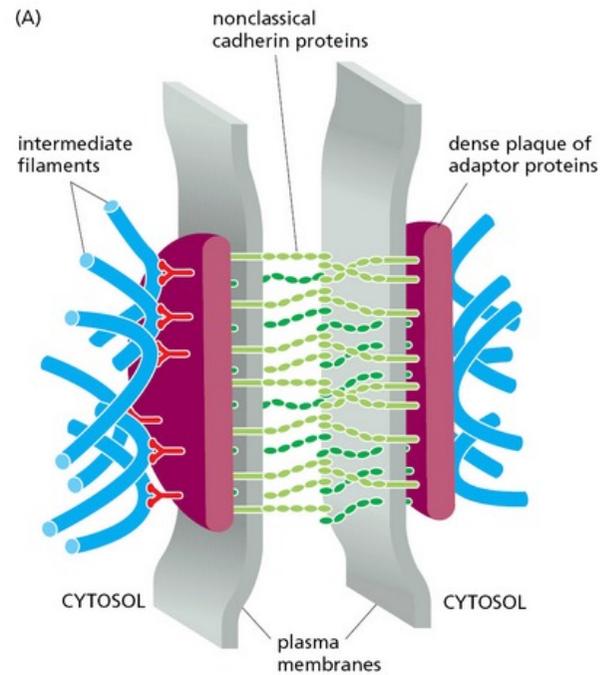
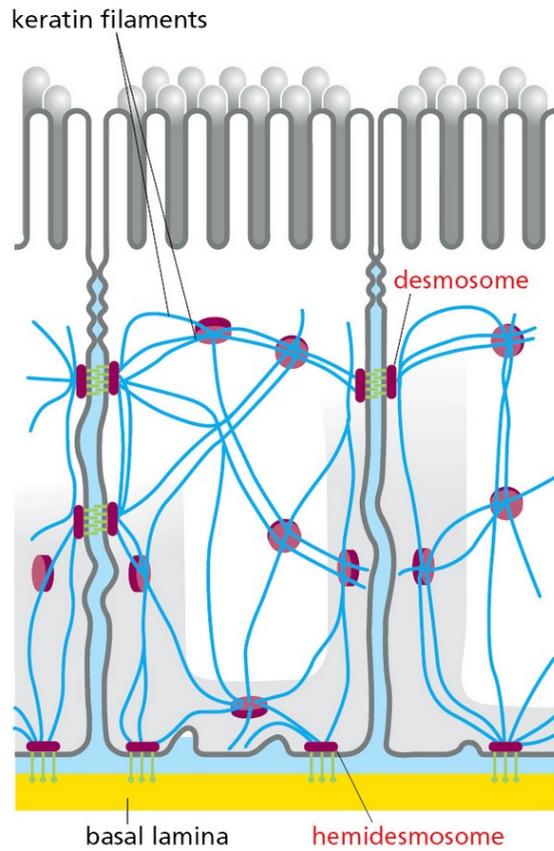


E-Cadherin

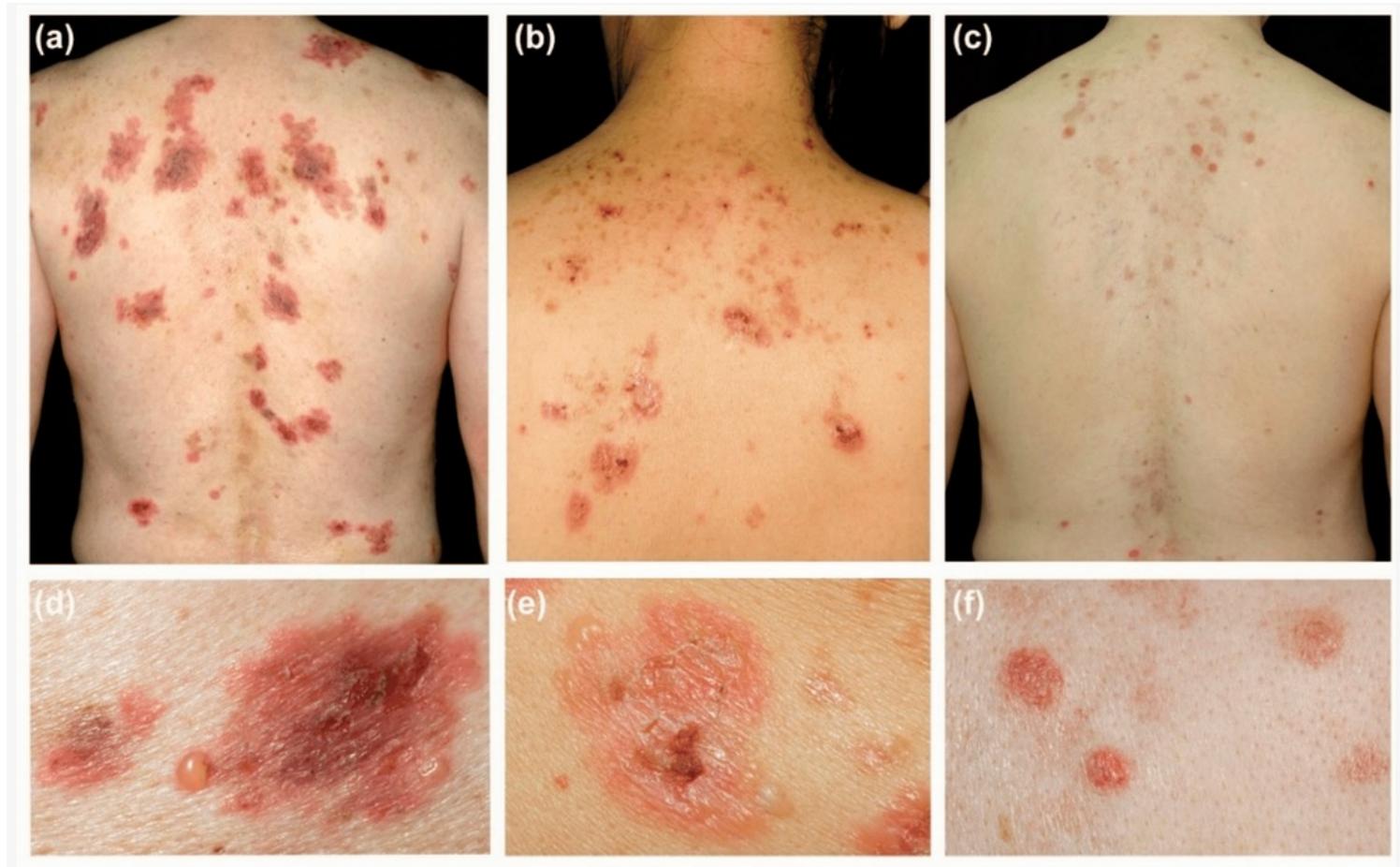
N-Cadherin



Les desmosomes



FOCUS: Pemphigus une maladie auto-immune liée à la production d'autoanticorps contre les desmosomes



Yung-Tsu Cho et al, Biomedicines 2022

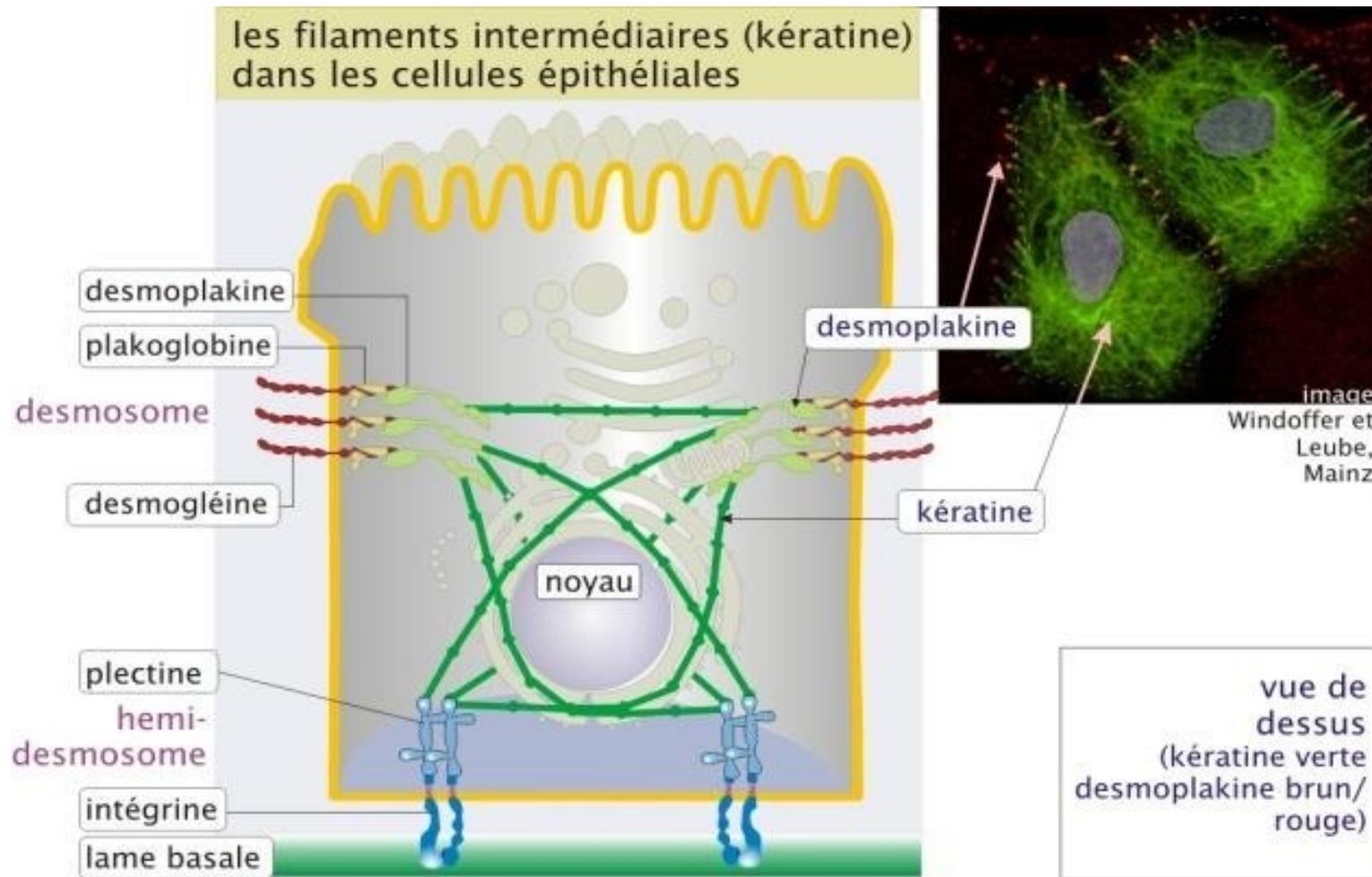
Les filaments intermédiaires

Environ 50 membres répartis en 6 classes
Nature très variée

Classe	Nom	Nb de gènes	PM kDa	Association	Expression prédominante dans
1	kératine acide	18	40-65	avec classe 2	cellule épithéliale
2	kératine basique	18	51-86	avec classe 1	cellule épithéliale
3	desmine	1	53	homopolymère	cellule musculaire
	GFAP Glial Fibrillary Acidic Protein	1	50	homopolymère	cellule gliale
	périphérine	1	57	homopolymère	neurones
	synénine	1	190	avec membre de classe 3	cellules musculaires
	vimentine	1	54	homo ou hétéro	fibroblastes
4	neurofilament L, M et H	3	70-200	avec L, M ou H de cette classe	neurones
	alpha-internexine	1	55	homopolymère	neurones embryonnaires
5	lamine	4	62-72	homopolymère	toutes cellules (noyau)
6	Nestine	1	230	homopolymère	neurones embryonnaires, myocytes

Unisciel

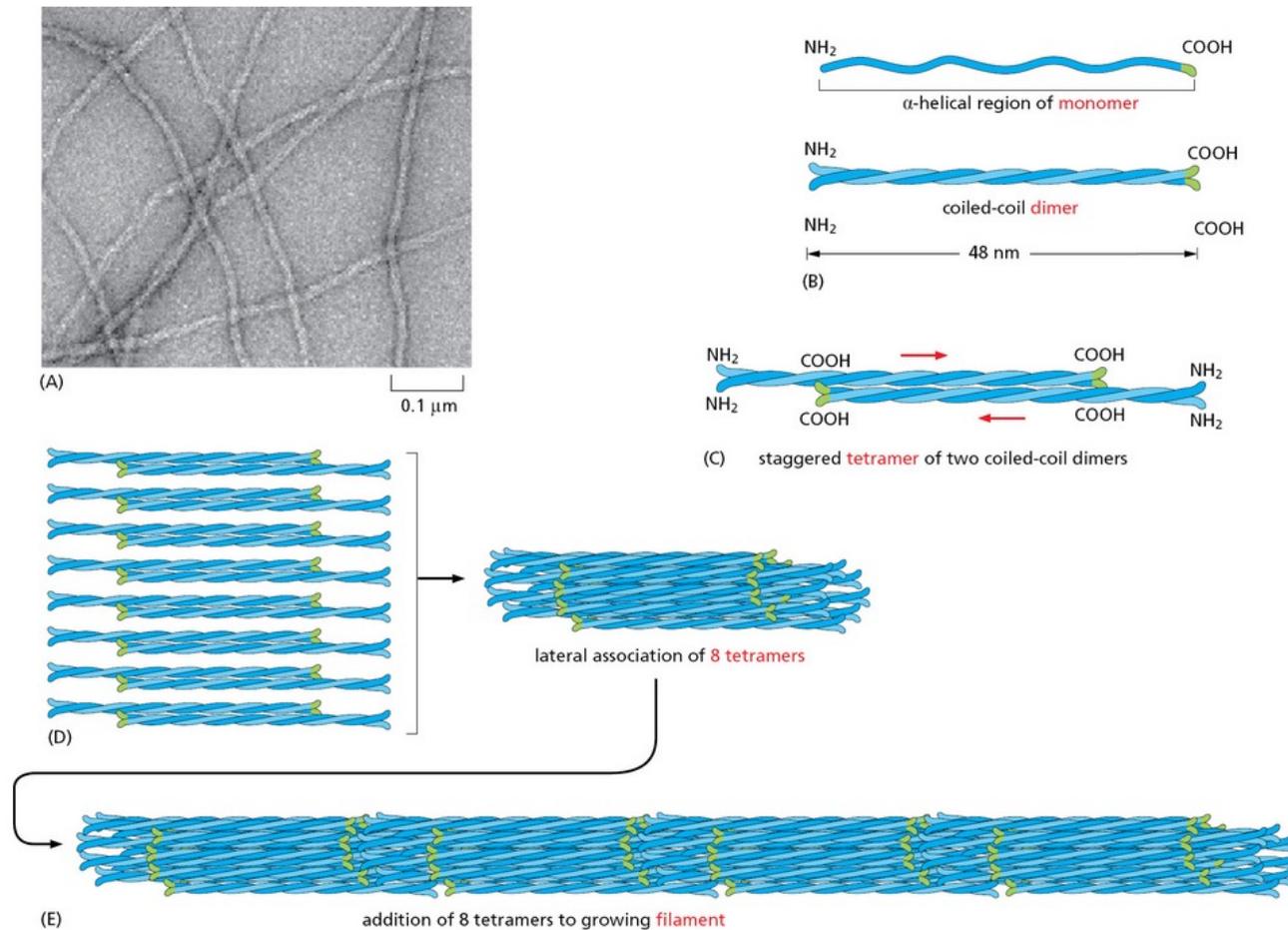
Les filaments intermédiaires



Unisciel

Les filaments intermédiaires

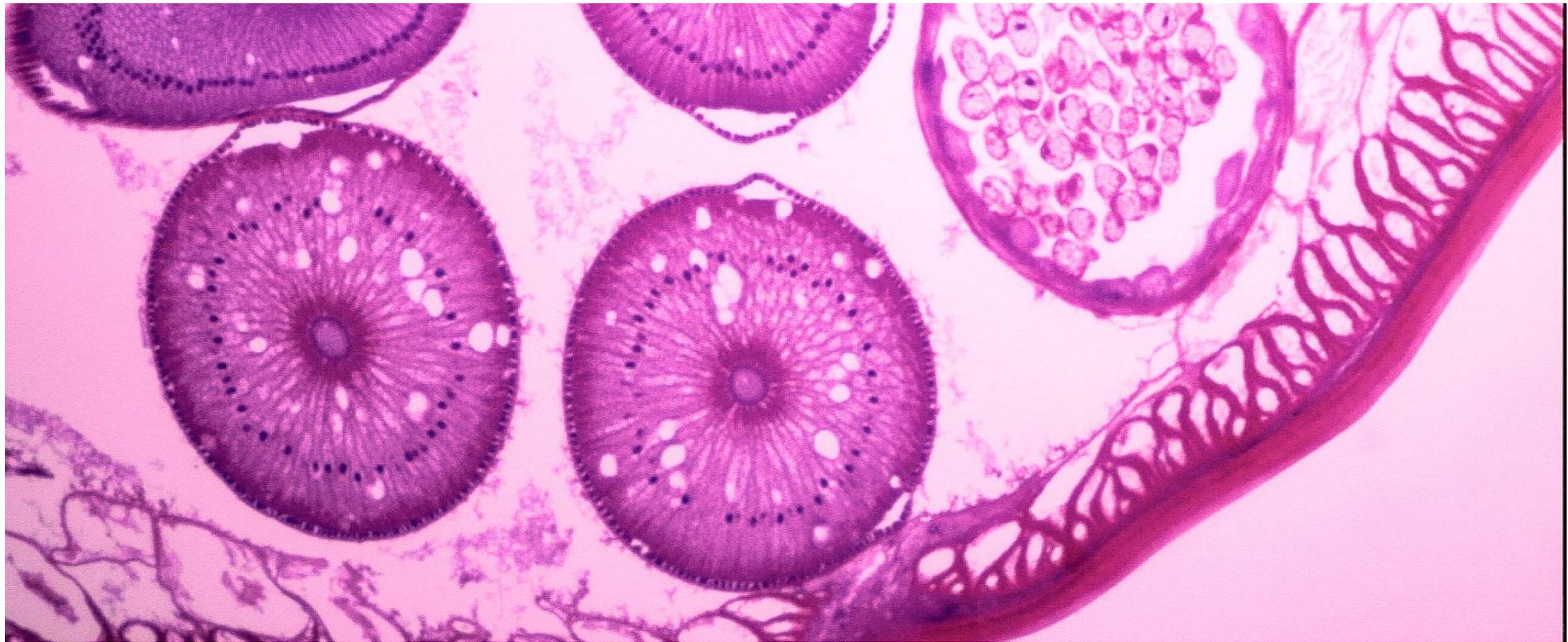
Ne sont pas « dynamiques » comme actine et tubuline



= molécule fibreuse qui s'associe en dimère, puis en tétramère

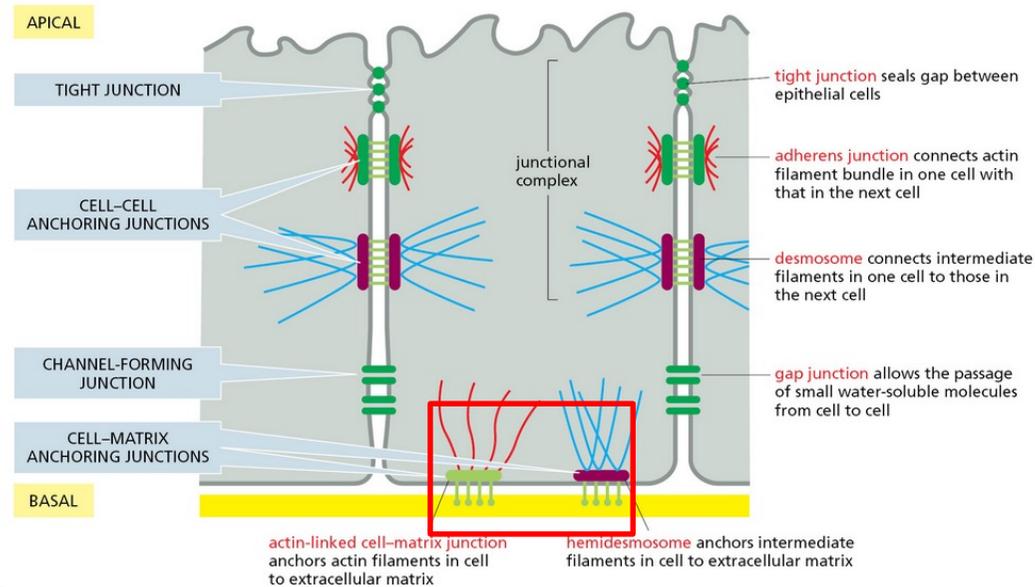
Polymérisation peut dépendre de l'état de phosphorylation

Ex: lamine phosphorylée se dissocie



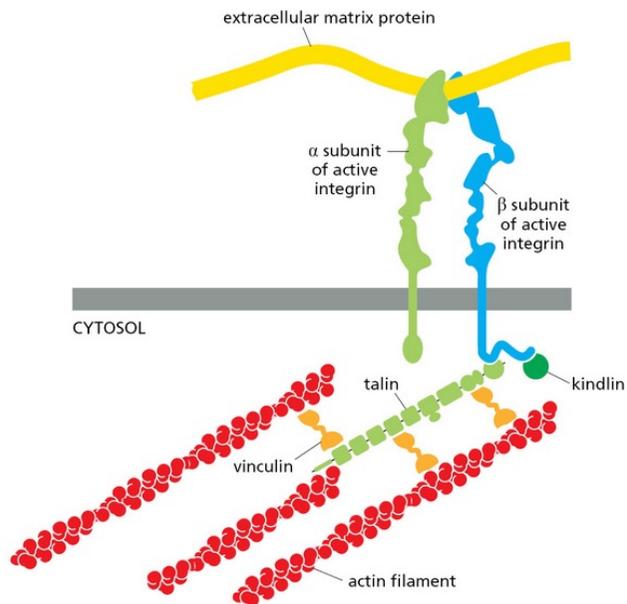
Les jonctions cellules - matrice extracellulaire

Intégrines et jonctions cellules – MEC

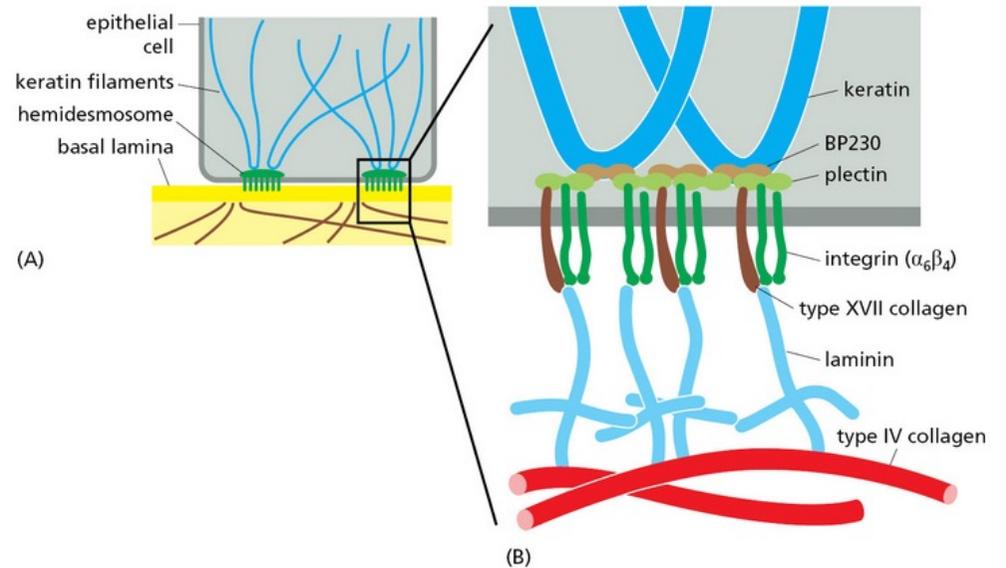


A RETENIR !

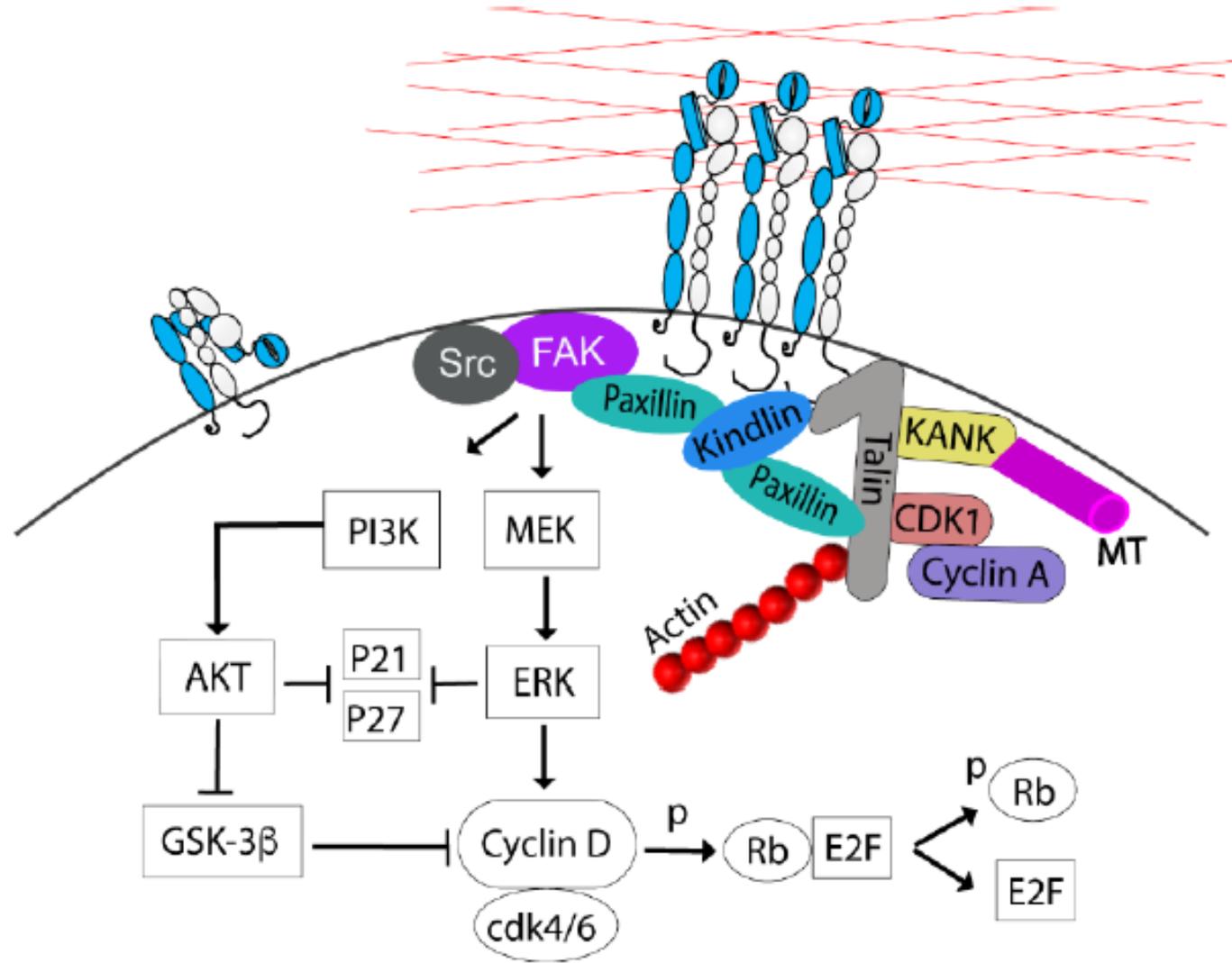
Jonction cellule – MEC liée au cytosquelette d'actine

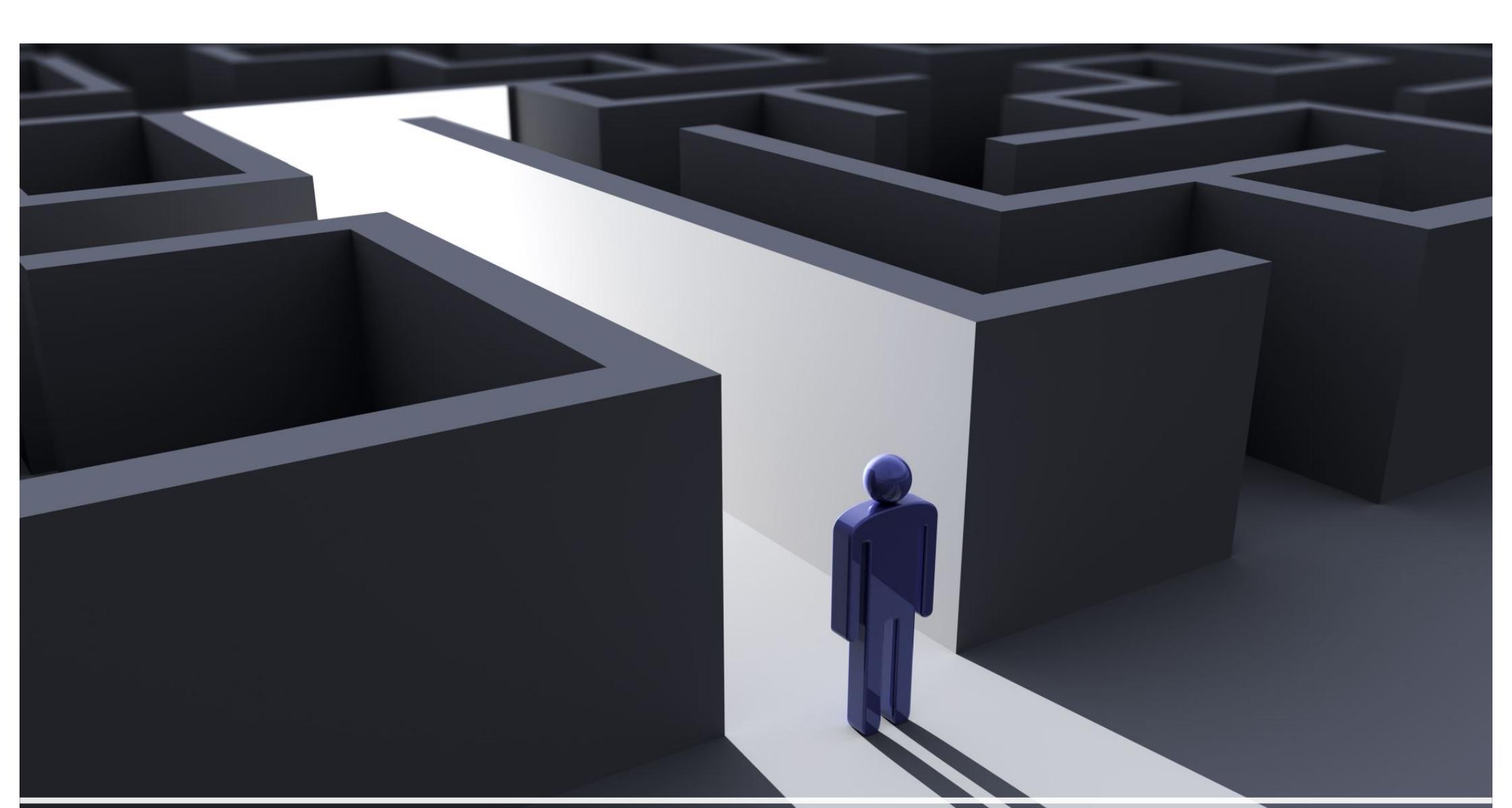


hémidesmosome



Les interactions avec la matrice extra-cellulaire influencent le passage du point de restriction



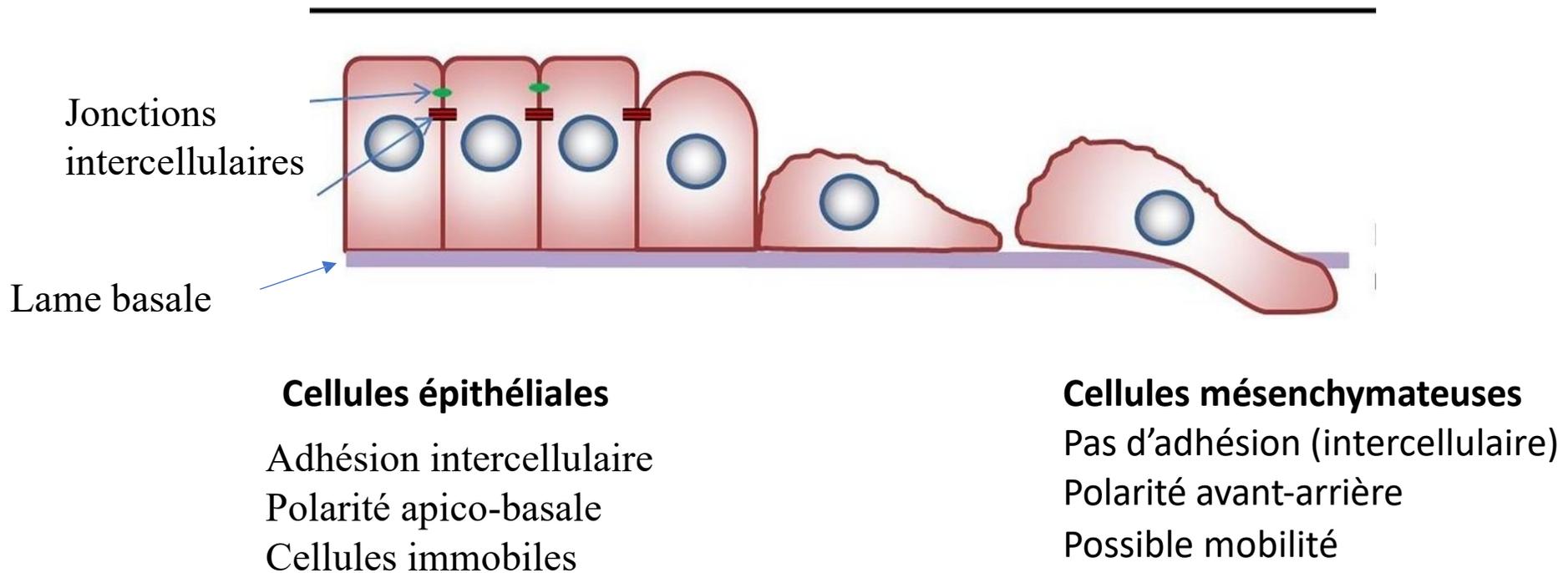
A 3D rendered maze with dark grey walls and a light grey floor. A small, stylized blue human figure stands in a path, looking towards the viewer. The maze is complex, with many dead ends and paths. The lighting is dramatic, with strong shadows and highlights, creating a sense of depth and complexity.

LA TRANSITION EPITHELIO-MESENCHYMATEUSE

La transition épithélio-mésenchymateuse (TEM ou EMT)

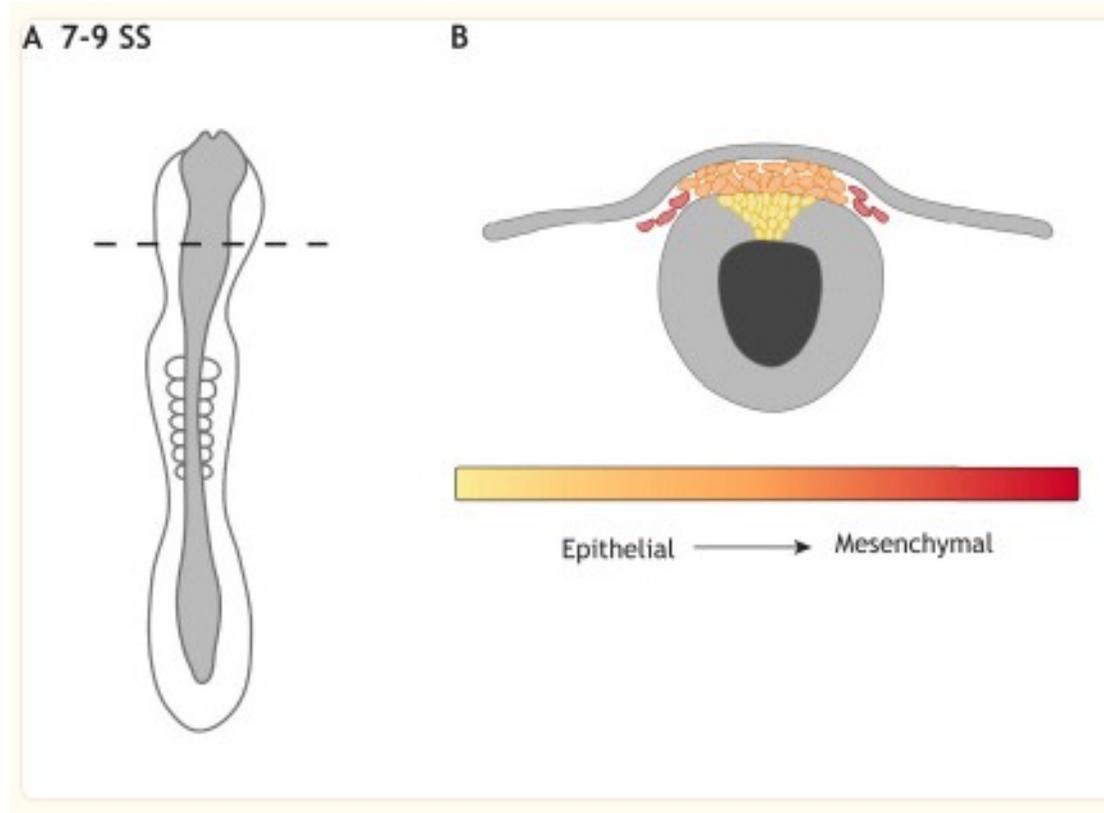
A RETENIR !

Processus au cours duquel des cellules épithéliales acquièrent un phénotype mésenchymateux



©

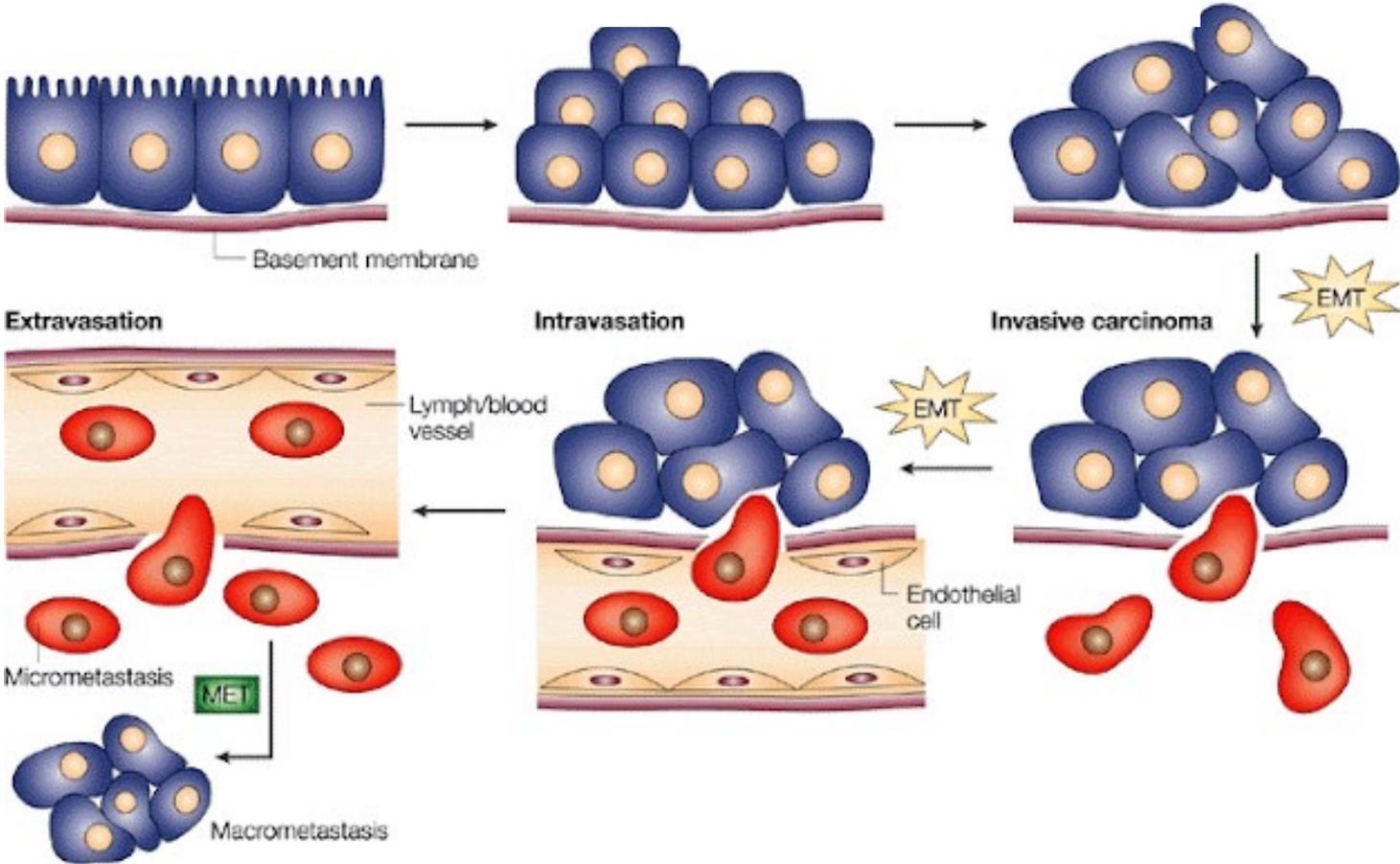
EMT & Development



Leathers and Rogers, Development, 2022

L'EMT joue un rôle clé dans la migration des cellules de la crête neurale (NCC)

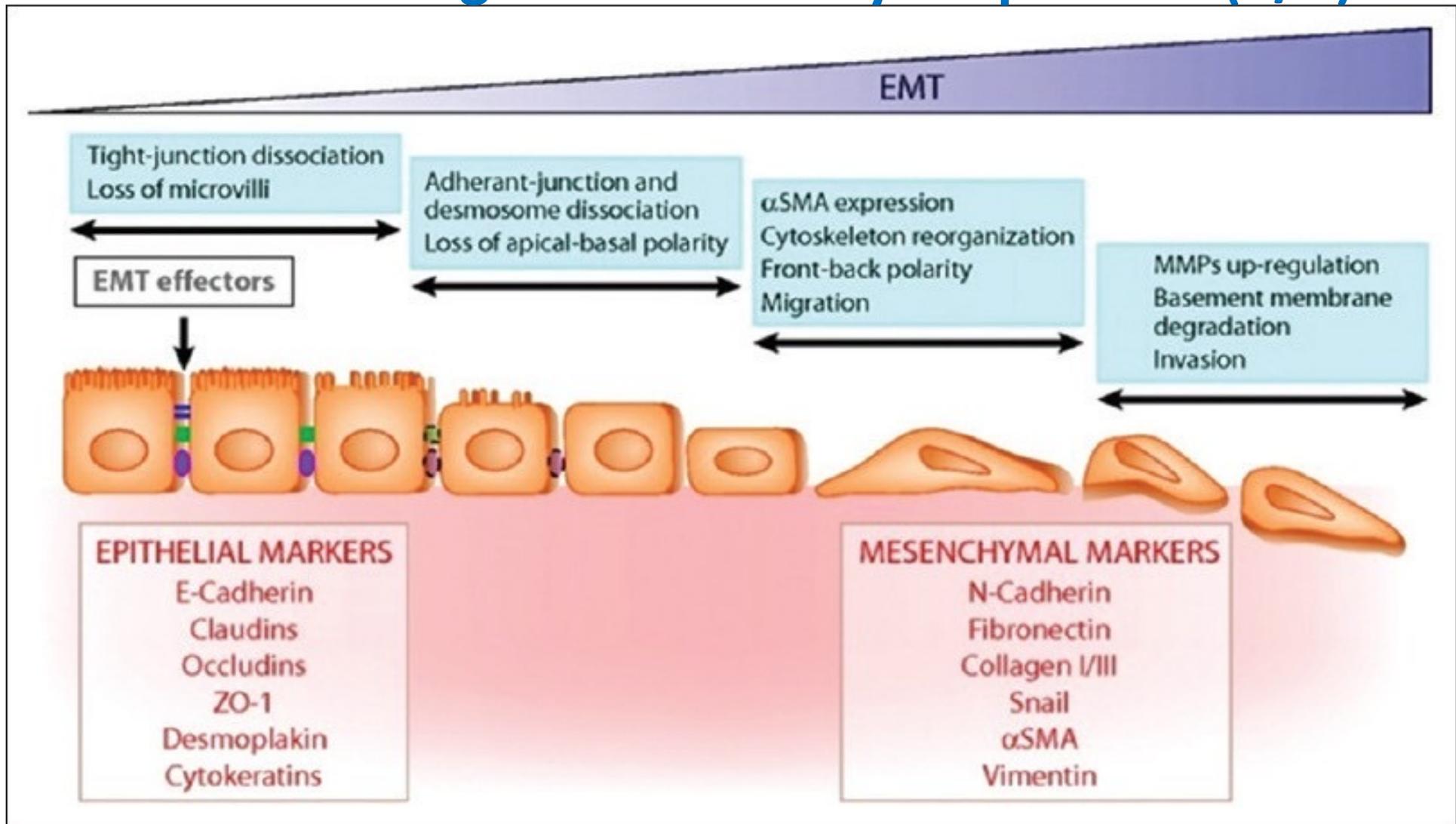
EMT & Cancer



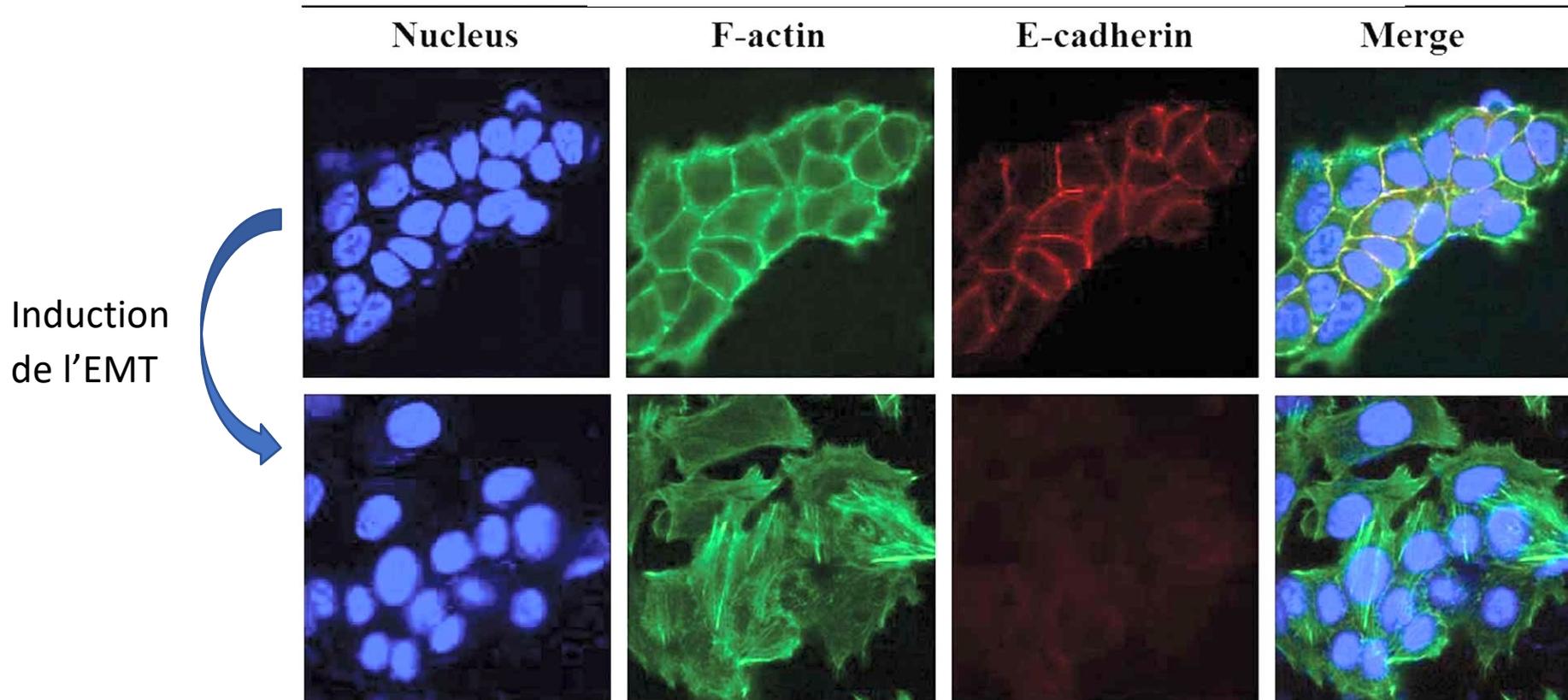
Nature Reviews | Cancer

L'EMT joue un rôle clé dans la formation des métastases

L'EMT est associée à des modifications des interactions cellule-cellule et cellule-MEC et à une réorganisation du cytosquelette (1/4)

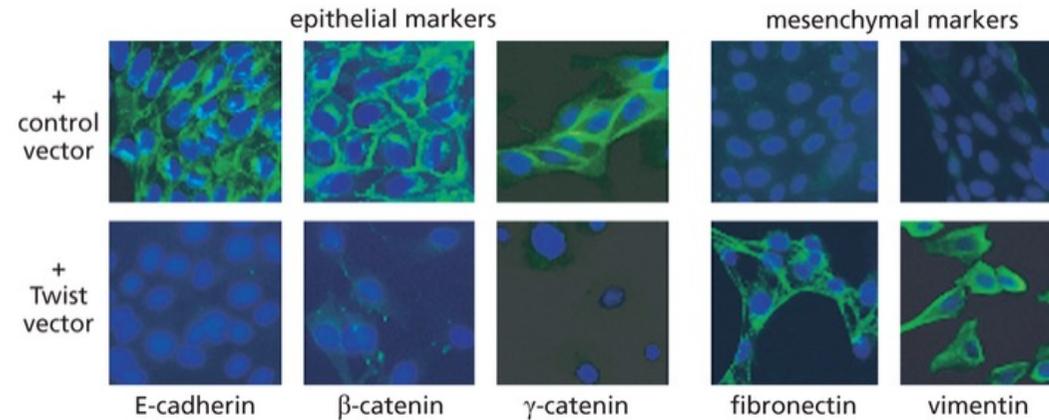


L'EMT est associée à des modifications des interactions cellule-cellule et cellule-MEC et à une réorganisation du cytosquelette (2/4)

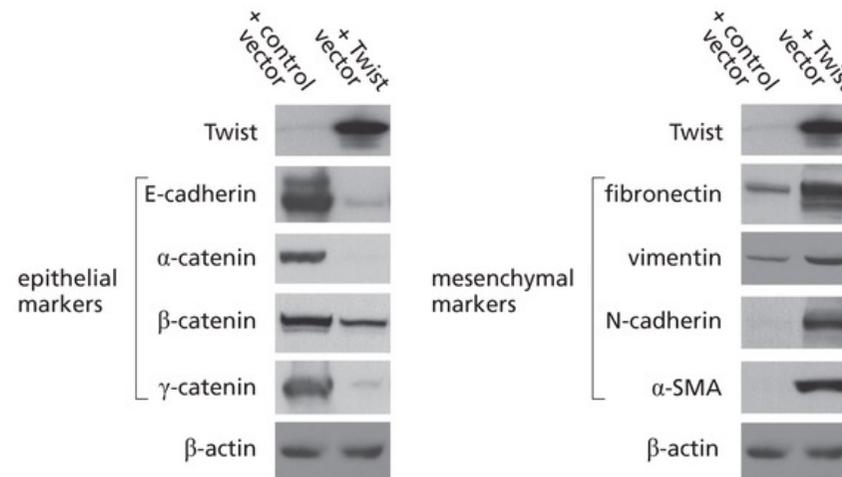


Gue Tae Kim, International Journal of Oncology, 2014,45 :1673

L'EMT est associée à des modifications des interactions cellule-cellule et cellule-MEC et à une réorganisation du cytosquelette (3/4)



(A)



(B)

©

L'EMT est associée à des modifications des interactions cellule-cellule et cellule-MEC et à une réorganisation du cytosquelette (4/4)

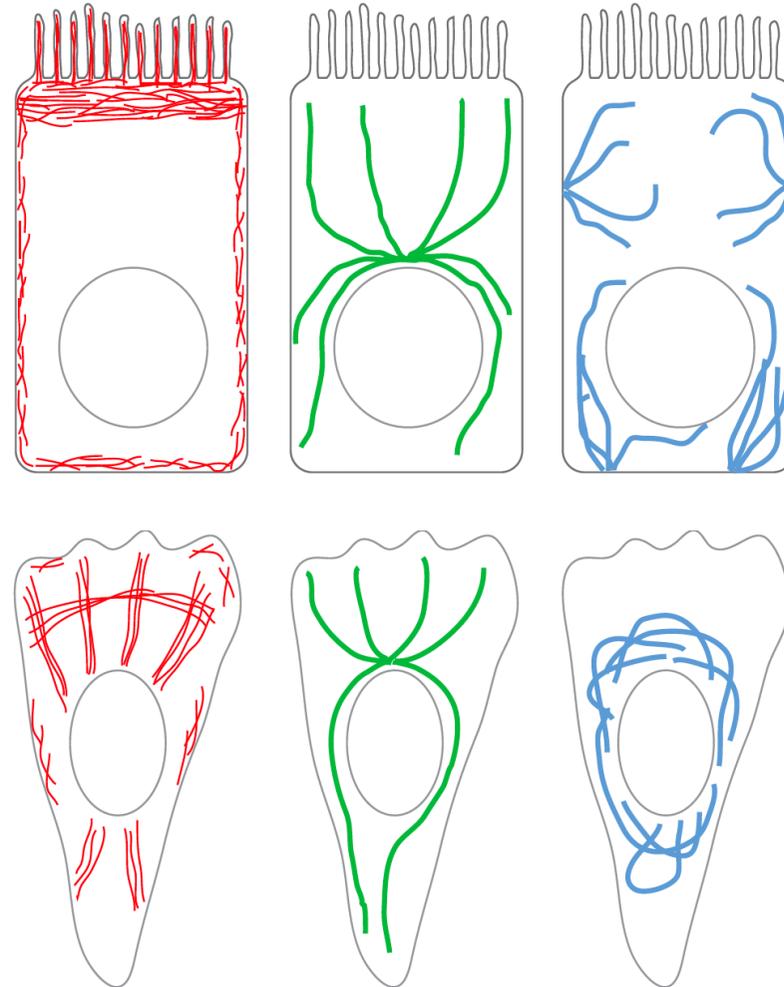


Microtubules : réorganisation variable selon le mode de migration

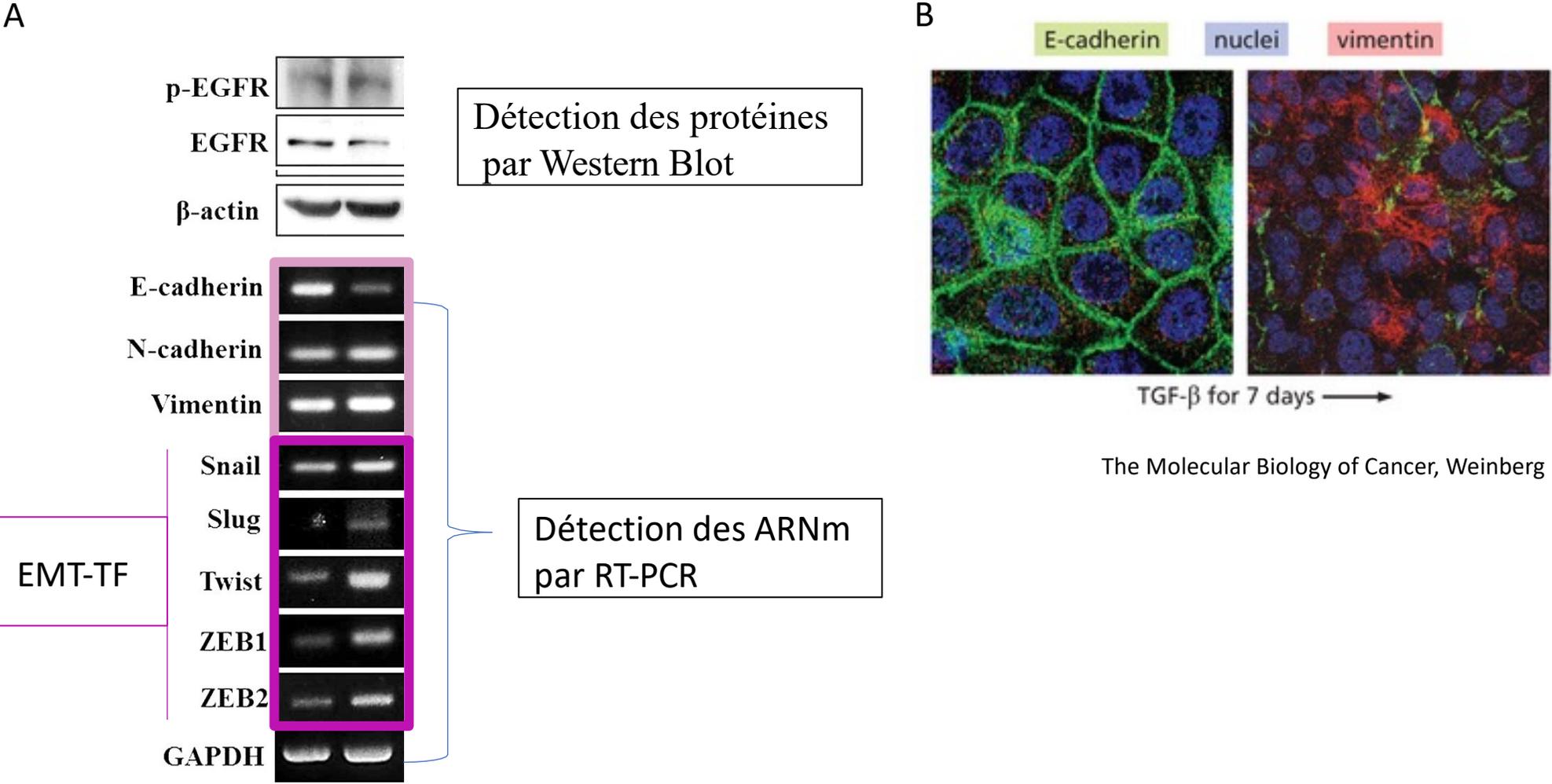
Filaments intermédiaires :
Expression de **Vimentine**

Actine/myosine :

- Formation de l'**invadopode**
- Formation de **fibres de stress** et d'**adhésion focales**
- Acquisition d'une polarité avant-arrière et migration : **lamellipodes et filopodes**

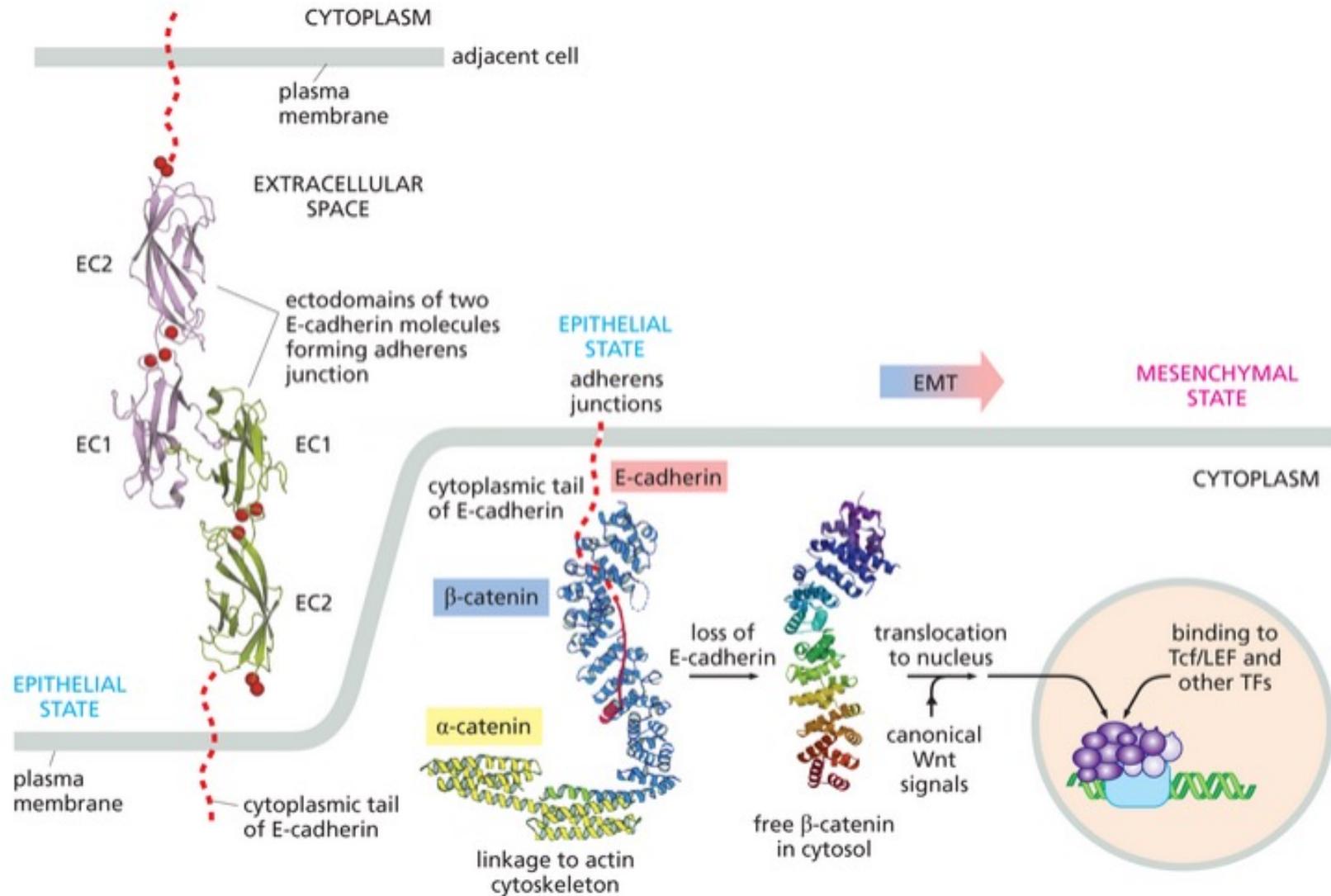


L'EMT est induite par des voies de signalisation comme celle du TGF-beta



L'EMT induit des voies de signalisation comme la voie Wnt/beta-caténine

A RETENIR !



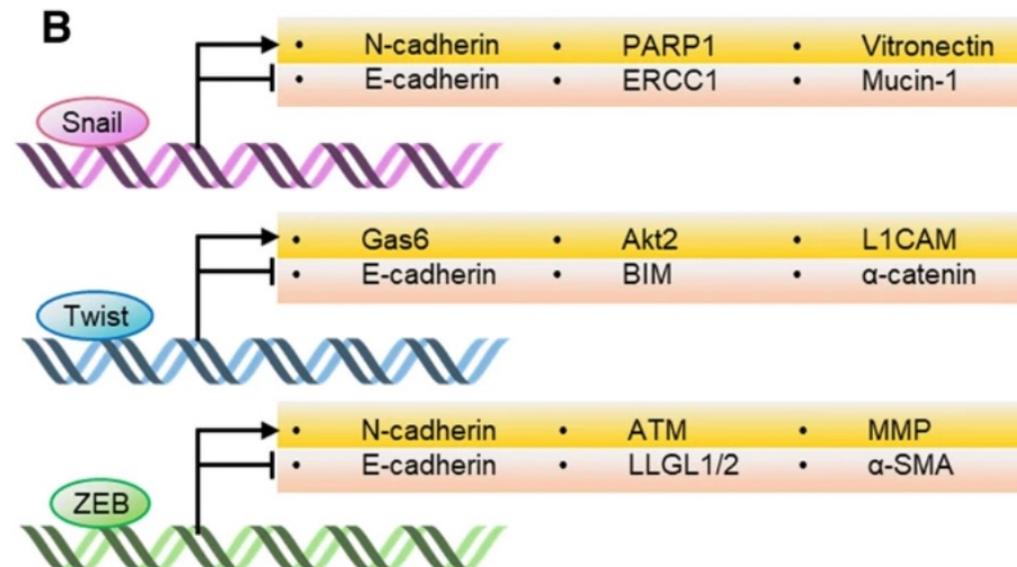
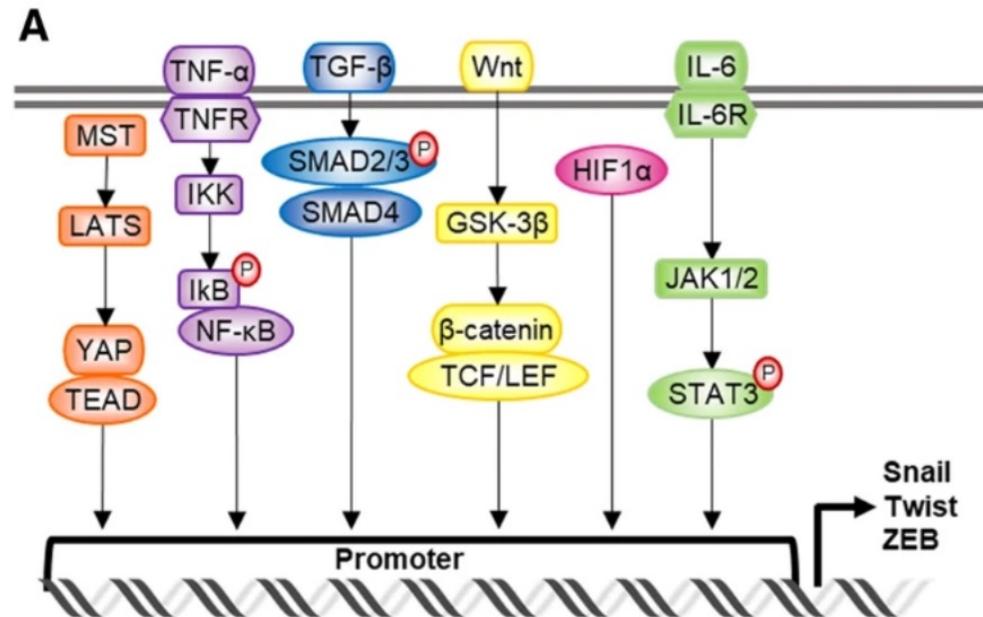
La perte de la E-Cahérine libère la β -Caténine qui peut alors induire l'expression de gènes cibles de la voie Wnt/ β -Caténine!

Les facteurs de transcription orchestrant l'EMT (EMT-TF)

Name	Where first identified	Type of transcription factor	Cancer association
Snail (SNAI1)	mesoderm induction in <i>Drosophila</i> ; neural crest migration in vertebrates	C2H2-type zinc finger	invasive ductal carcinoma
Slug (SNAI2)	delamination of the neural crest and early mesoderm in chicken	C2H2-type zinc finger	breast cancer cell lines, melanoma
Twist	mesoderm induction in <i>Drosophila</i> ; emigration from neural crest	bHLH	various carcinomas, high-grade melanoma, neuroblastoma
Goosecoid	gastrulation in frog	paired homeodomain	various carcinomas
FOXC2	mesenchyme formation	winged helix/forkhead	basal-like breast cancer
ZEB1 (δ EF1)	postgastrulation mesodermal tissue formation	2-handed zinc finger/homeodomain	wide variety of cancers
ZEB2 (SIP1)	neurogenesis	2-handed zinc finger/homeodomain	ovarian, breast, liver carcinomas
E12/E47 (Tcf3) ²	associated with E-cadherin promoter	bHLH	gastric cancer
Prrx 1	chick mesoderm formation	paired homeobox	various carcinomas

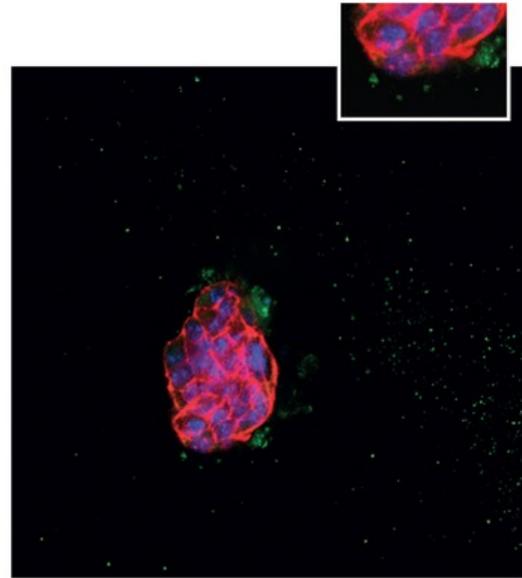


Régulation et gènes cibles des EMT-TF



L'induction de l'EMT et la migration dépend aussi de la MEC

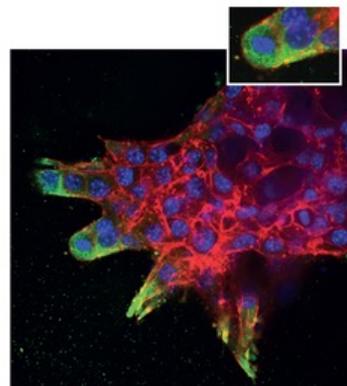
(A) MEC « molle » (faible densité en collagen)



The Molecular Biology of Cancer, Weinberg

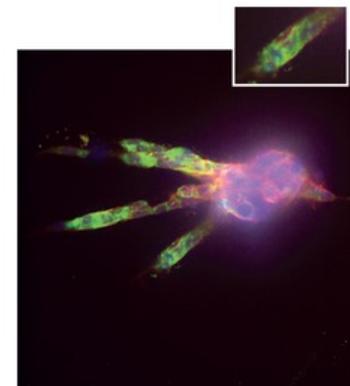
(A)

(B) MEC « molle » + TGF- β



(B)

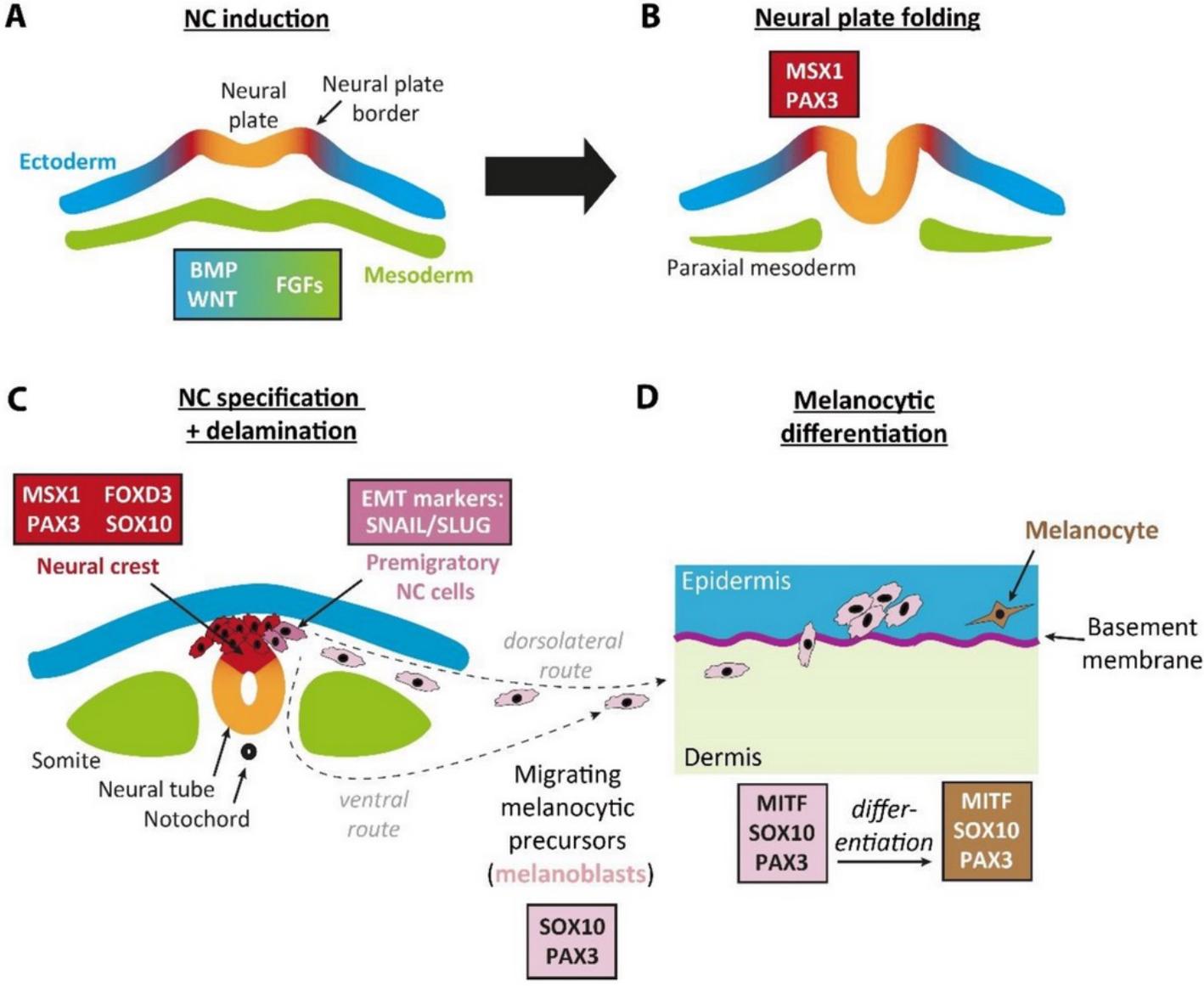
(C) MEC « rigide » + TGF- β



(C)

Cellules de carcinomes de la glande mammaire exprimant un transgène rapporteur Snail-YFP

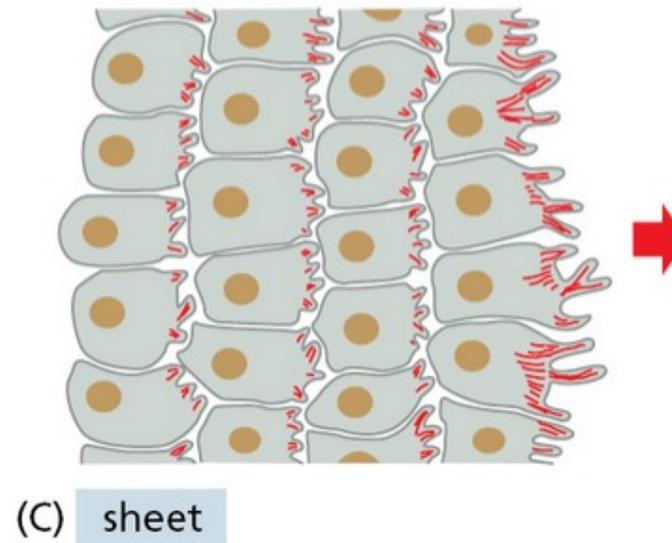
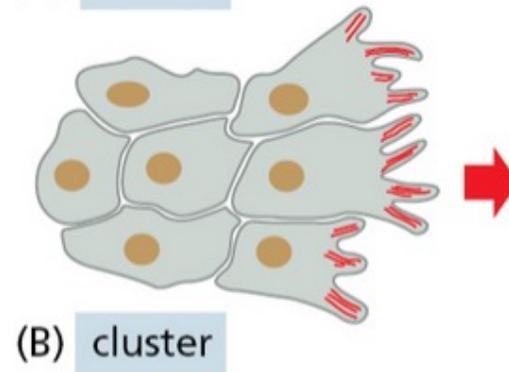
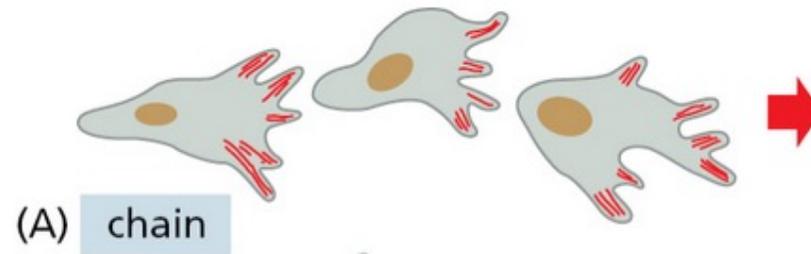
EMT-TF & NCC development





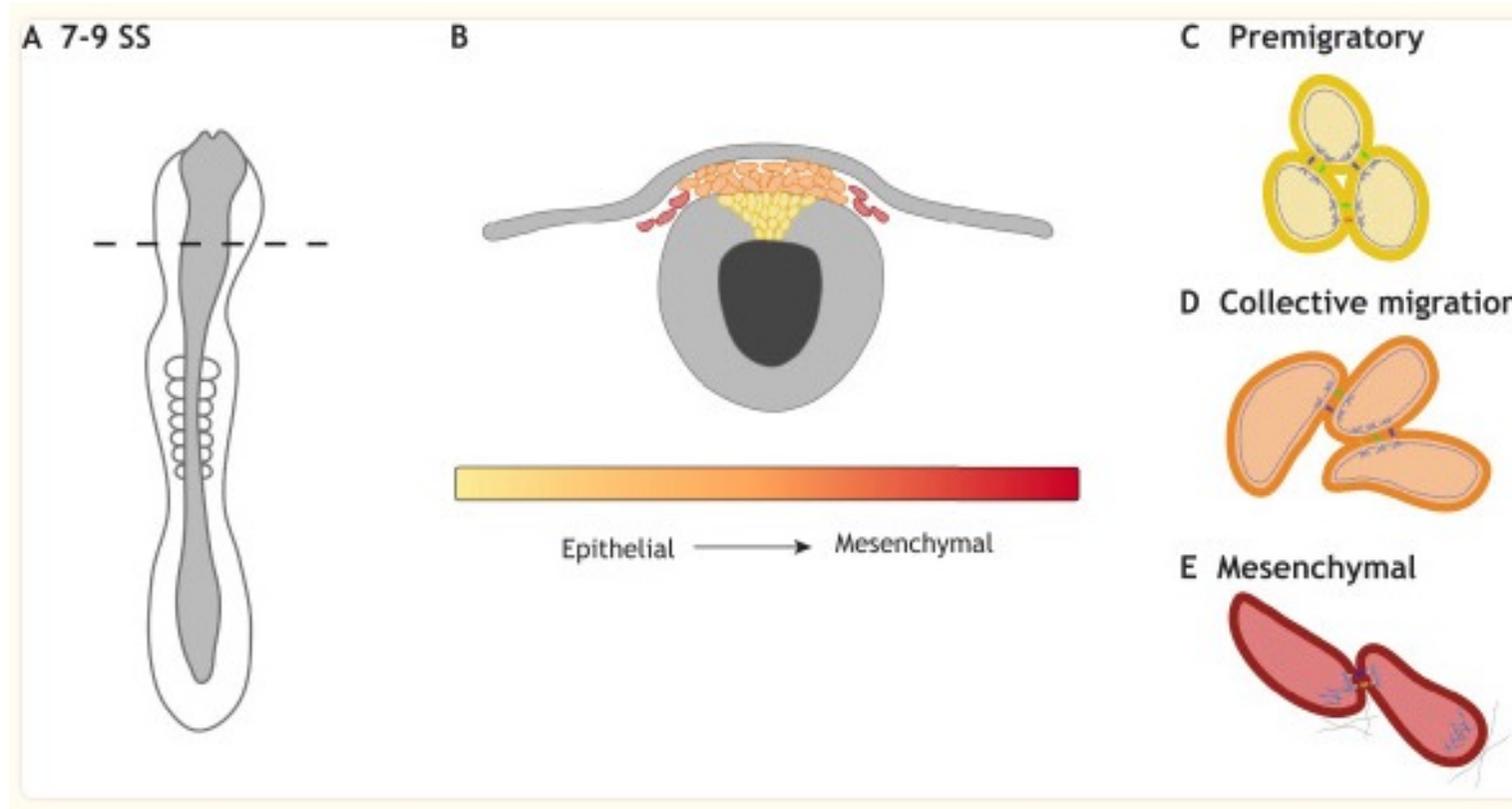
LES MIGRATIONS CELLULAIRES

Les migrations cellulaires



POURQUOI LES CELLULES MIGRENT?

1.1 Migration et développement embryonnaire

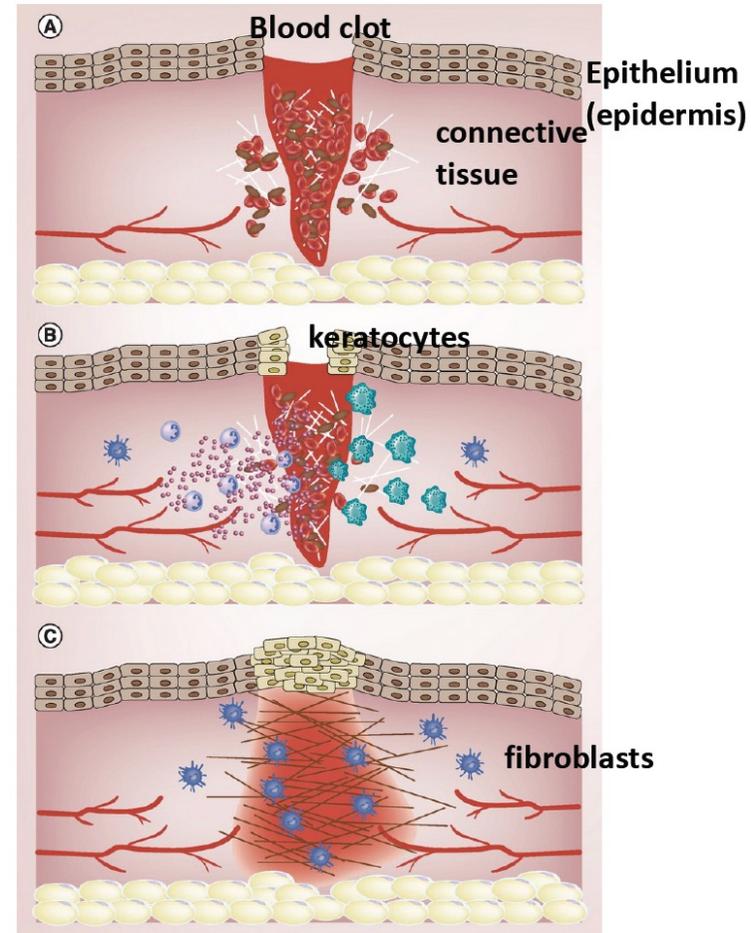


Leathers and Rogers, Development, 2022

Les cellules de la crête neurale migrent de manière collective puis de manière individuelle!

1.2 Migration et cicatrisation cellulaire

(A) During the first stages of wound healing, platelets are recruited to the open wound and deposit fibrin (which serves as a preliminary extracellular matrix) to arrest bleeding. **(B)** During the next stages of wound healing, immune cells including neutrophils followed by macrophages are recruited to the wound and clear dead tissue and debris in preparation for healing. New blood vessels sprout around the site. Fibroblasts are recruited to the site in anticipation of scar formation. Keratinocytes begin to migrate to cover the cutaneous wound surface. **(C)** Finally, during the remodeling phases of wound healing, the keratinocytes have covered the site. Below the fibroblasts deposit new extracellular matrix replacing the fibrin plug, which is then remodeled to form the final scar. New blood vessels are pruned and nerves begin to regenerate to the site.



 Red blood cell

 Platelet

 Fibrin

 Neutrophil

 Cytokines

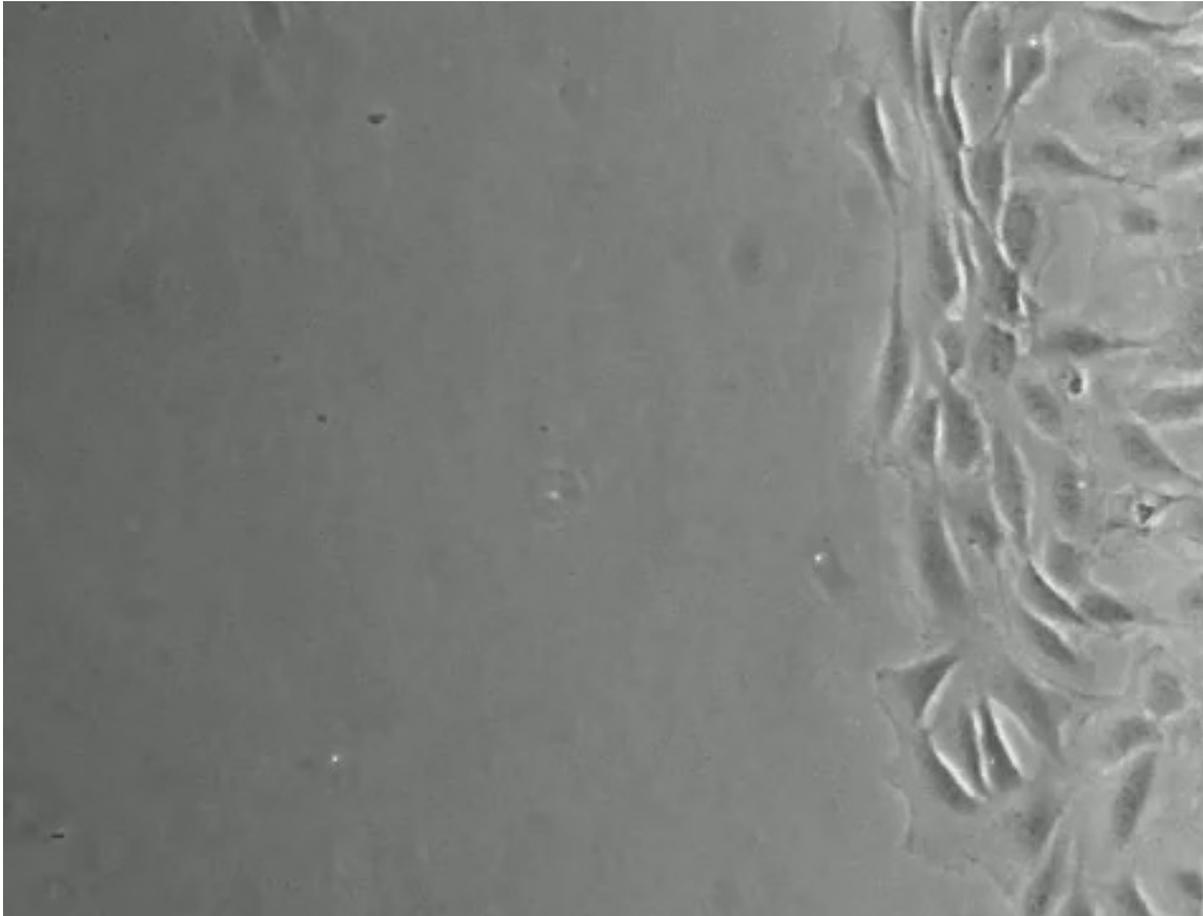
 Macrophage

 Fibroblast

 ECM

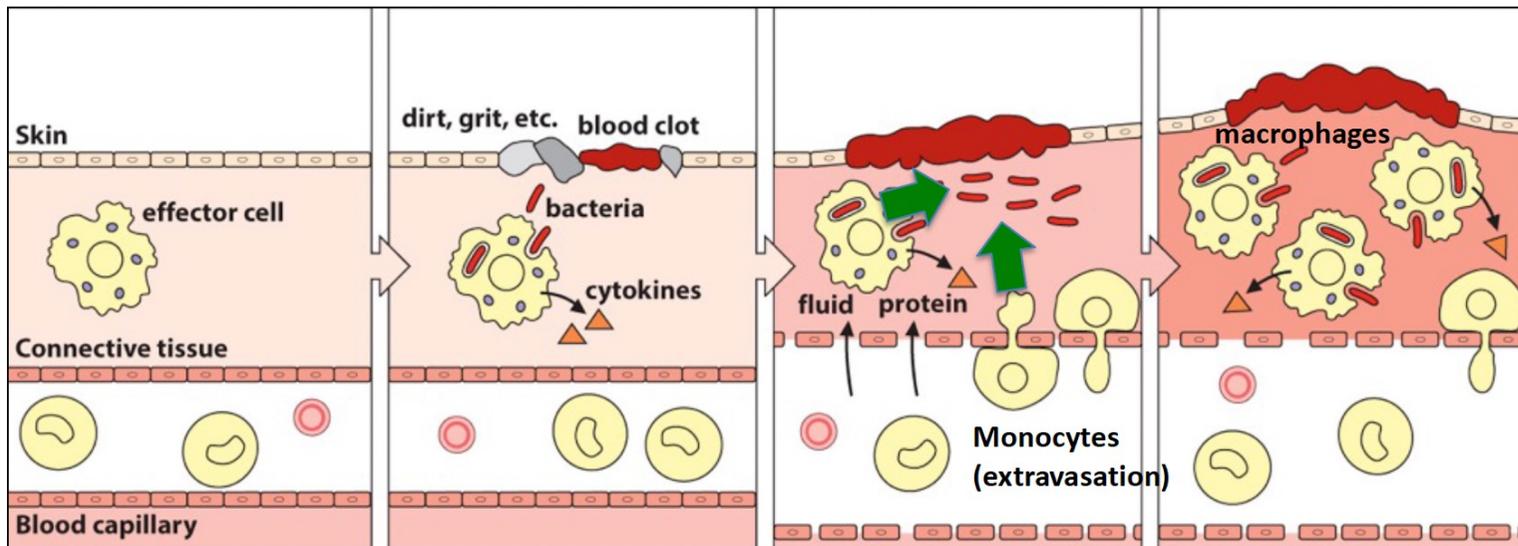
 Adipocyte

1.2 La cicatrisation implique la migration des fibroblastes

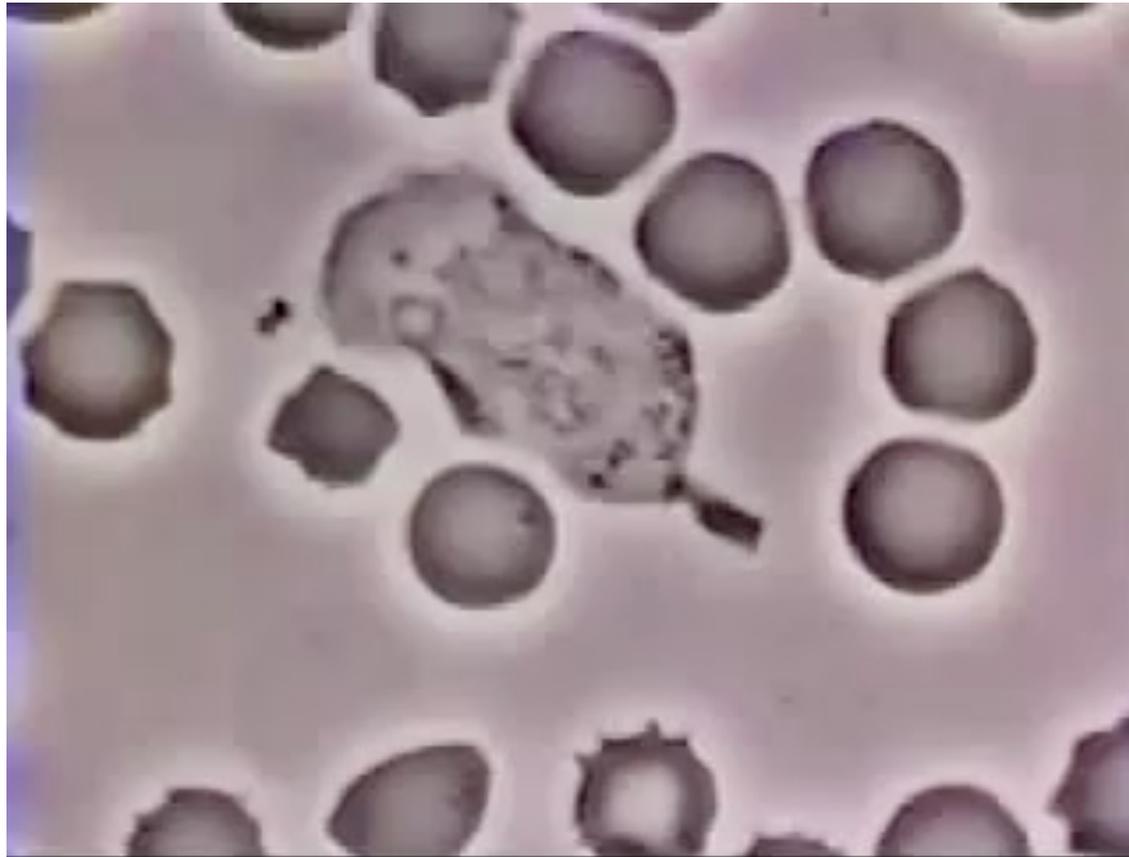


Migration of fibroblasts in vitro in response to an artificial wound

1.3 Les cellules du système immunitaire traversent l'endothélium pour éliminer les bactéries pendant la cicatrisation

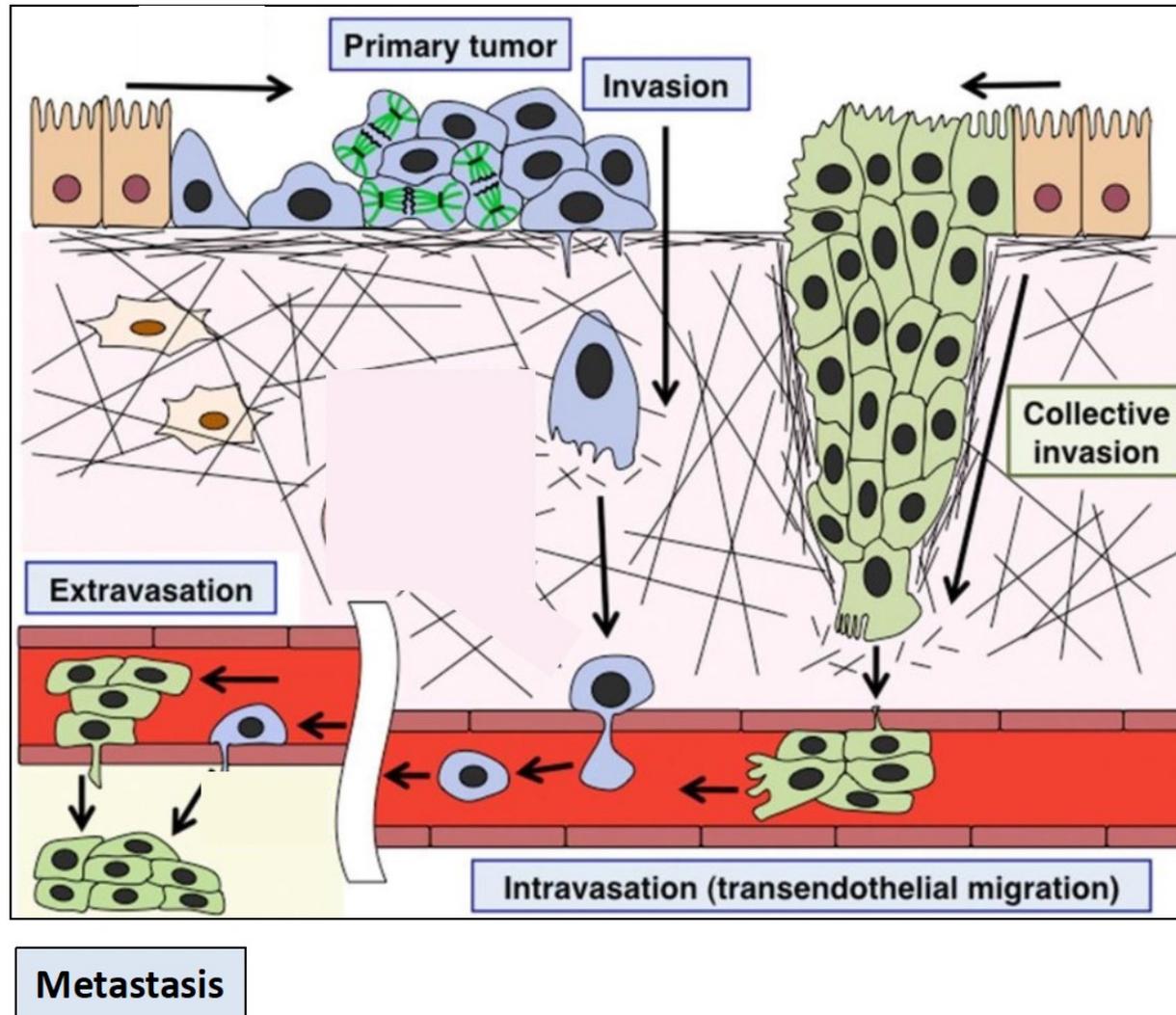


1.3 Les cellules du système immunitaire traversent l'endothélium pour éliminer les bactéries pendant la cicatrisation

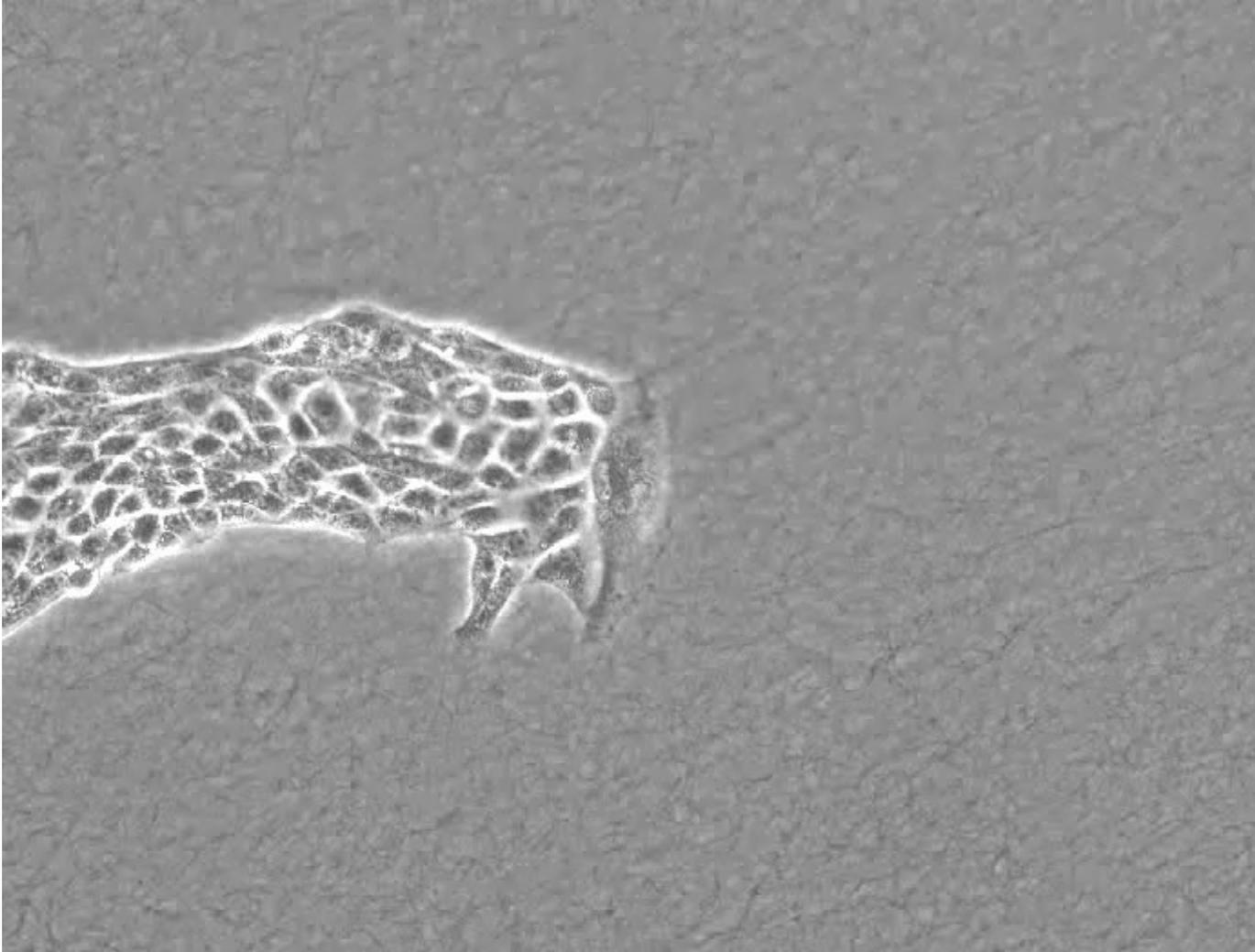


Migration of a macrophage in vitro

1.4 Les cellules cancéreuses migrent de manière collective pour envahir les tissus

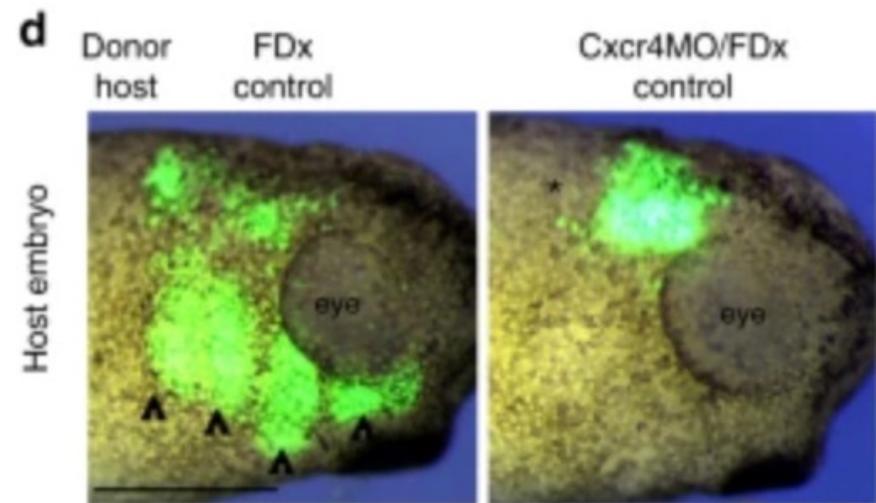
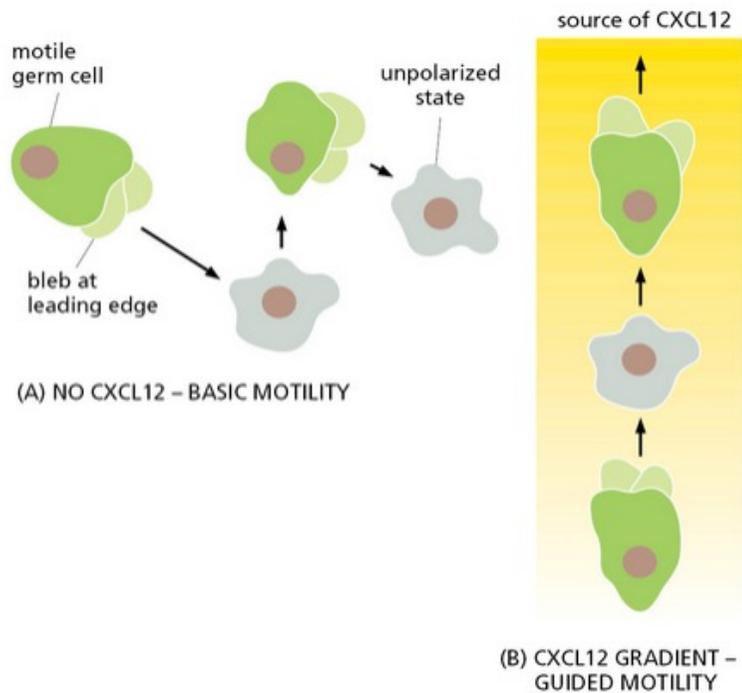


1.4 Les cellules cancéreuses migrent de manière collective pour envahir les tissus



MDCK cells moving in a collective manner

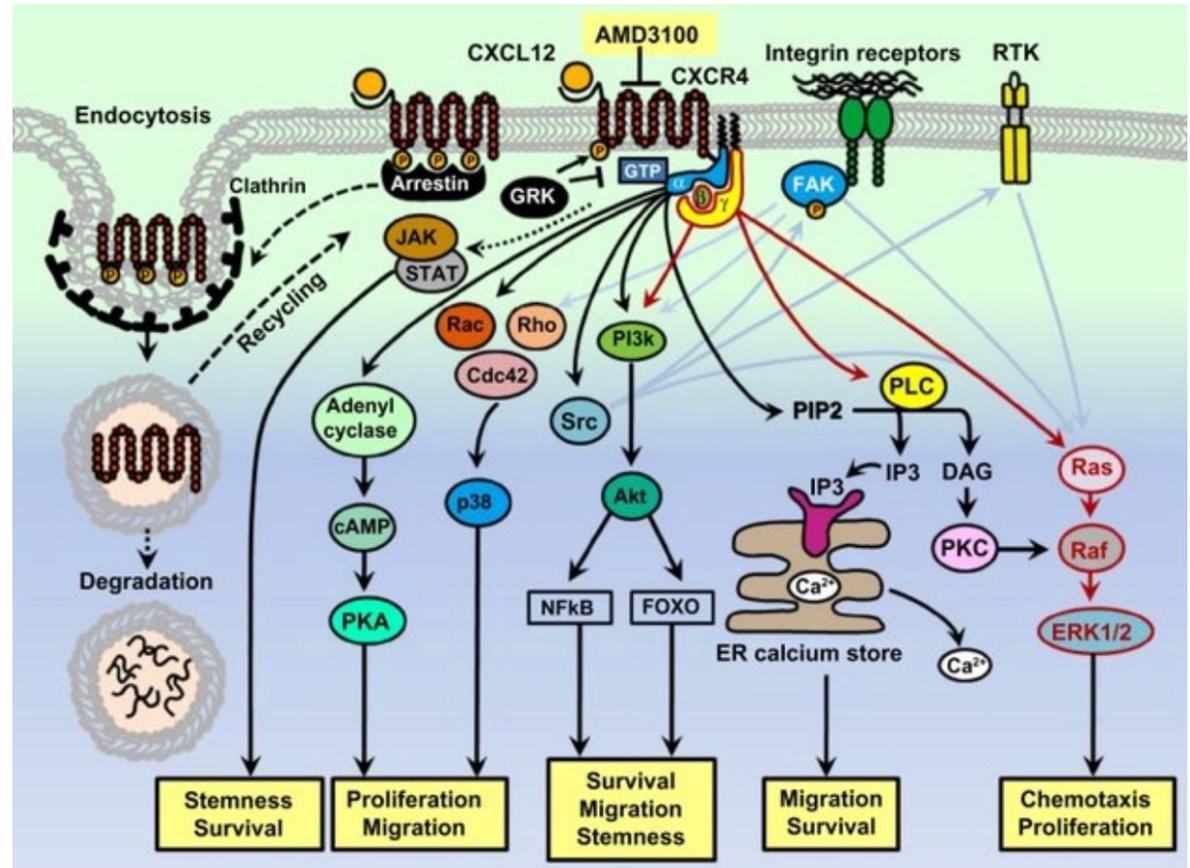
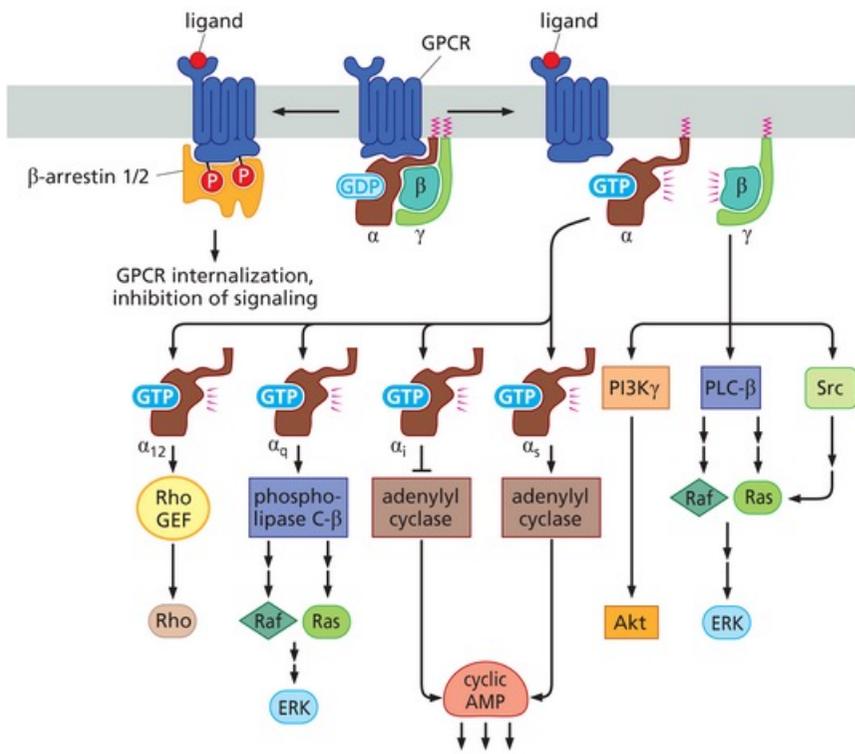
La migration des cellules est guidée par des signaux environnementaux



Bajanca et al, Nature Communications, 2019

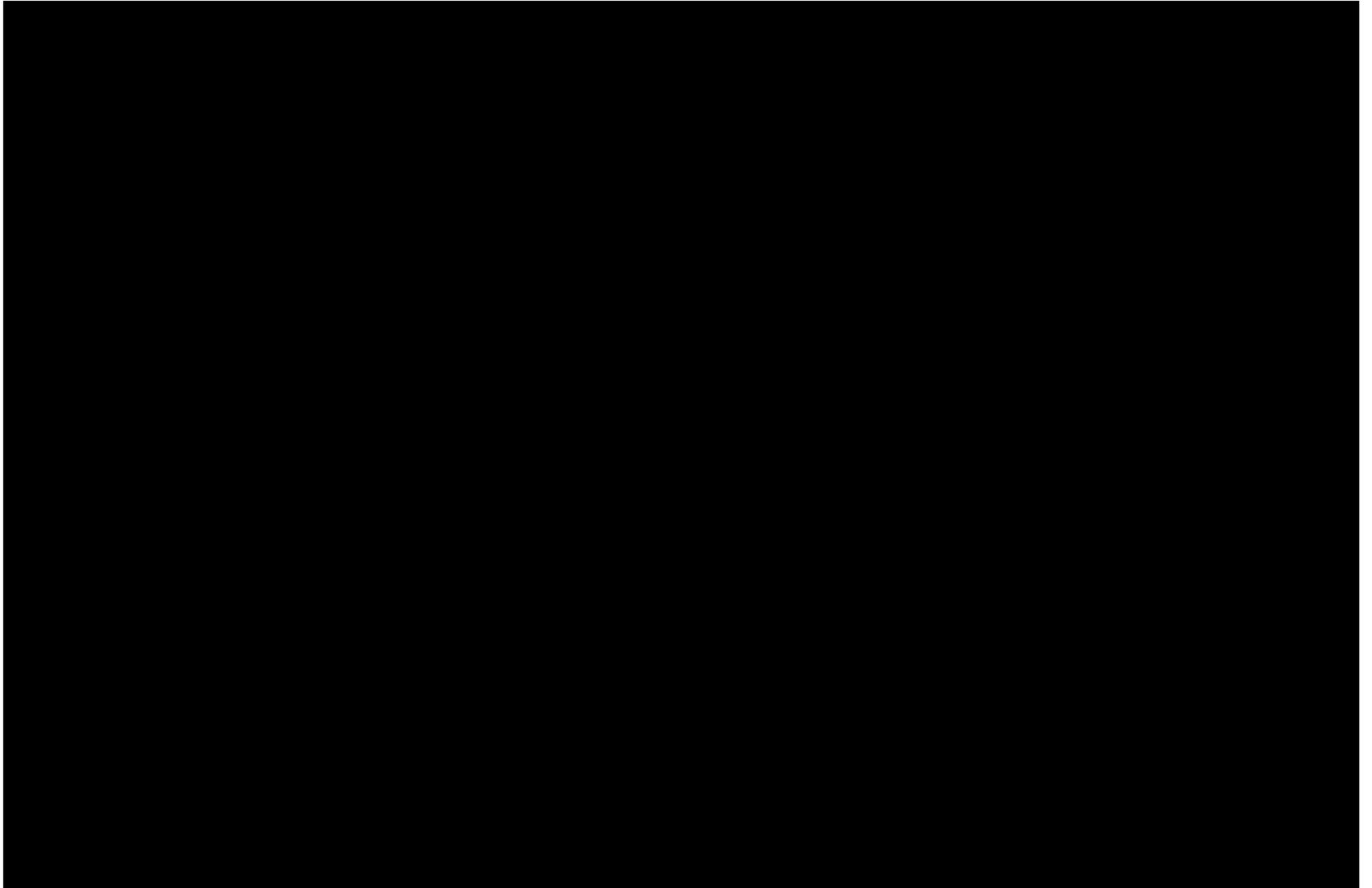
Les chimiokines comme CXCL12 guident la migration de cellules exprimant les récepteurs à ces mêmes chimiokines (chémotactisme)

Focus: CXCR4 est un récepteur couplé aux protéines G



Trautman et al, International Journal of Radiation Biology, 2014

Focus: Développement de la ligne latérale chez le zébrafish



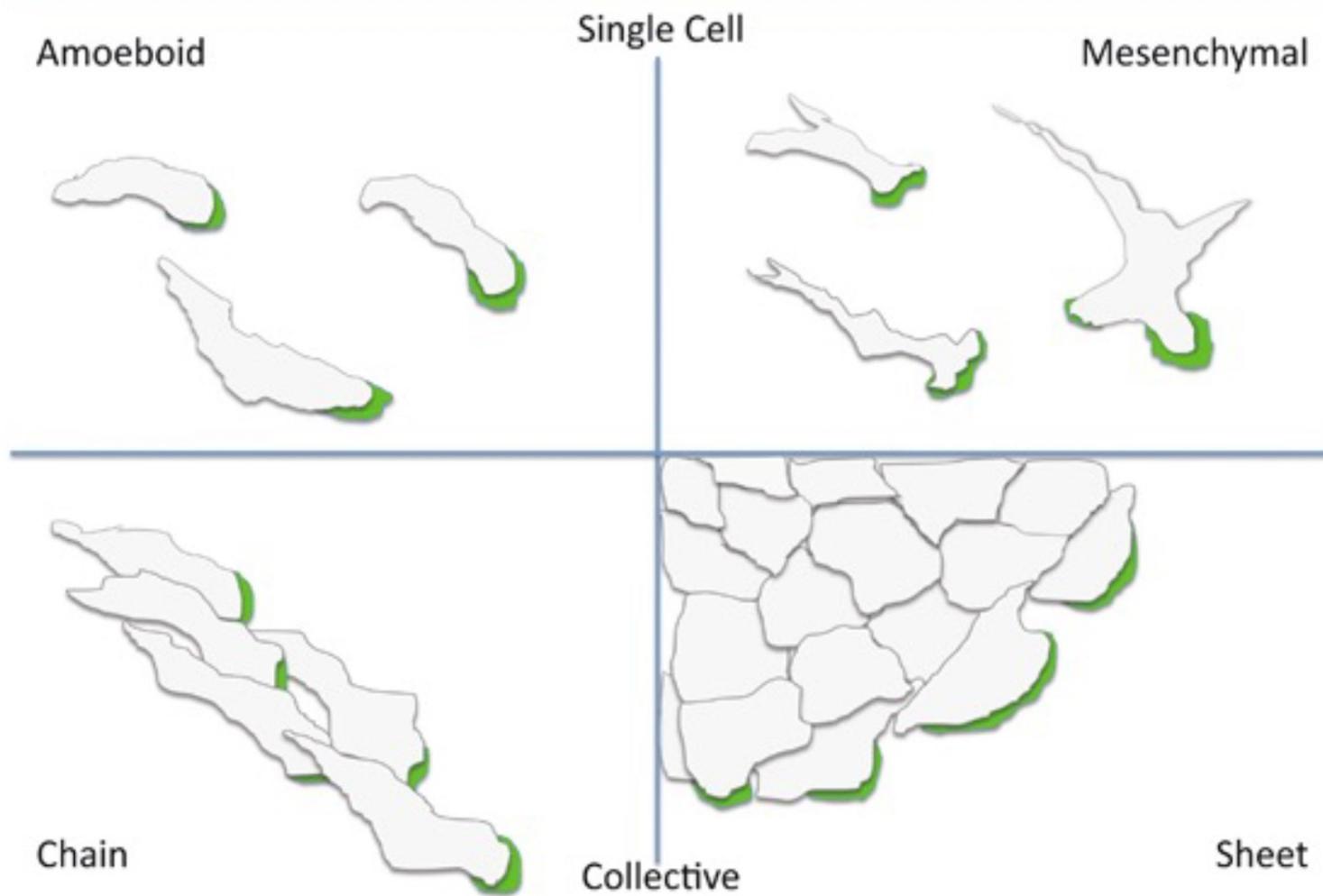


Aux origines de la Force

Rôle du Cytosquelette d'actine



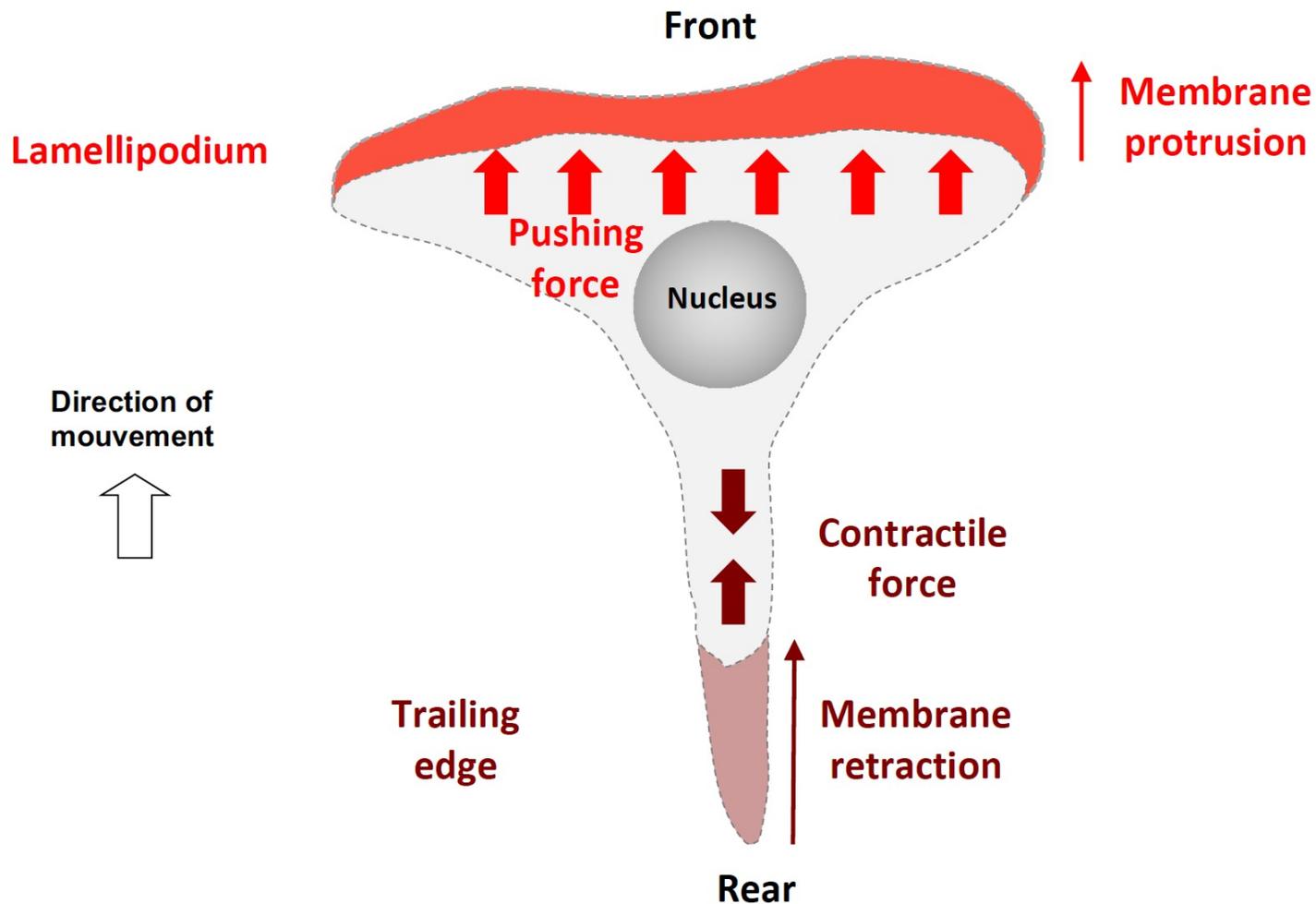
Les modes de migration cellulaires



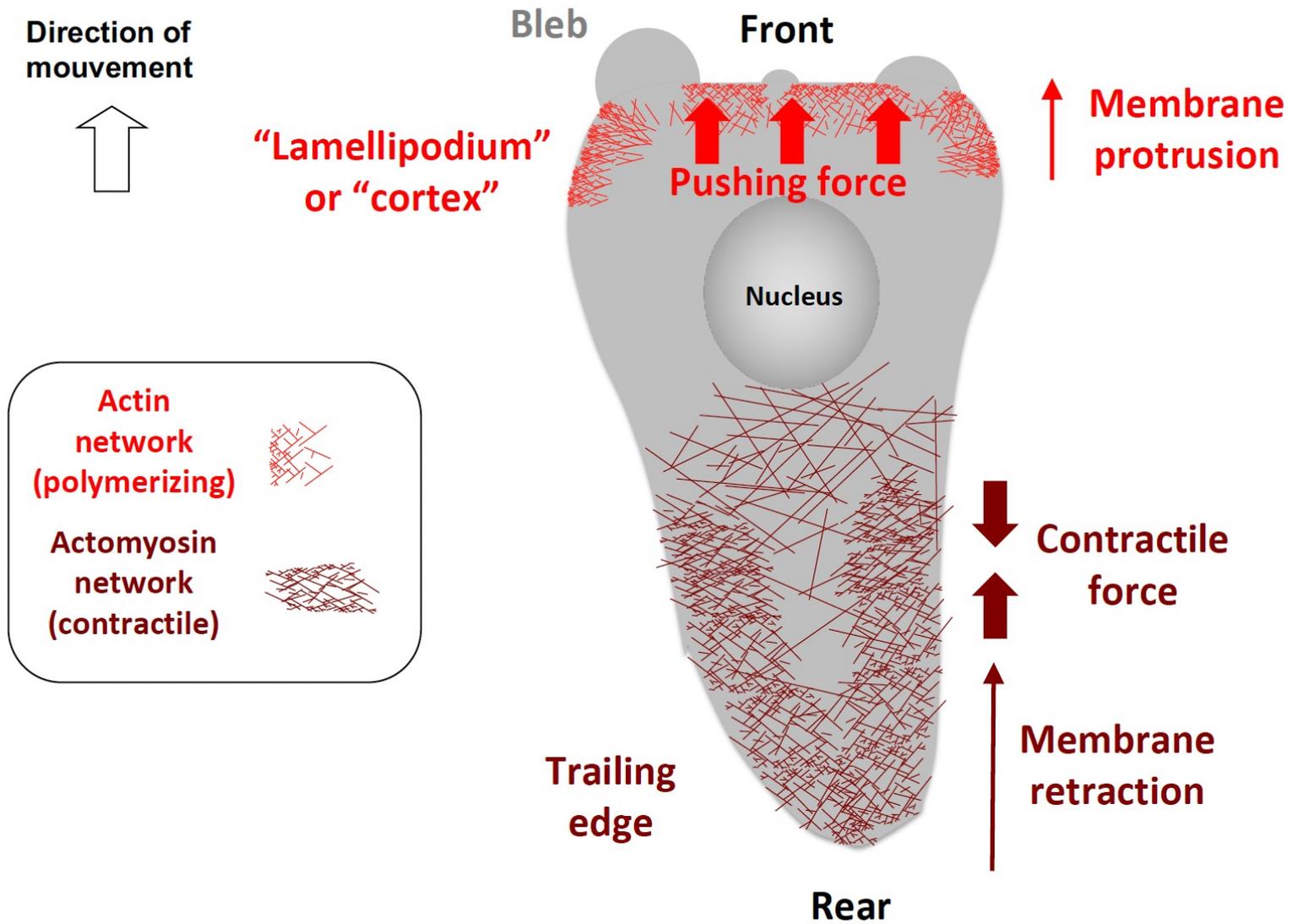
The migrating front is in green

Des forces intracellulaires favorisent la protrusion de la membrane à l'avant et la rétraction de la membrane à l'arrière

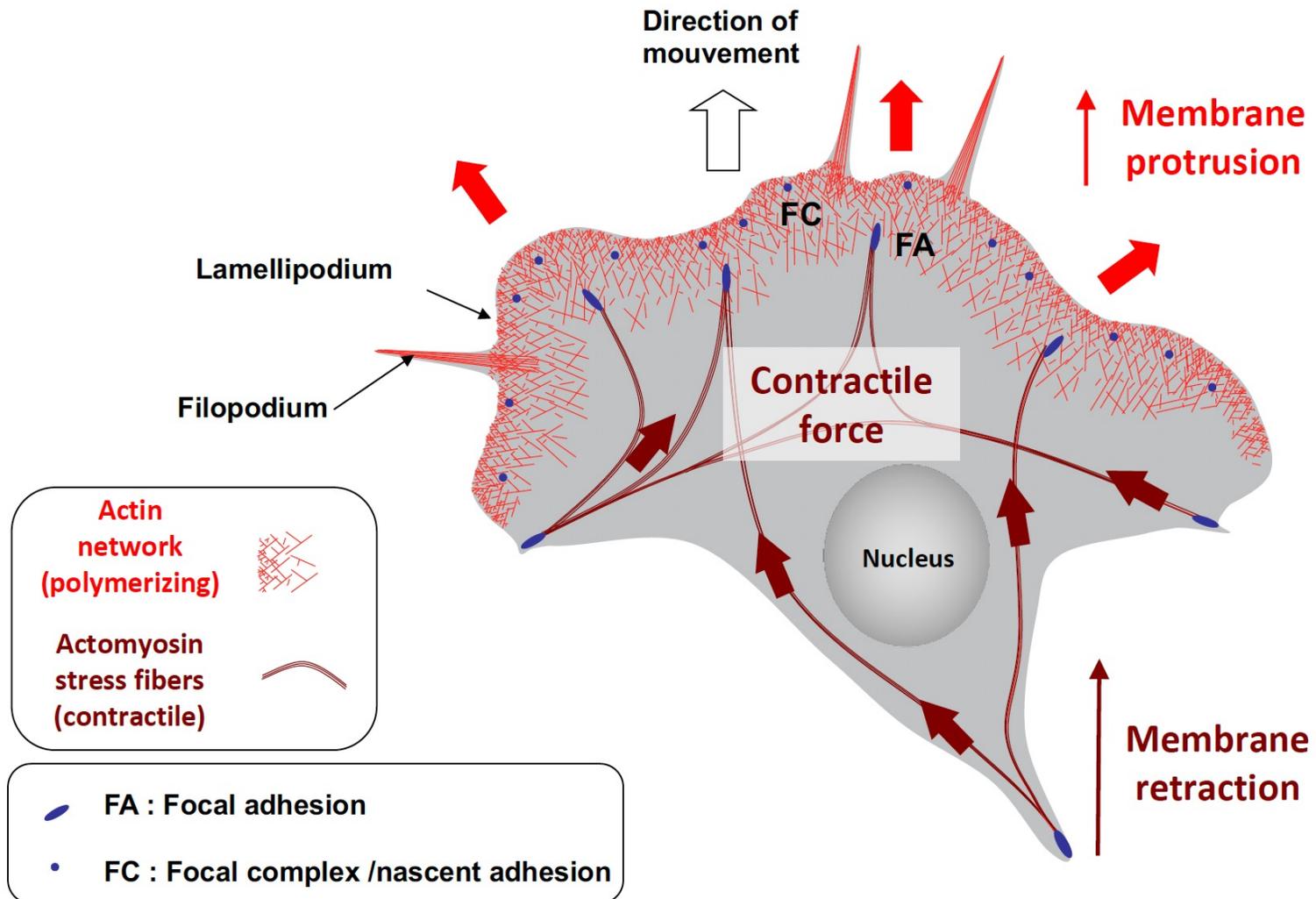
A RETENIR !



Les cellules amiboïdes



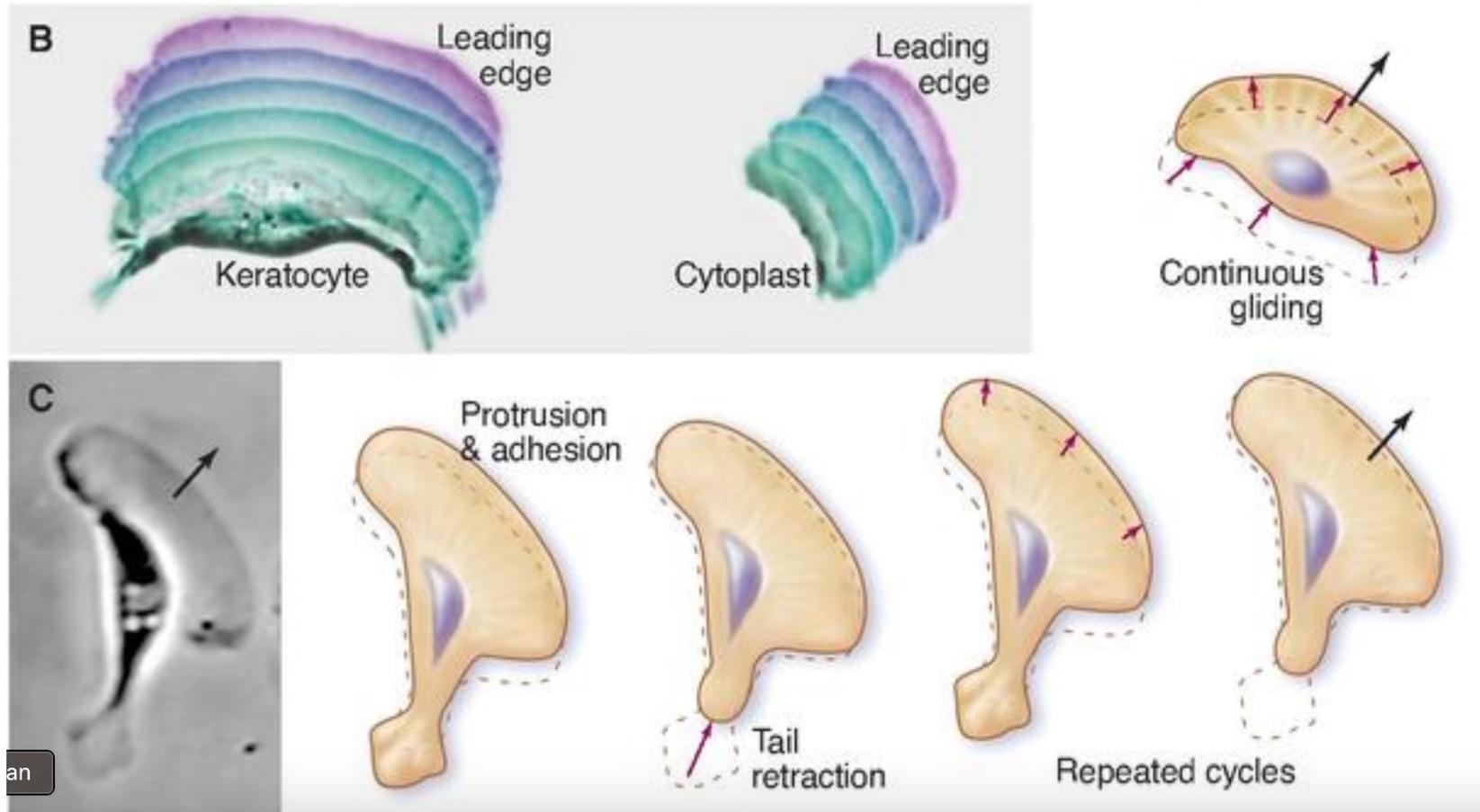
Les cellules mésenchymateuses



**I/ Forces de protrusion des membranes:
Rôle des filaments d'actine**

Filaments d'actine et lamellipodes

Mobilité cellulaire par extension de lamellipodes



La polymérisation de l'actine produit la force nécessaire au mouvement

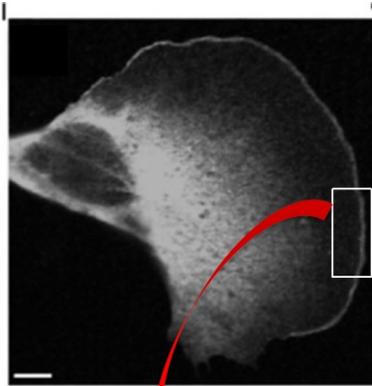
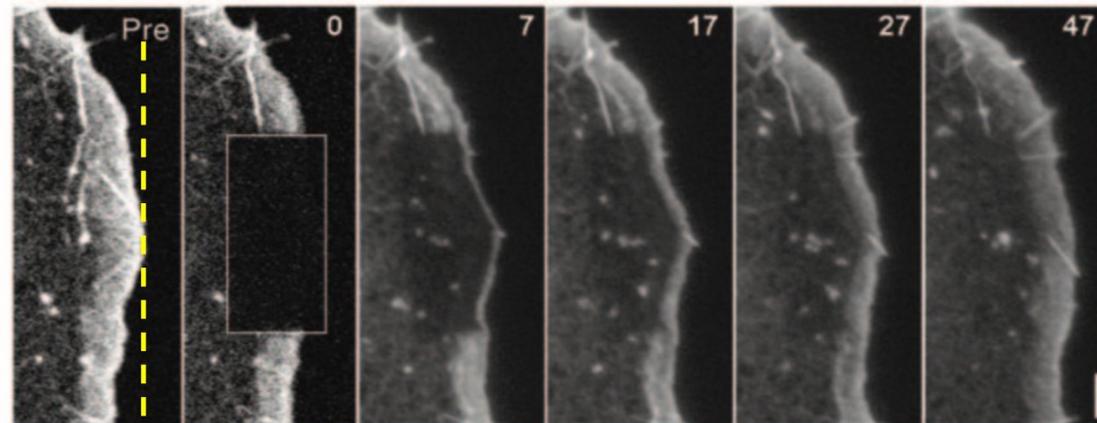
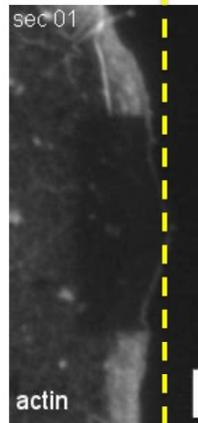
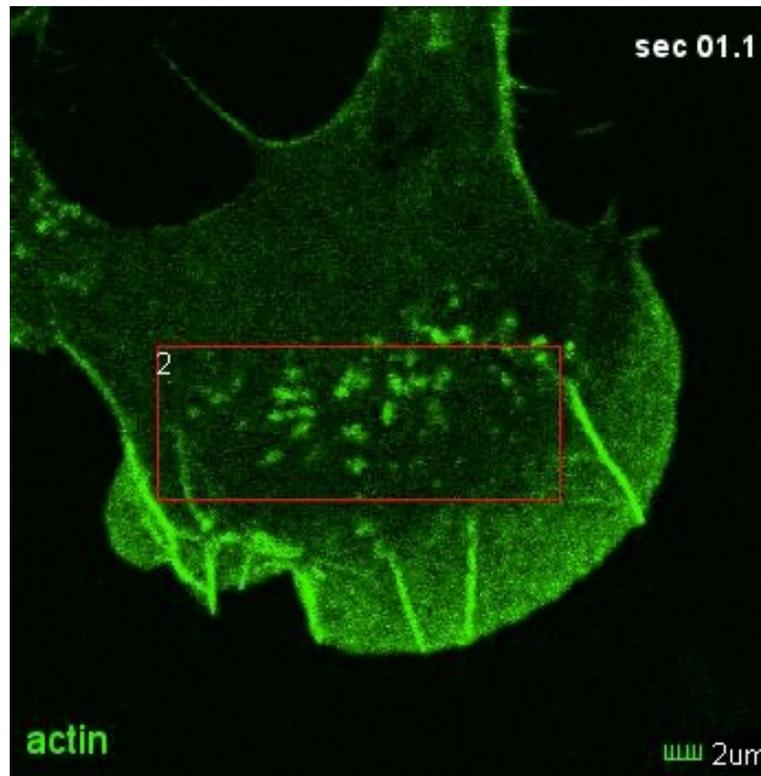
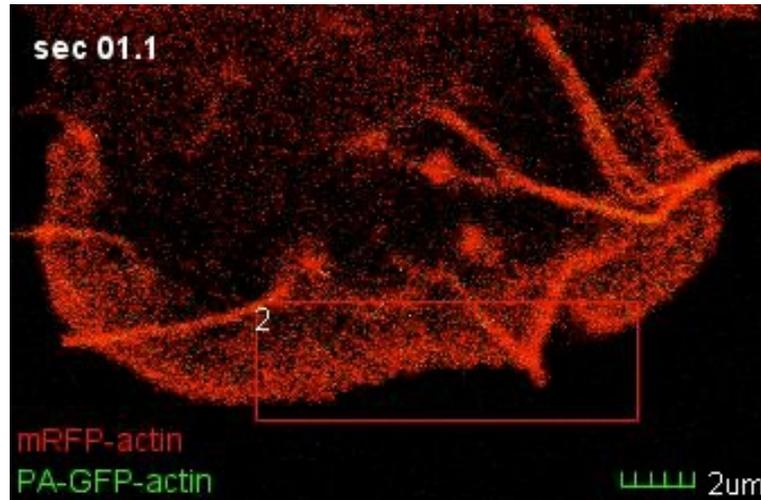
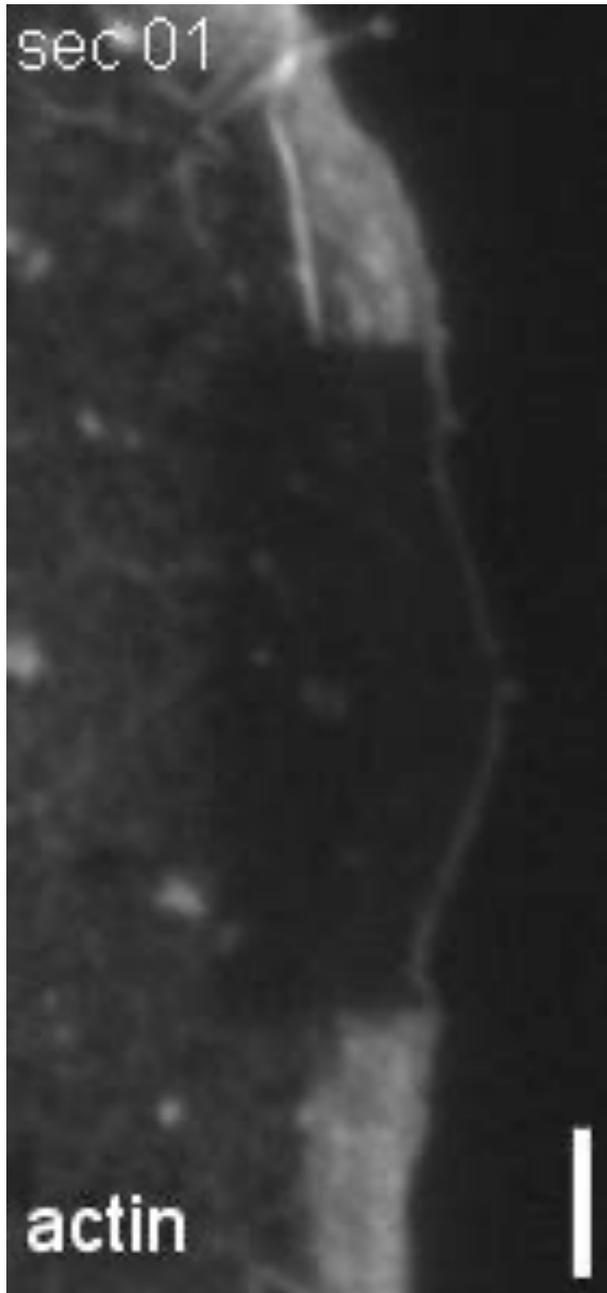


Photo-bleaching of lamellipodial actin
in a migrating cell (Wang, 1985, Lai et al, 2008)



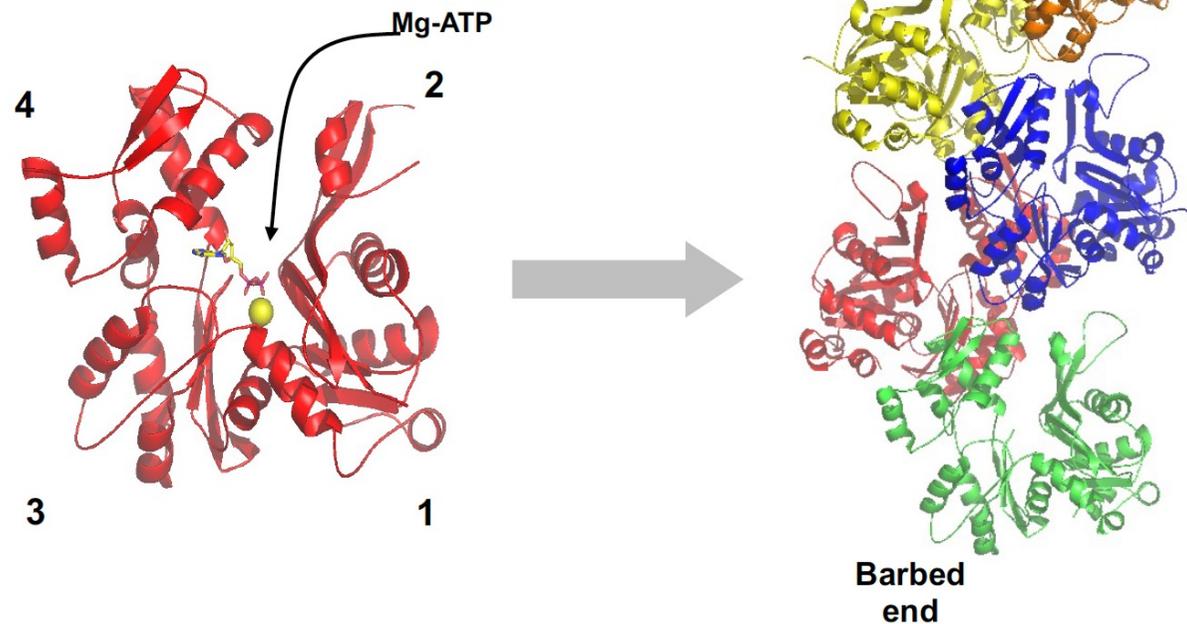


Co expression of
RFP-actin
+
photoactivable
GFP-actin

**FRAP of the
central part of
the cell**

La dynamique de l'actine produit la force nécessaire au mouvement

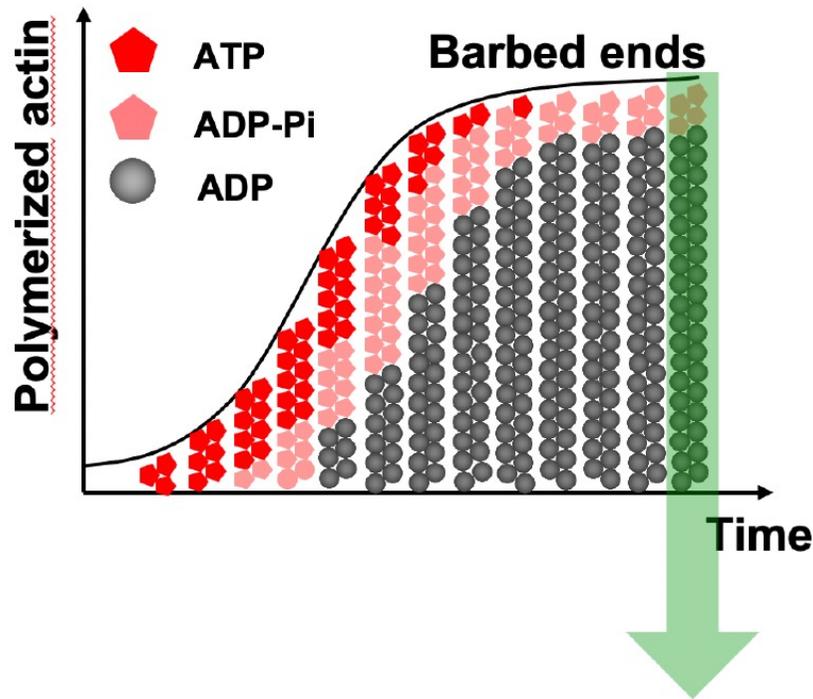
1. Actin is a conserved eukaryotic globular protein of 42 kDa
2. Actin polymerises into polarised helical filaments
3. Actin binds 1 molecule of ATP



La dynamique de l'actine produit la force nécessaire au mouvement

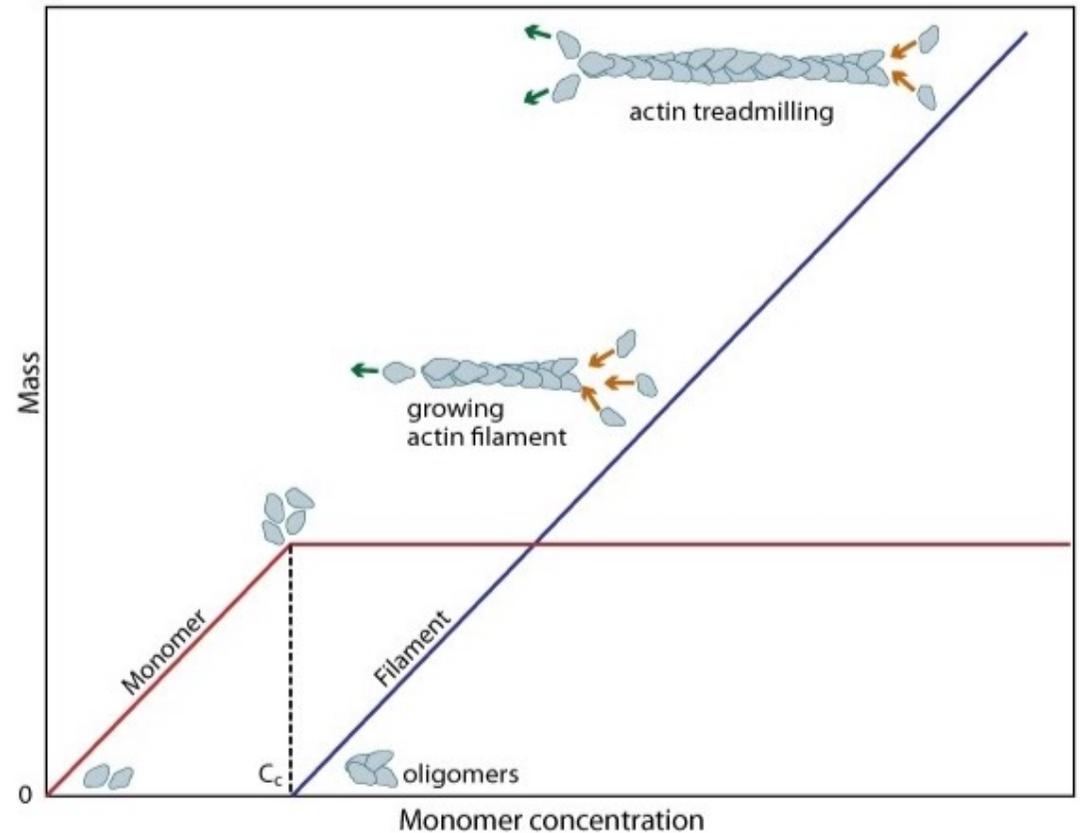
A RETENIR !

A



Dans les cellules le cytosquelette d'actine est maintenu à un état d'équilibre

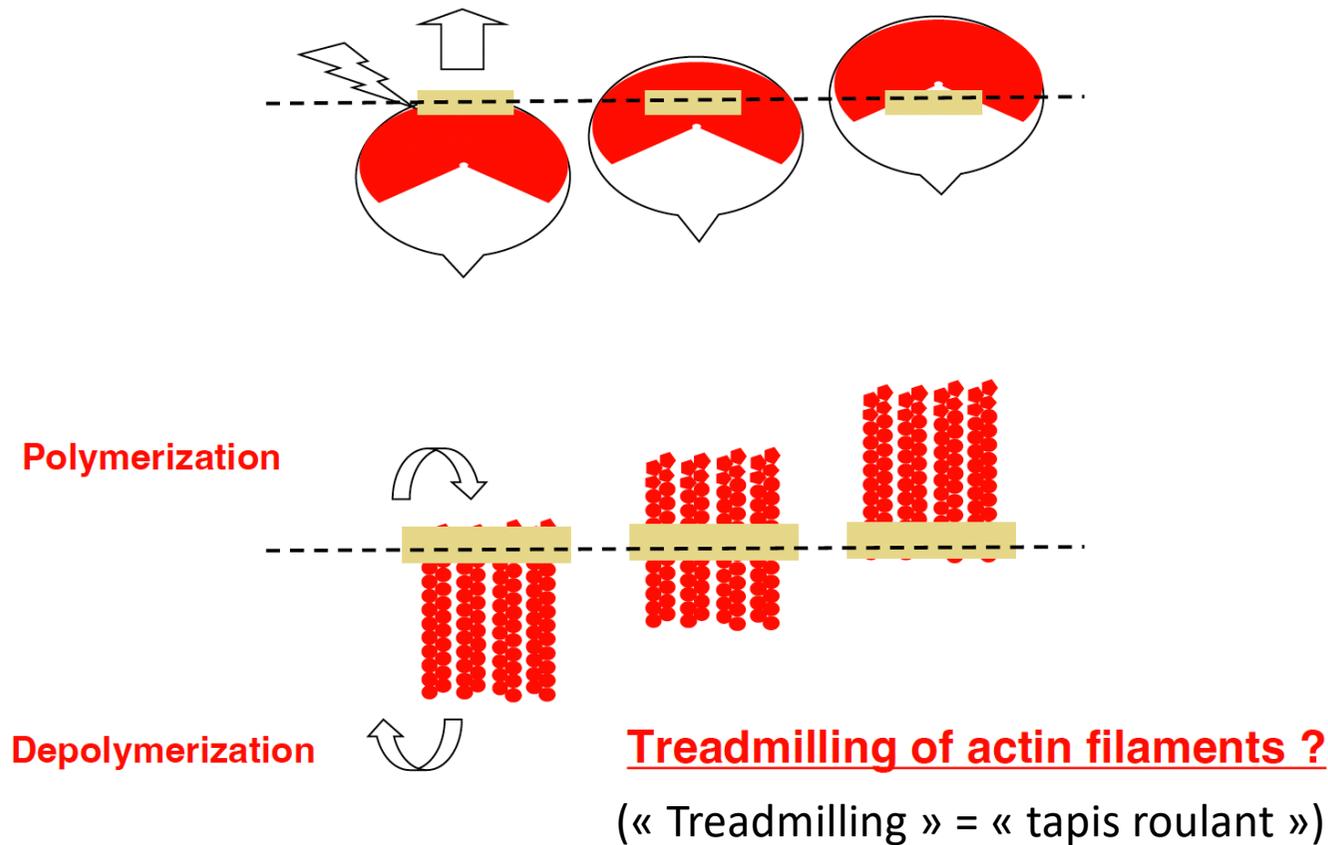
B



A l'état d'équilibre, la polymérisation des filaments d'actine côté + (Barbed-end) compense la dépolymérisation des filaments d'actine côté - (Pointed-end)

La dynamique de l'actine produit la force nécessaire au mouvement

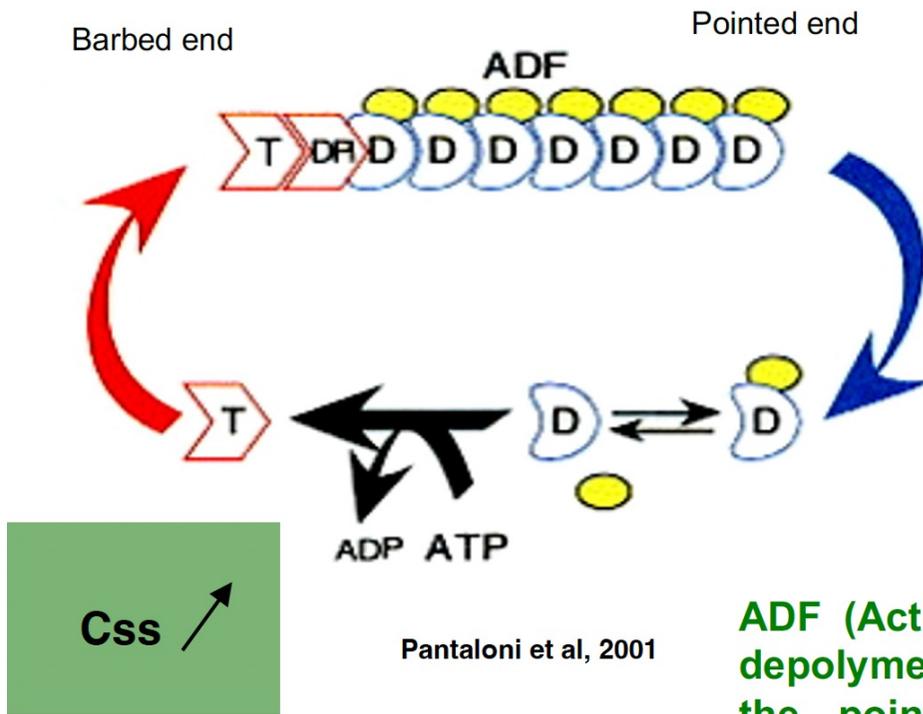
Photo-bleaching of lamellipodial actin
in a migrating cell (Wang, 1985)



Cependant, le mécanisme de tapis roulant est trop lent pour rendre compte des rapides processus observés dans les cellules vivantes!

Les ADF (Actin Depolymerizing Factor) favorise la dépolymérisation des filaments côté -

A RETENIR !

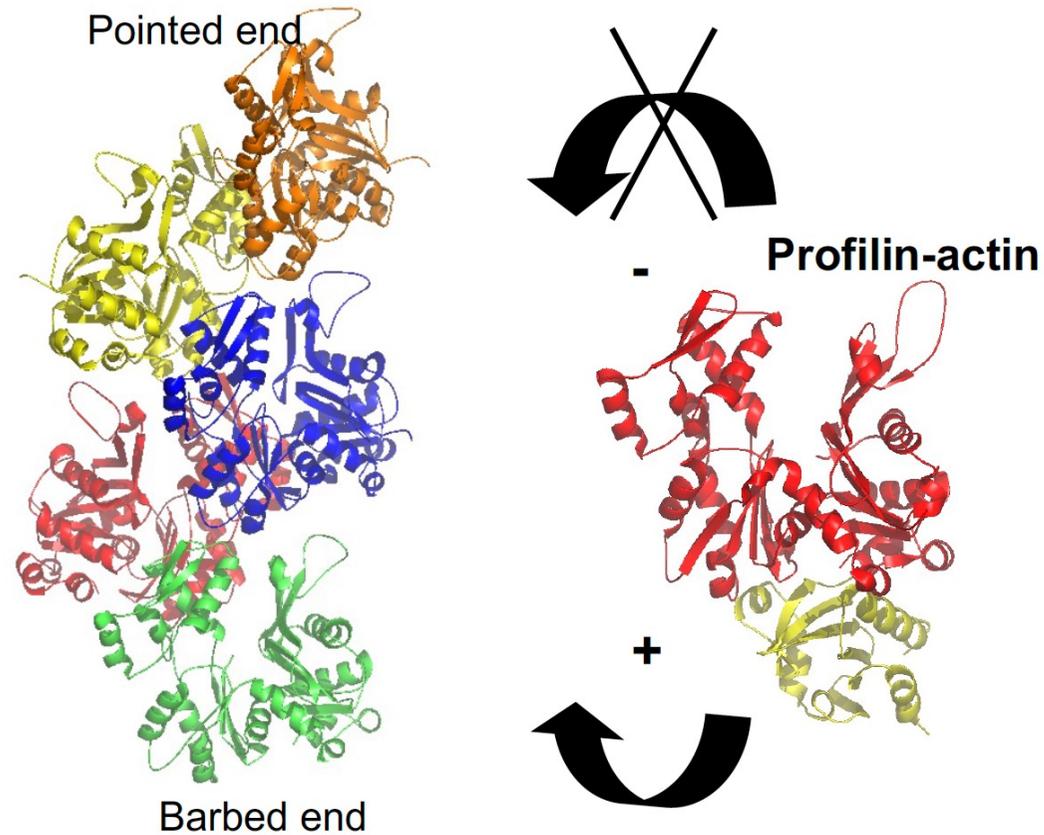


Pantaloni et al, 2001

ADF (Actin Depolymerizing Factor) : depolymerises actin filaments from the pointed end to increase the concentration of monomeric actin at steady state which finally enhances barbed end elongation.

La Profilin favorise la polymérisation des filaments côté +

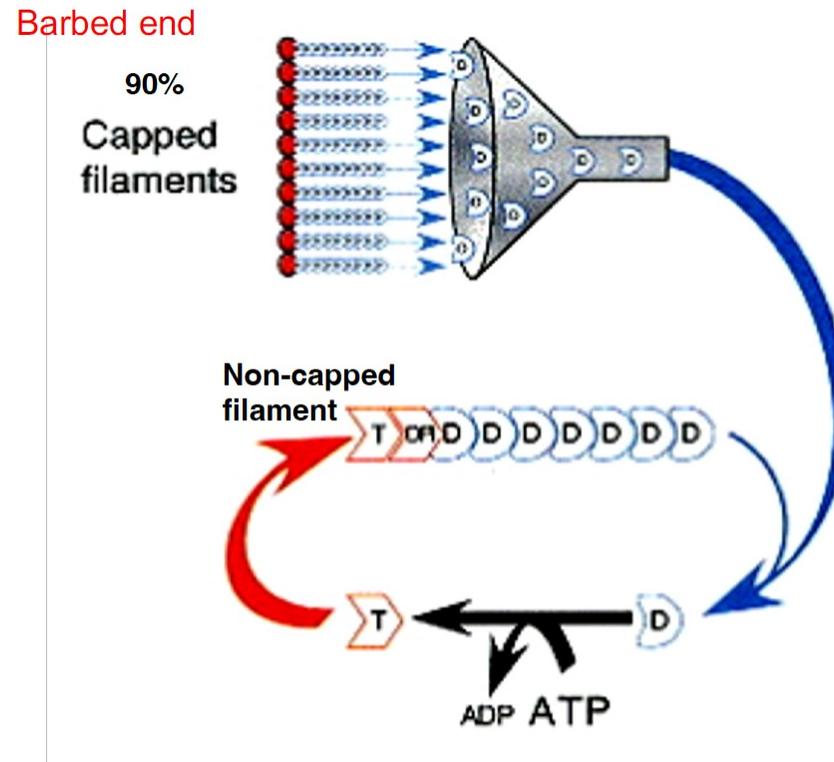
A RETENIR !



Schutt et al., 1993

Des protéines de coiffe (CP) bloquent la polymérisation côté + et augmentent le phénomène de tapis roulant des filaments non coiffés

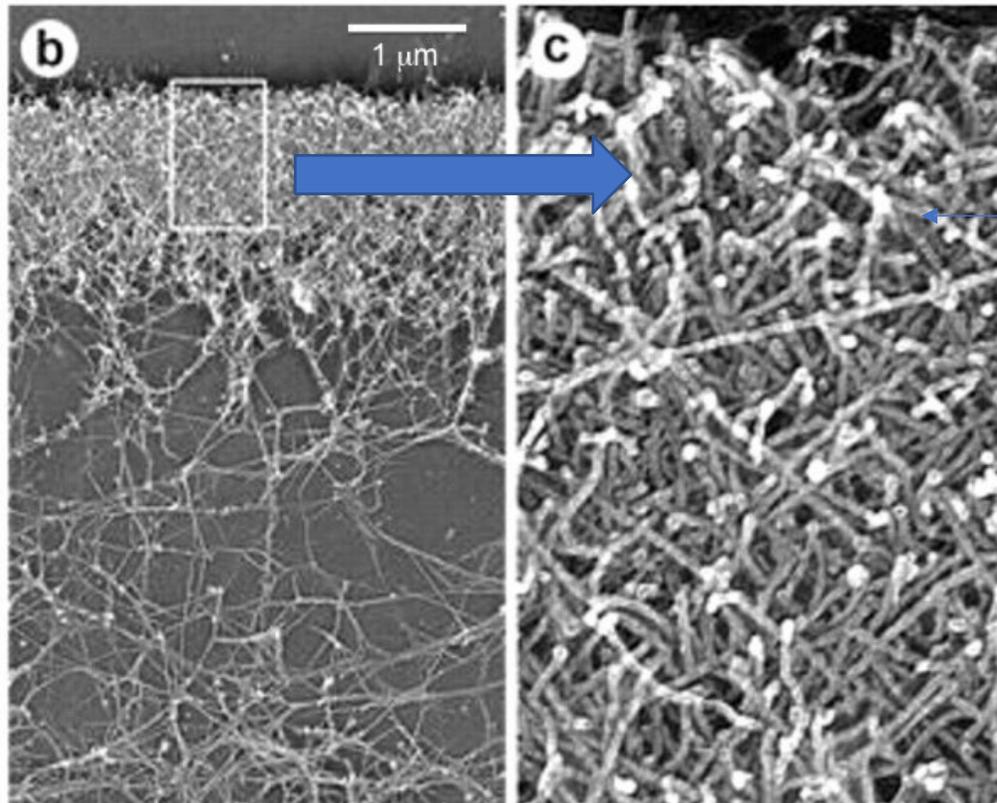
A RETENIR !



Problème: In fine les CP bloquent le système. Les cellules doivent donc générer de nouvelles extrémités + non coiffées pour contrebalancer l'activité des protéines CP!

Présence d'un réseau branché d'actine au front du lamellipode

Front
du lamellipode

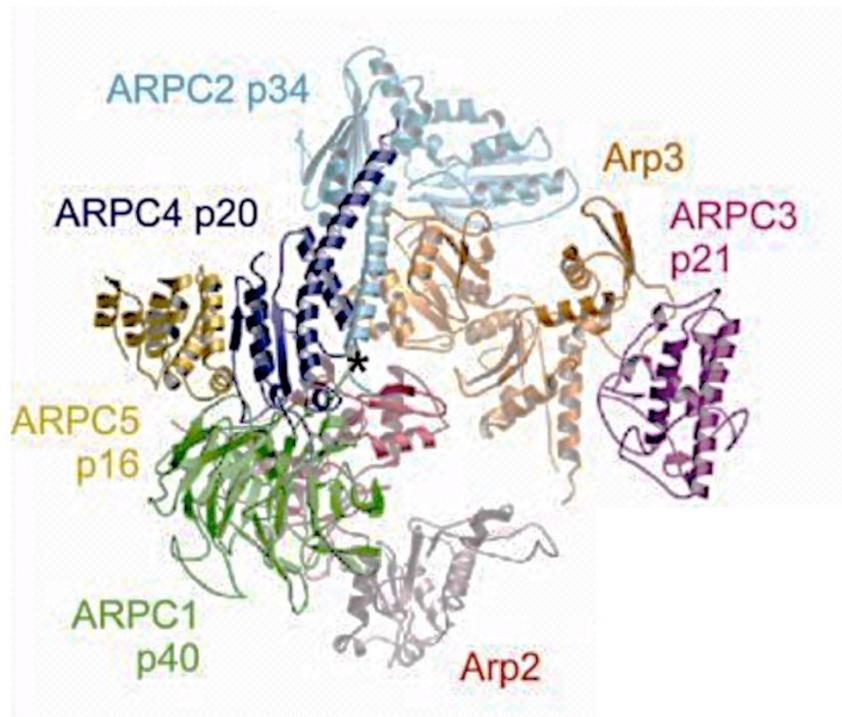


Réseau branché
d'actine
(en forme de Y)

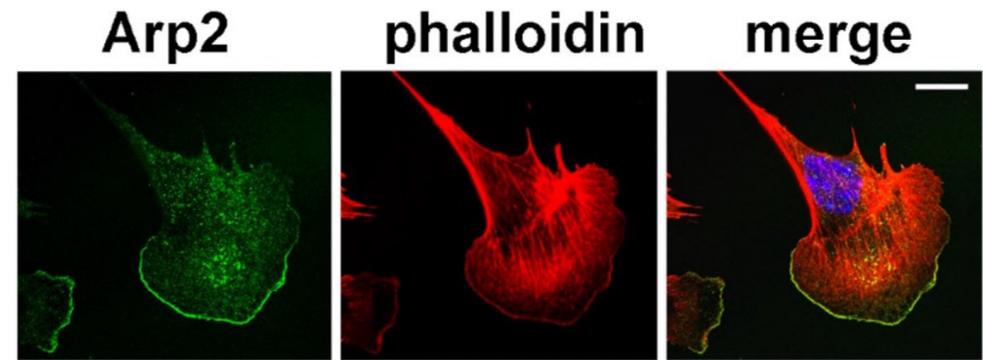
Micrographie électronique au niveau d'un kératinocyte
de xénope

Le complexe ARP2/3 est localisé au front du lamellipode au niveau des points de branchement

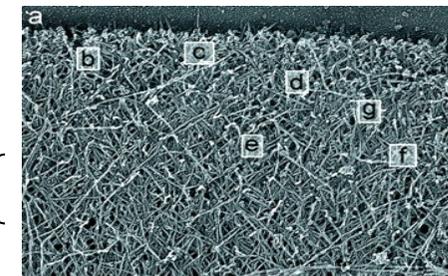
Structure



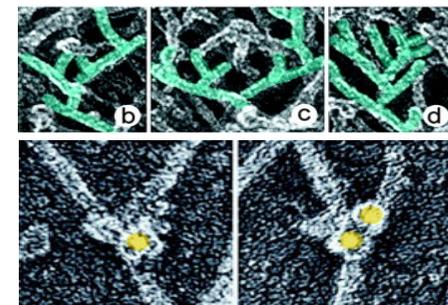
Localisation



Branched actin network



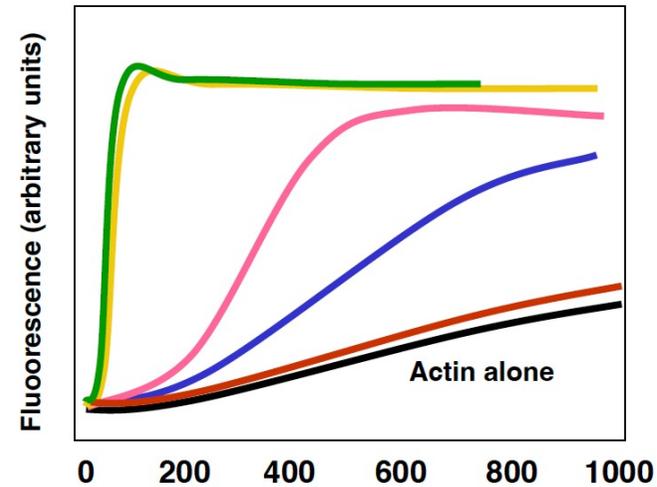
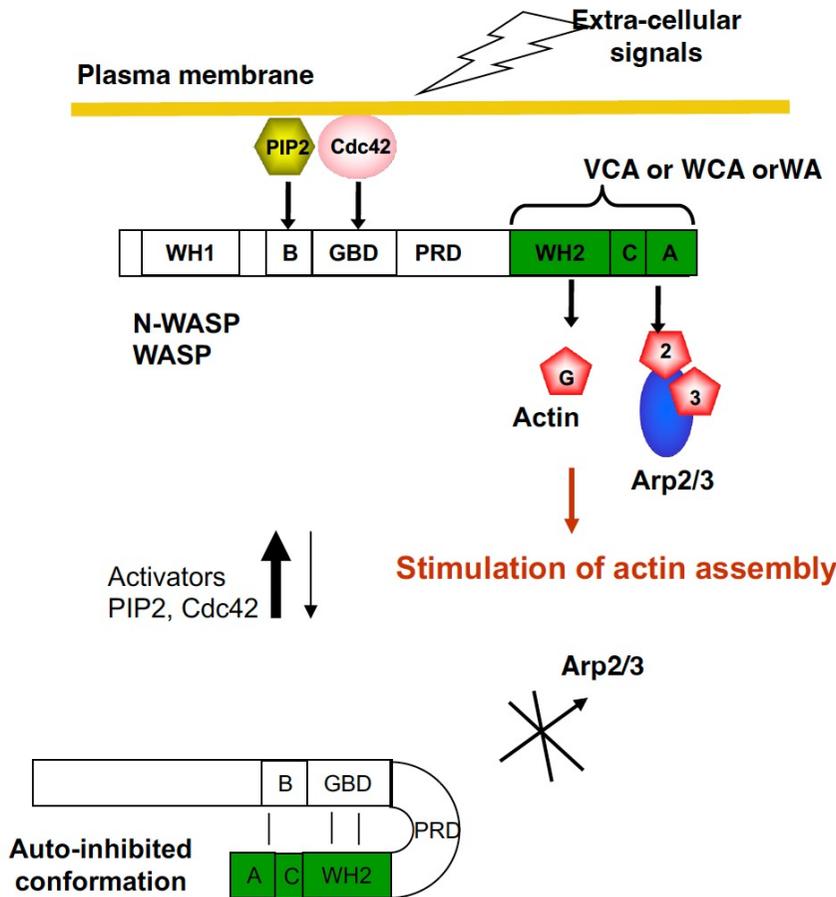
Immuno-gold labelling of Arp2/3 (EM)



From Svitkina et al, 1999

Le complexe ARP2/3 et les protéines WASP favorisent la formation de nouveaux filaments d'actine à partir de filaments préexistants

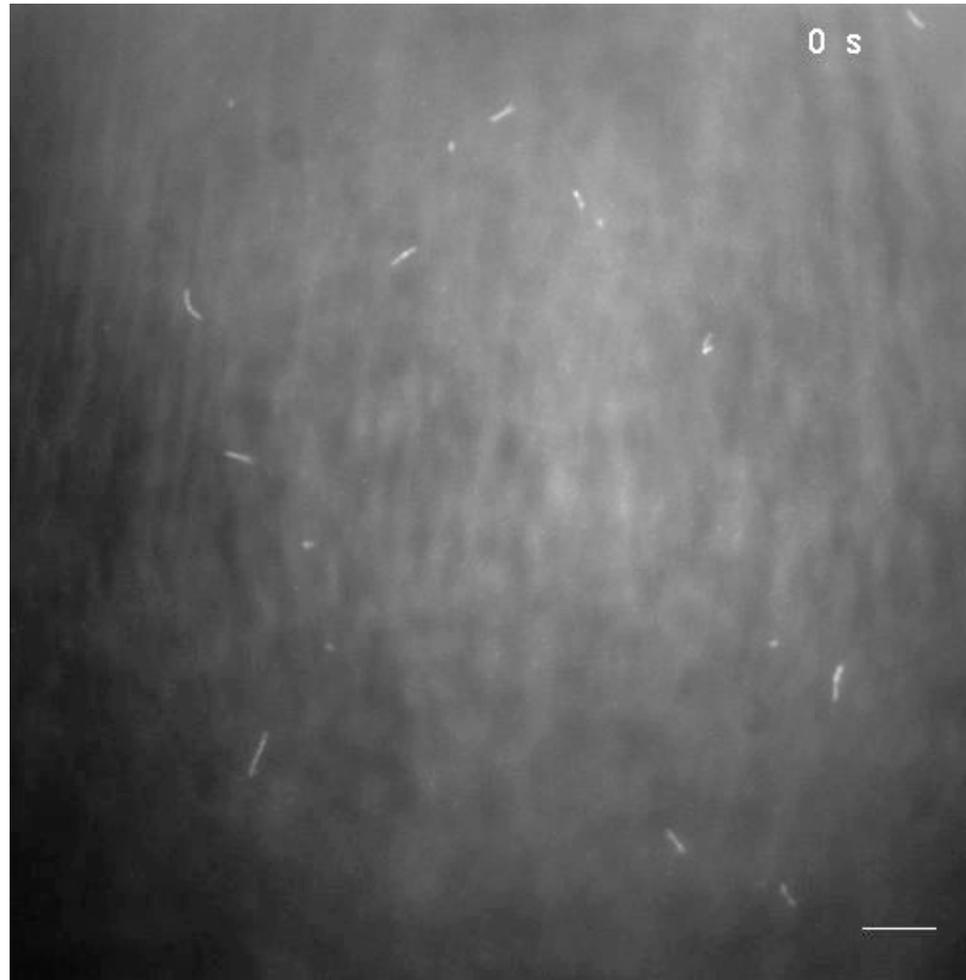
A RETENIR !



- Actin alone
- Actin + Arp2/3
- Actin + Arp2/3 + N-WASP
- Actin + Arp2/3 + N-WASP + Cdc42
- Actin + Arp2/3 + N-WASP + Cdc42 + PIP2
- Actin + Arp2/3 + VCA

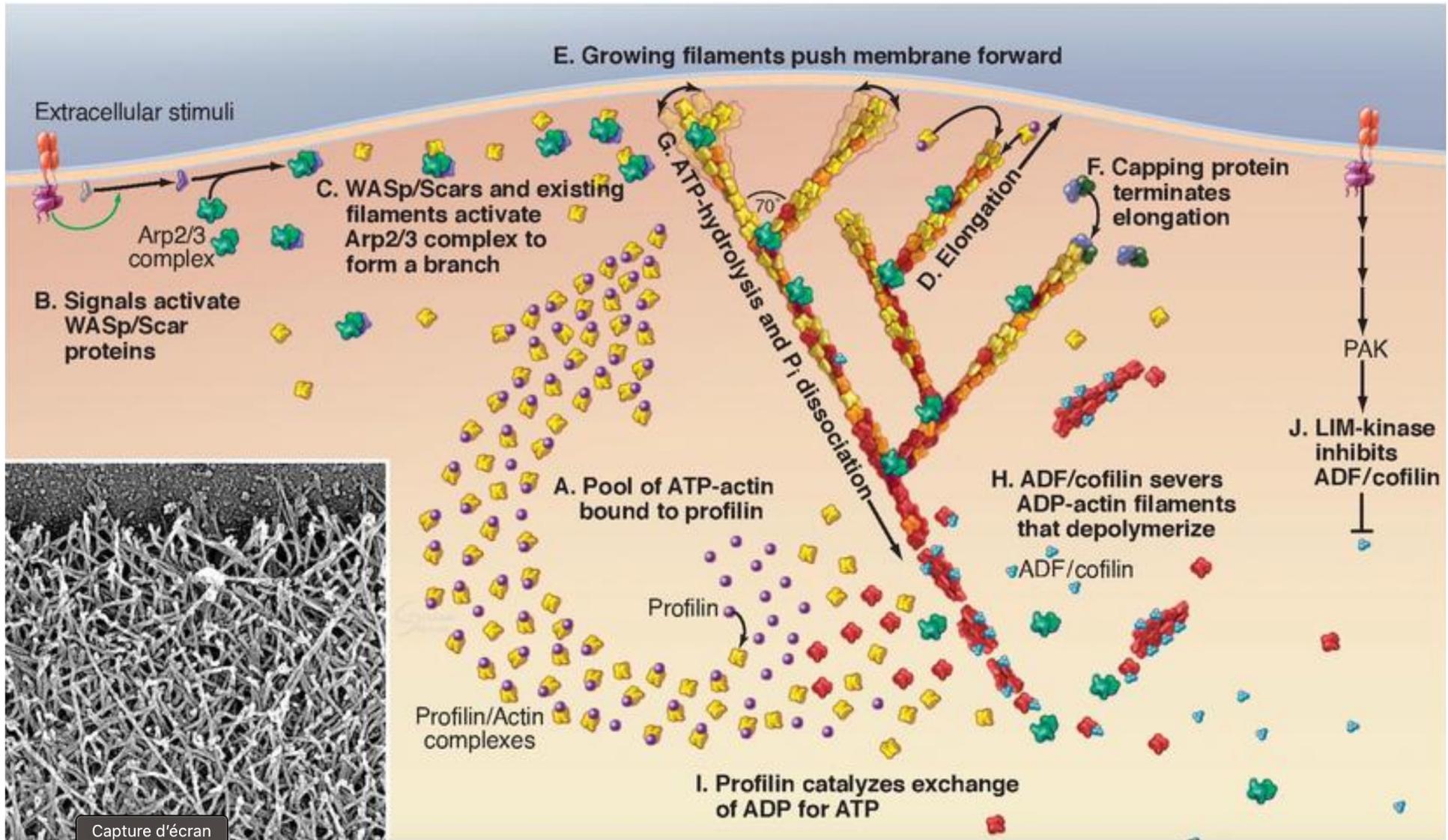
From Rohatgi et al, 1999
Egile et al, 1999

Le complexe ARP2/3 et les protéines WASP favorisent la formation de nouveaux filaments d'actine à partir de filaments préexistants



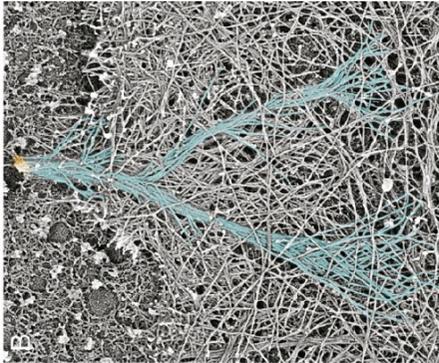
In vitro (Arp2/3 + VCA + actin)

Dynamique du cytosquelette d'actine

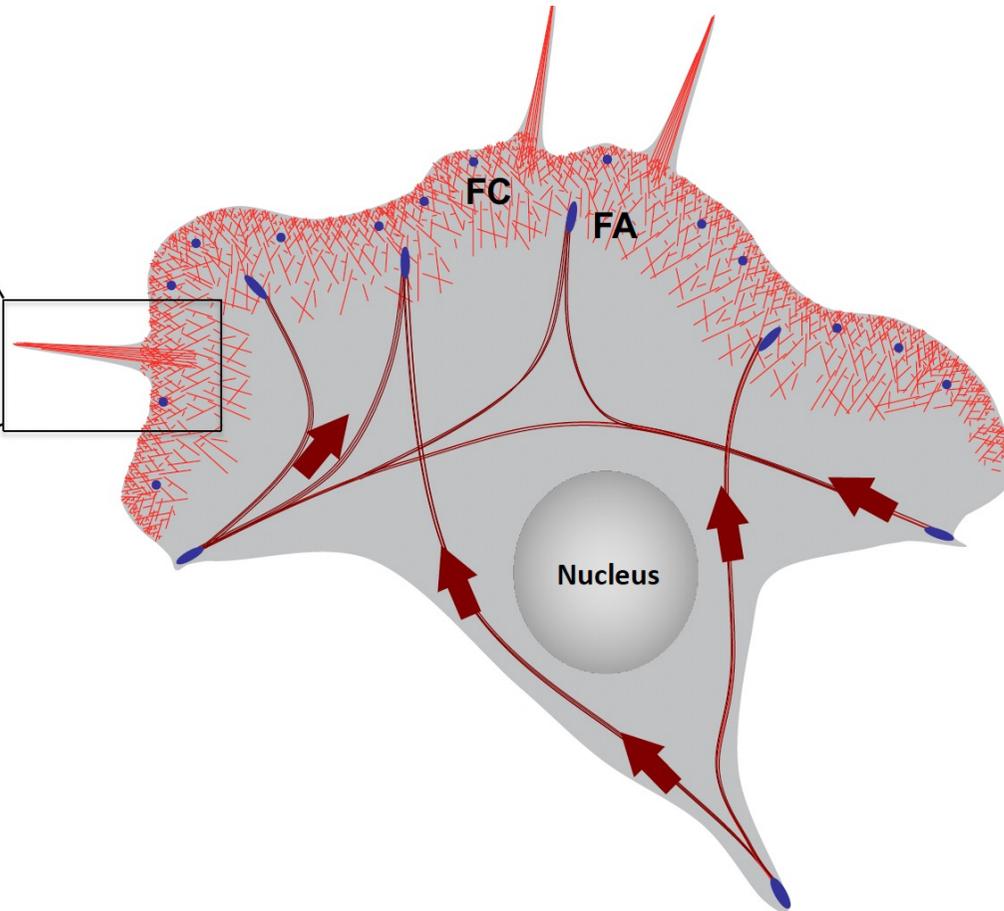


Filaments d'actine et filopodes

Les filopodes



Filopodium observed in electron microscopy (TEM). The actin filaments that belong to the filopodium are highlighted in blue



Actin network (polymerizing) 

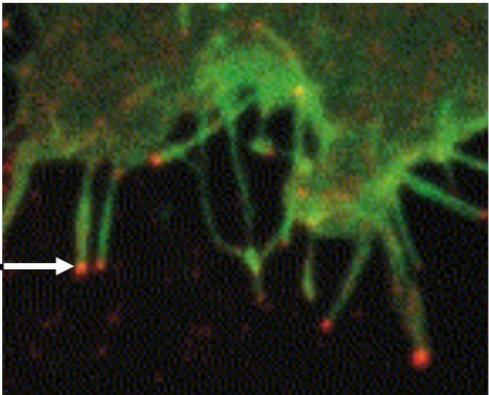
Actomyosin stress fibers (contractile) 

 **FA : Focal adhesion**

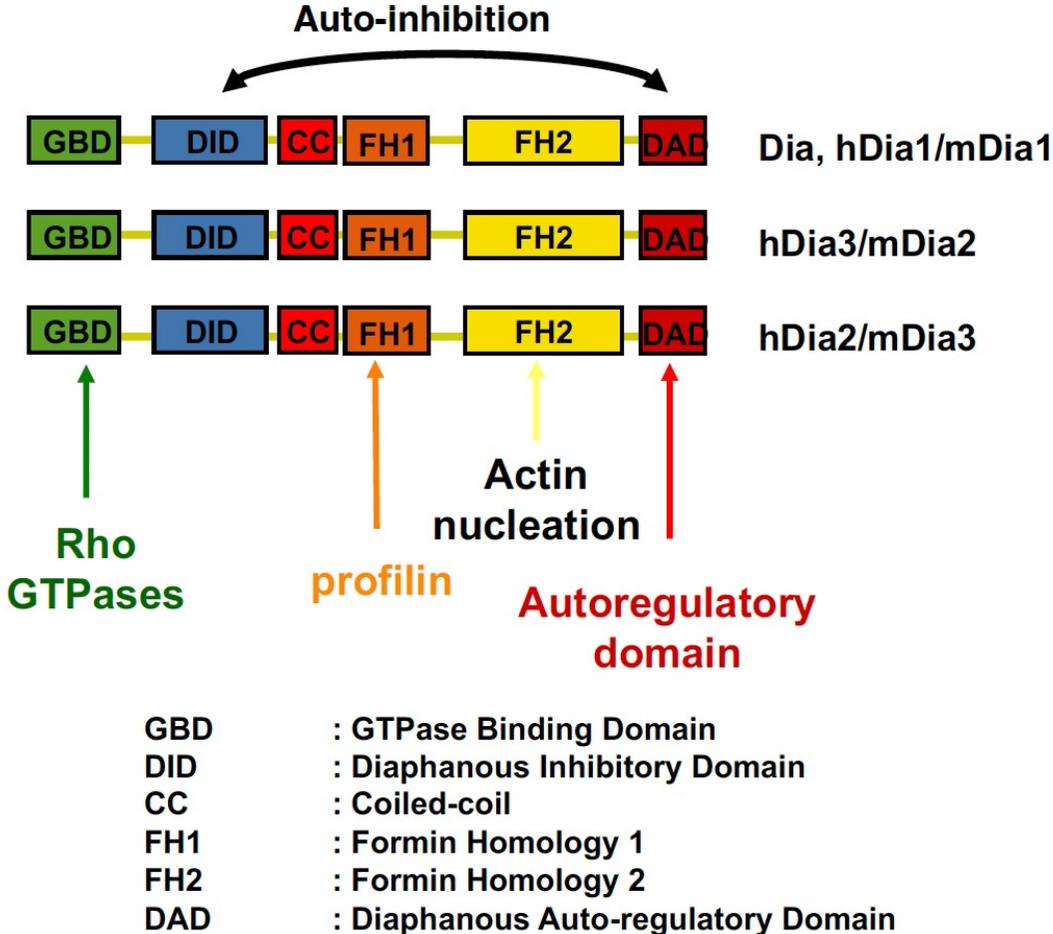
 **FC : Focal complex /nascent adhesion**

Les formines

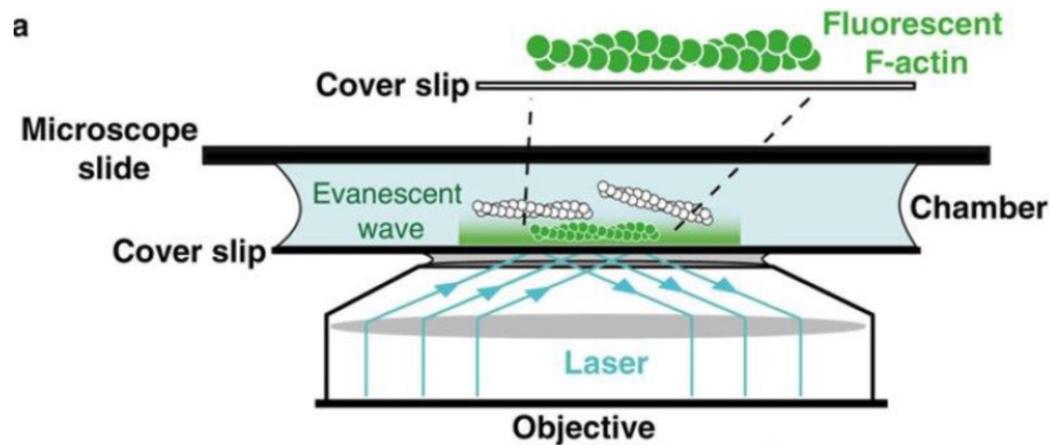
Filopodia, cell polarity,
endosome movement,
cytokinesis



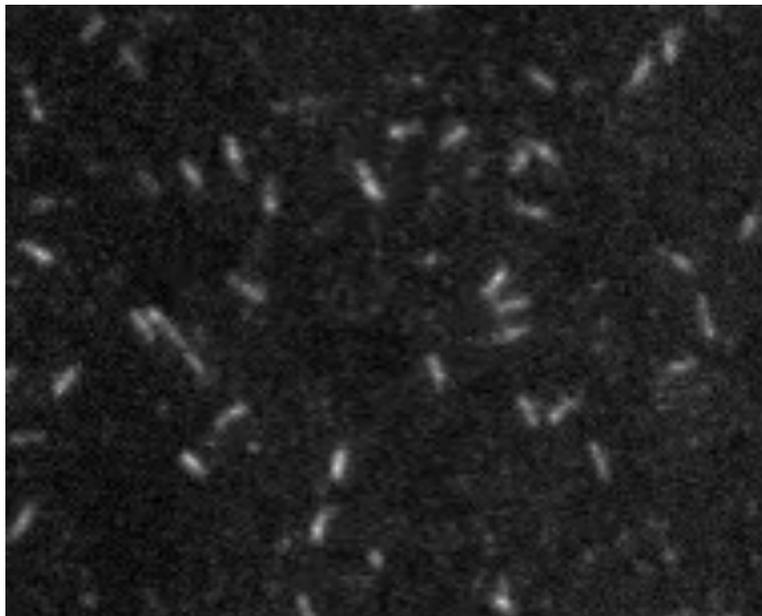
Filopodia
(Faix et Grosse, 2006)



Les formines contribuent à l'élongation des filaments d'actine en présence de profiline



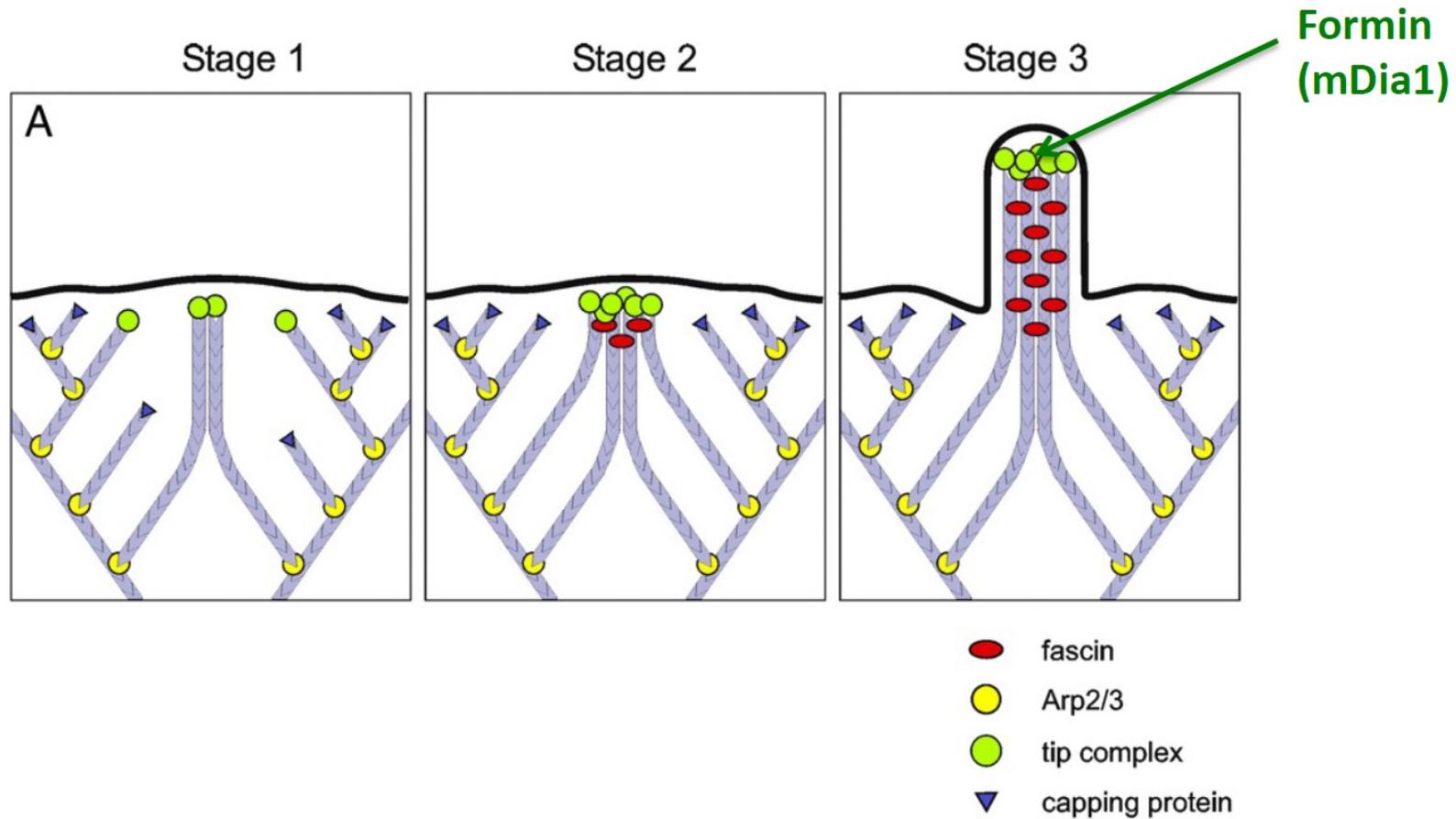
FH1-FH2



FH1-FH2 + Profilin



Mécanisme de formation des filopodes



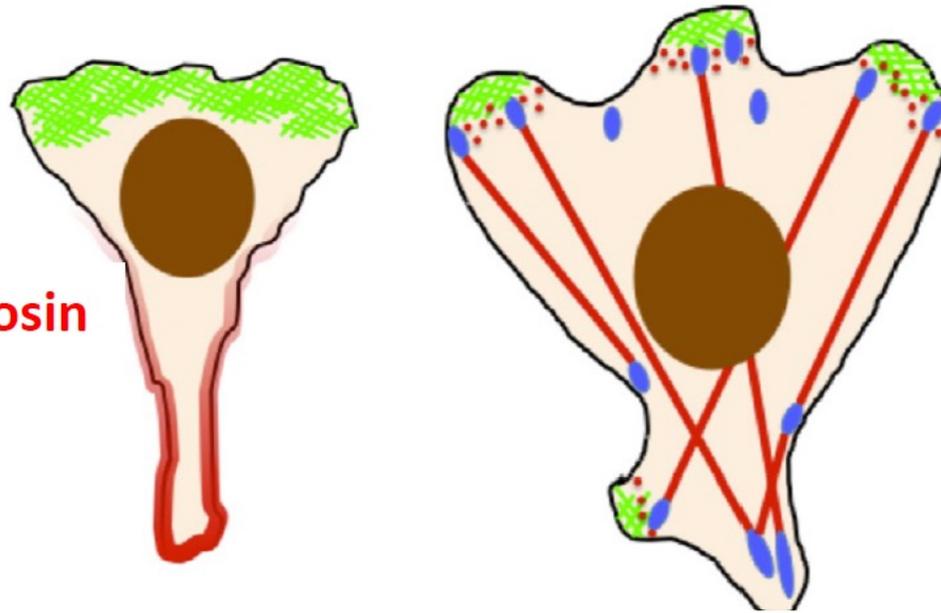
II/ Force de rétraction des membranes: Rôle des fibres d'actomyosines

Réseau d'actomyosine dans les cellules en migration

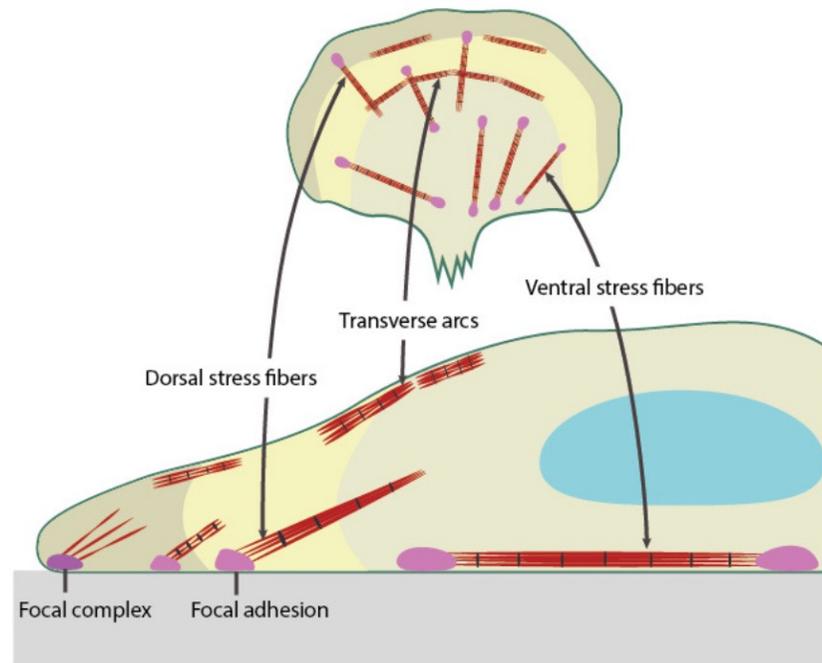
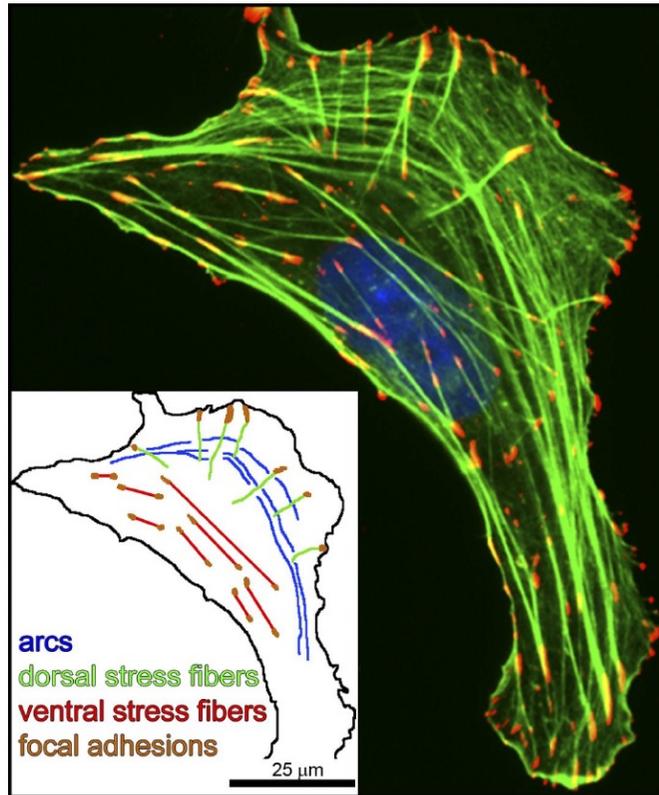
Polymerizing actin

Contractile Actomyosin

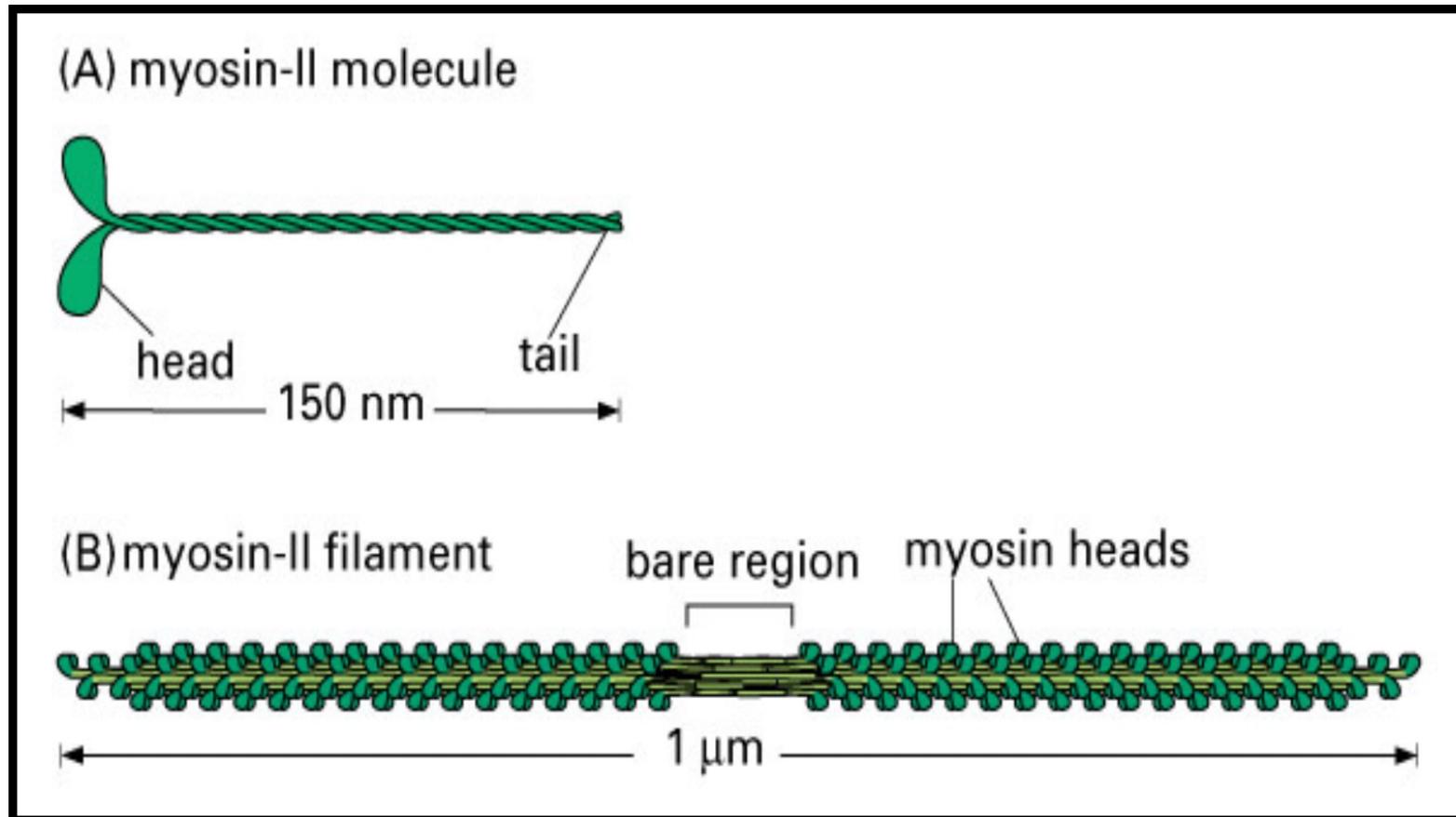
Focal adhesions



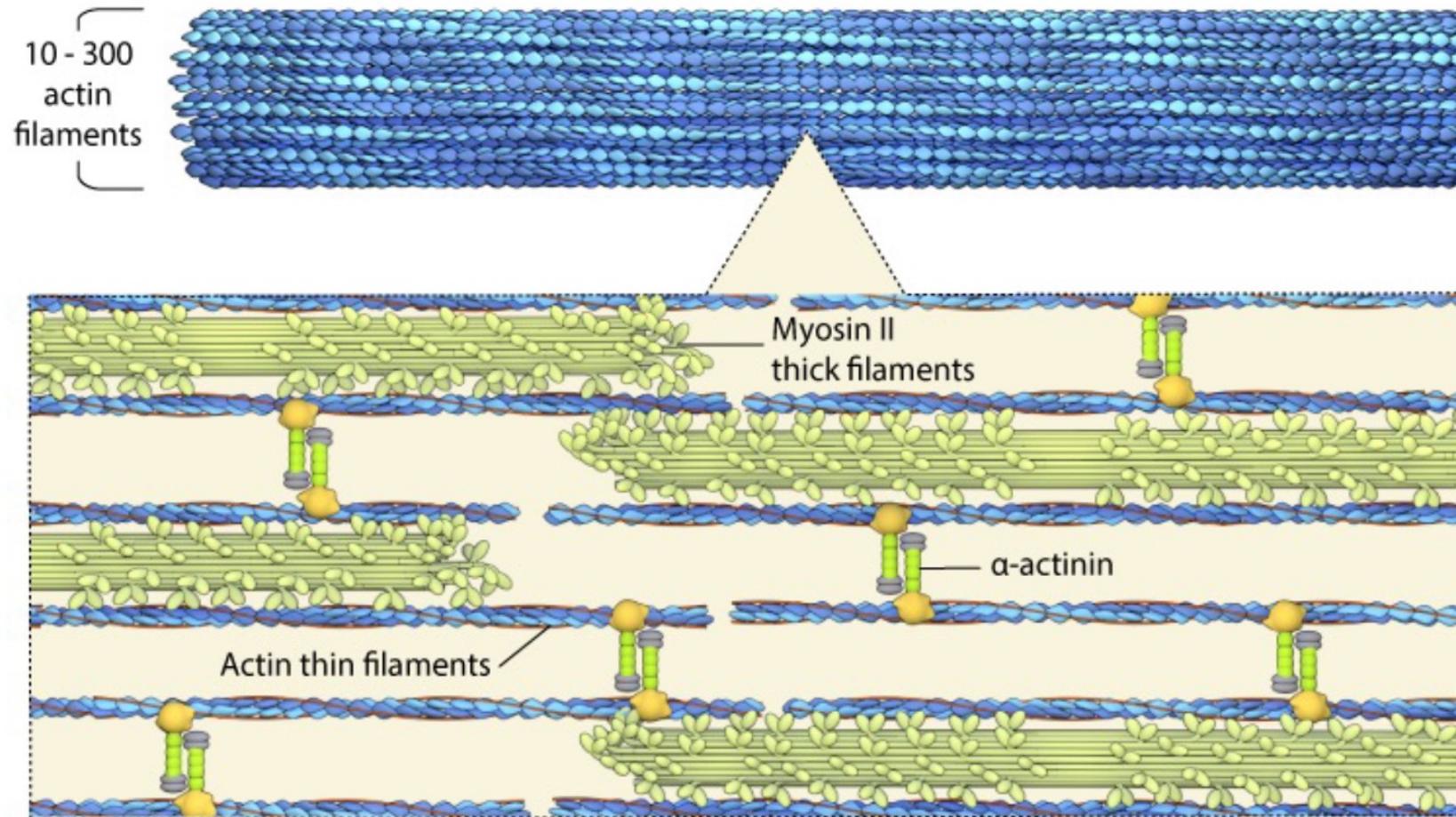
Classification des fibres de stress dans les cellules en migration



La myosine II s'assemble en mini-filaments bipolaires



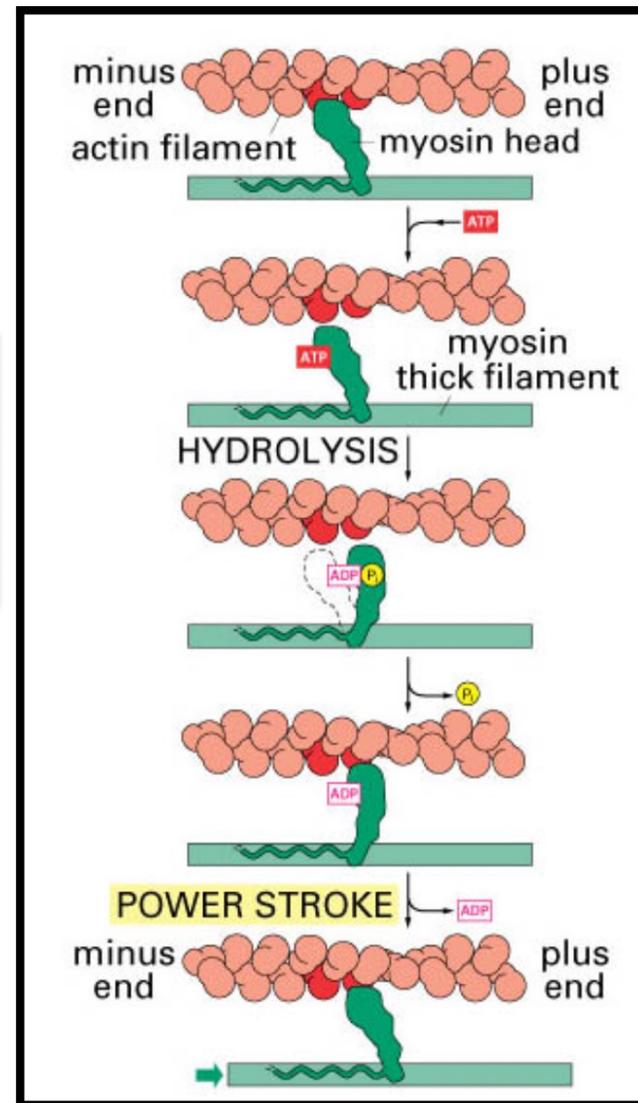
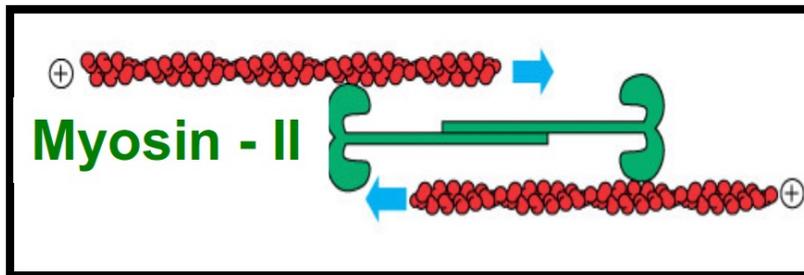
L' α -actinine relie les filaments d'actine et génère suffisamment de place pour l'insertion des fibres de myosine



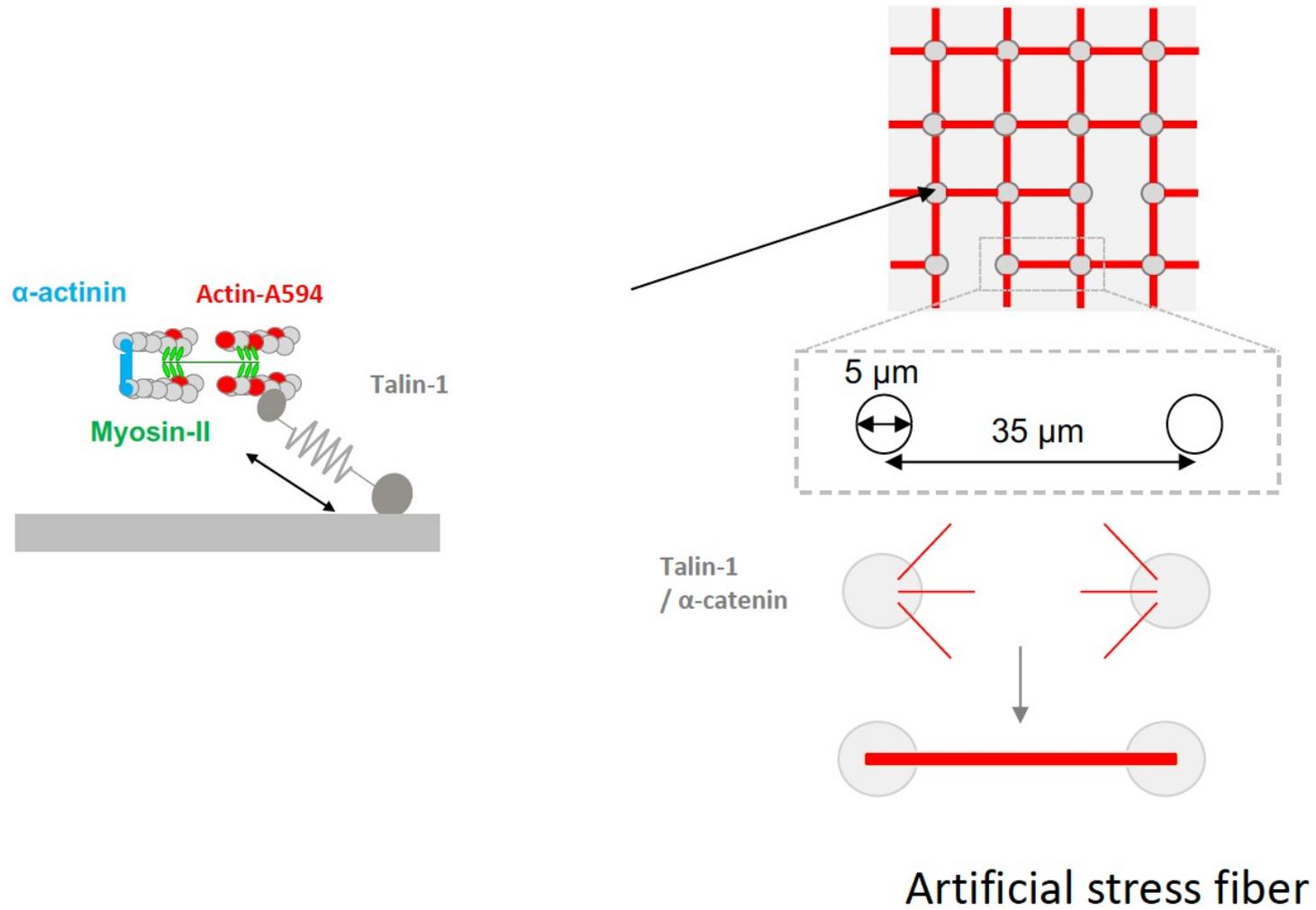
L'activité motrice de la myosine II favorise la contraction des fibres d'acto-myosine

A RETENIR !

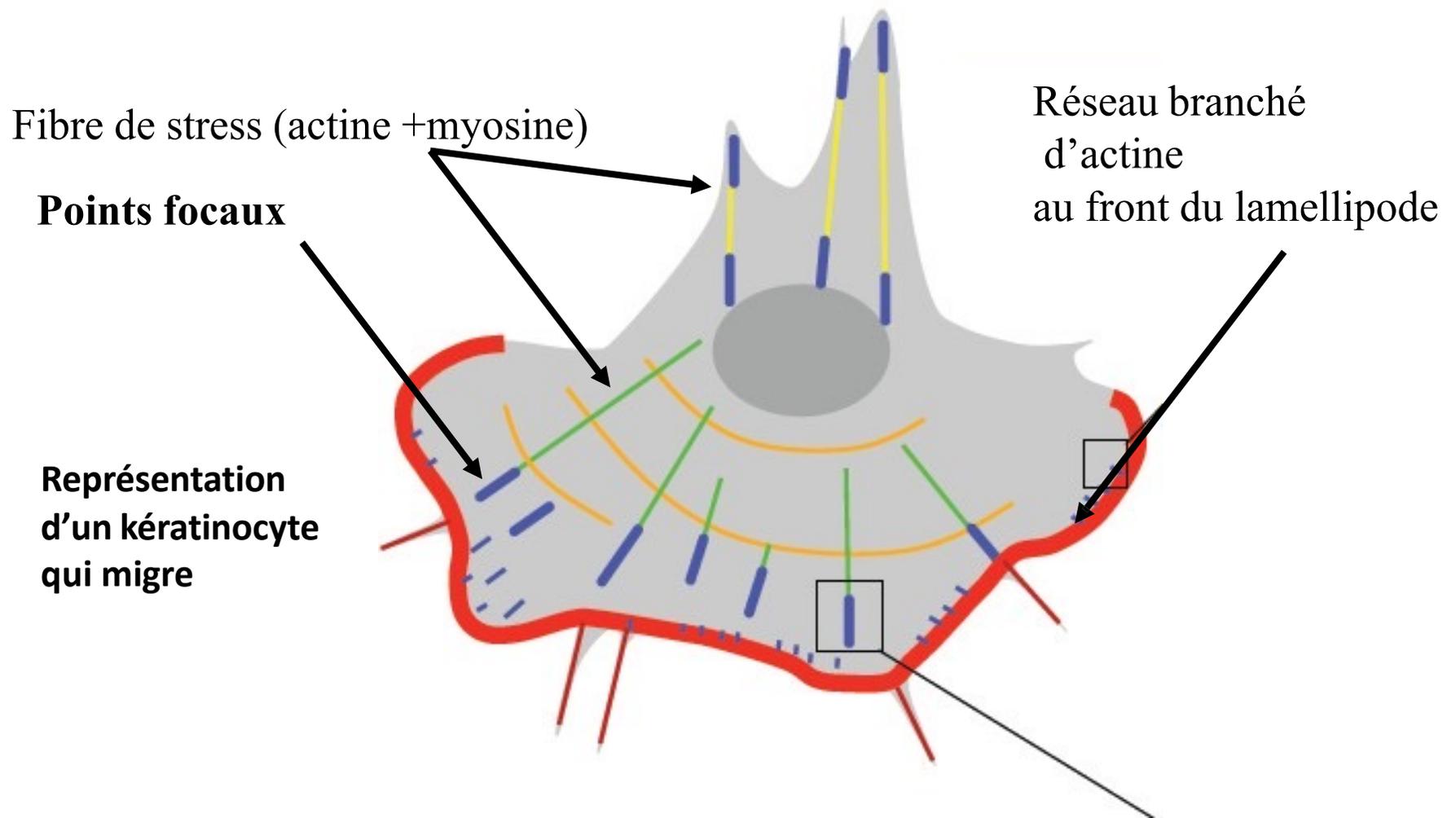
5.2. The motor activity of myosins



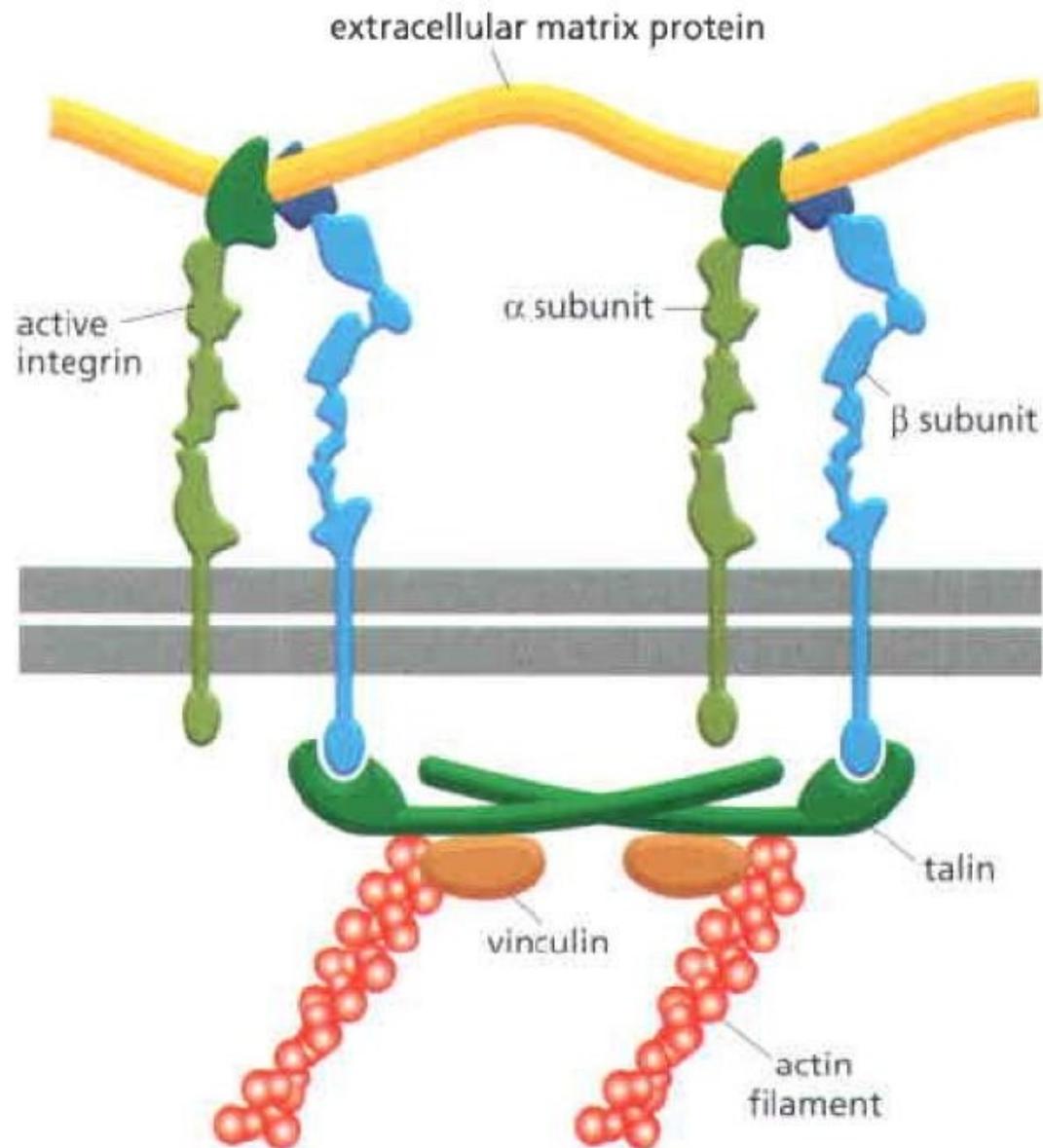
Reconstitution in vitro de fibres de stress d'acto-myosine



Adhésion cellule-MEC : Les points focaux d'adhésion

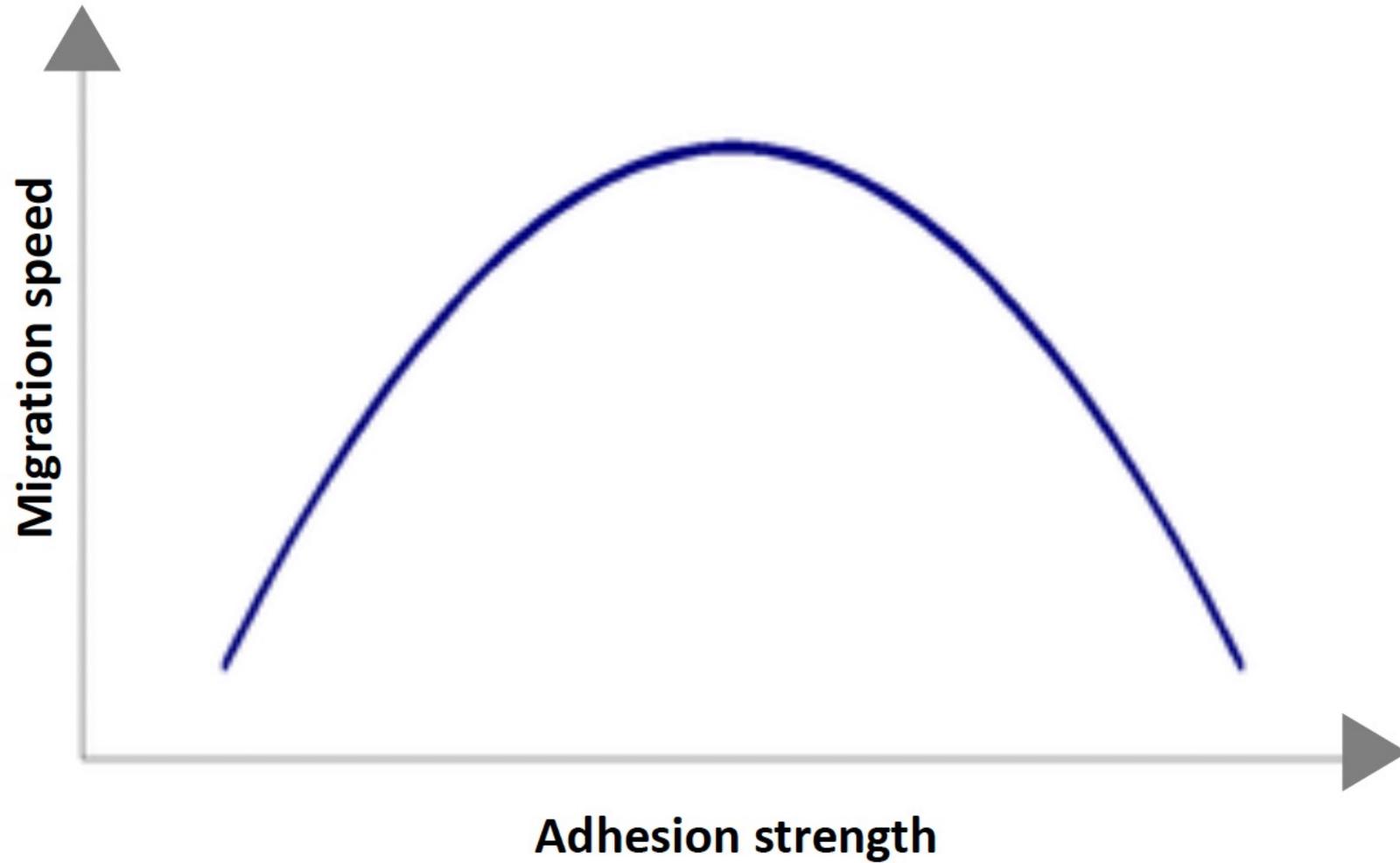


Intégrines et cytosquelette d'actine

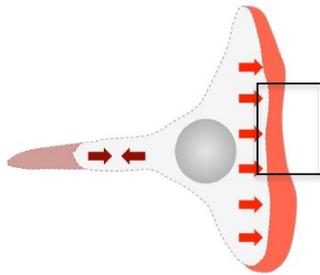


A RETENIR !

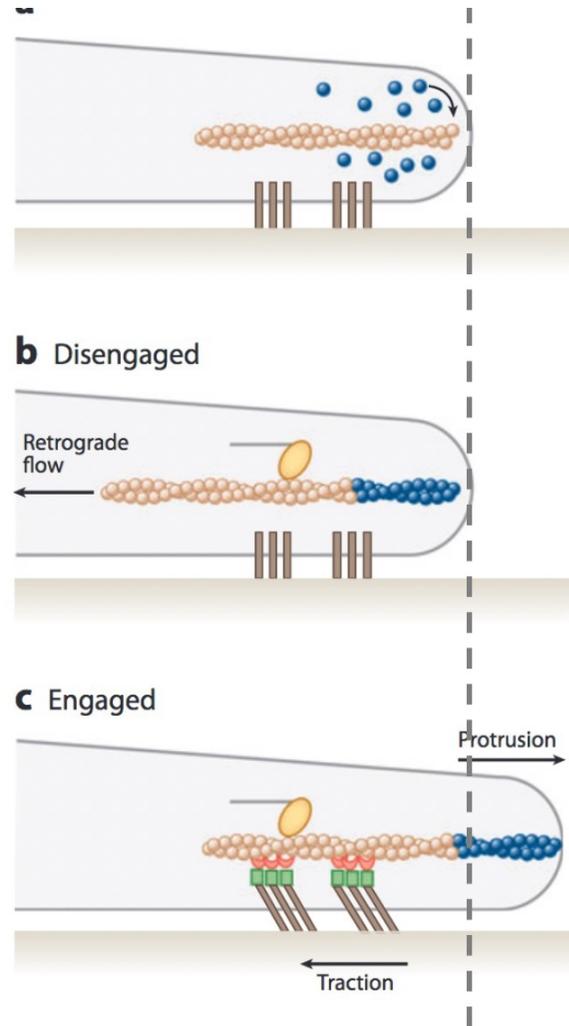
Relation entre force d'adhésion cellule/MEC et vitesse de migration



Adhésion cellule/MEC et force de protrusion



A RETENIR !

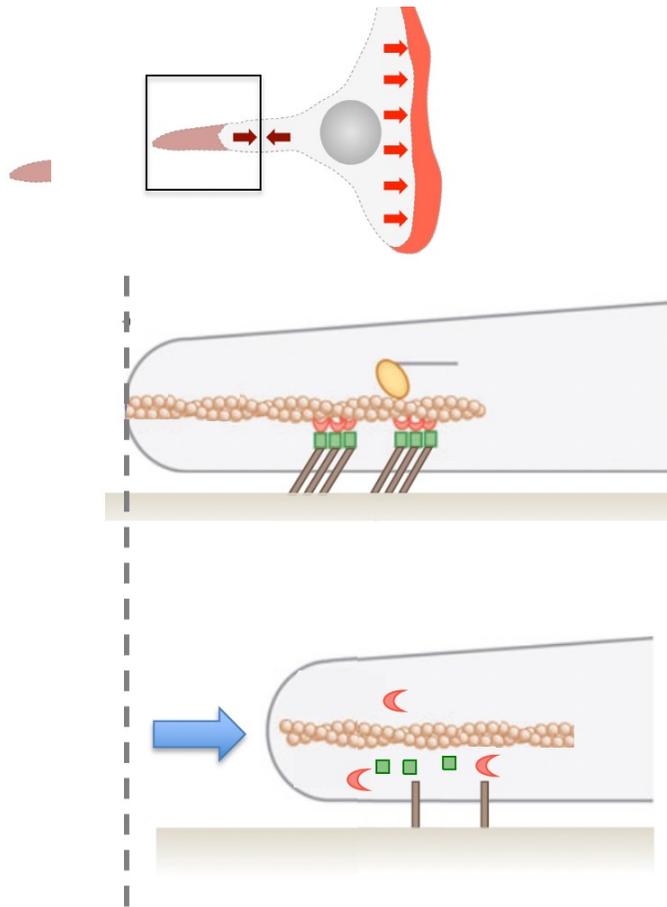


When the molecular clutch is disengaged, the pushing actin cytoskeleton is not anchored, it will not generate force on the membrane but move backwards as a retrograde flow

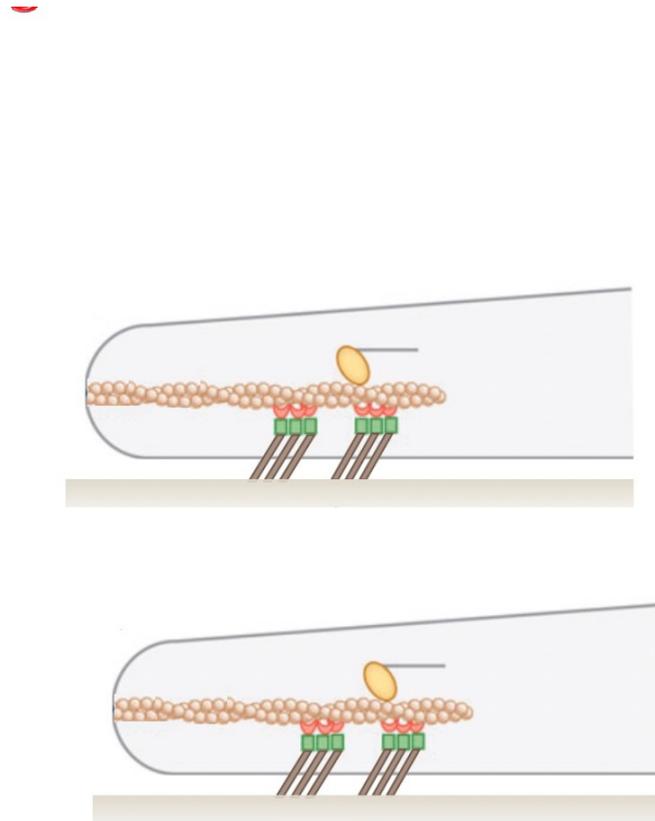
When the clutch is engaged, adhesion anchors the pushing actin cytoskeleton so that protrusion can occur instead of retrograde flow

Molecular clutch = Embrayage moléculaire

Adhésion cellule/MEC et r trraction



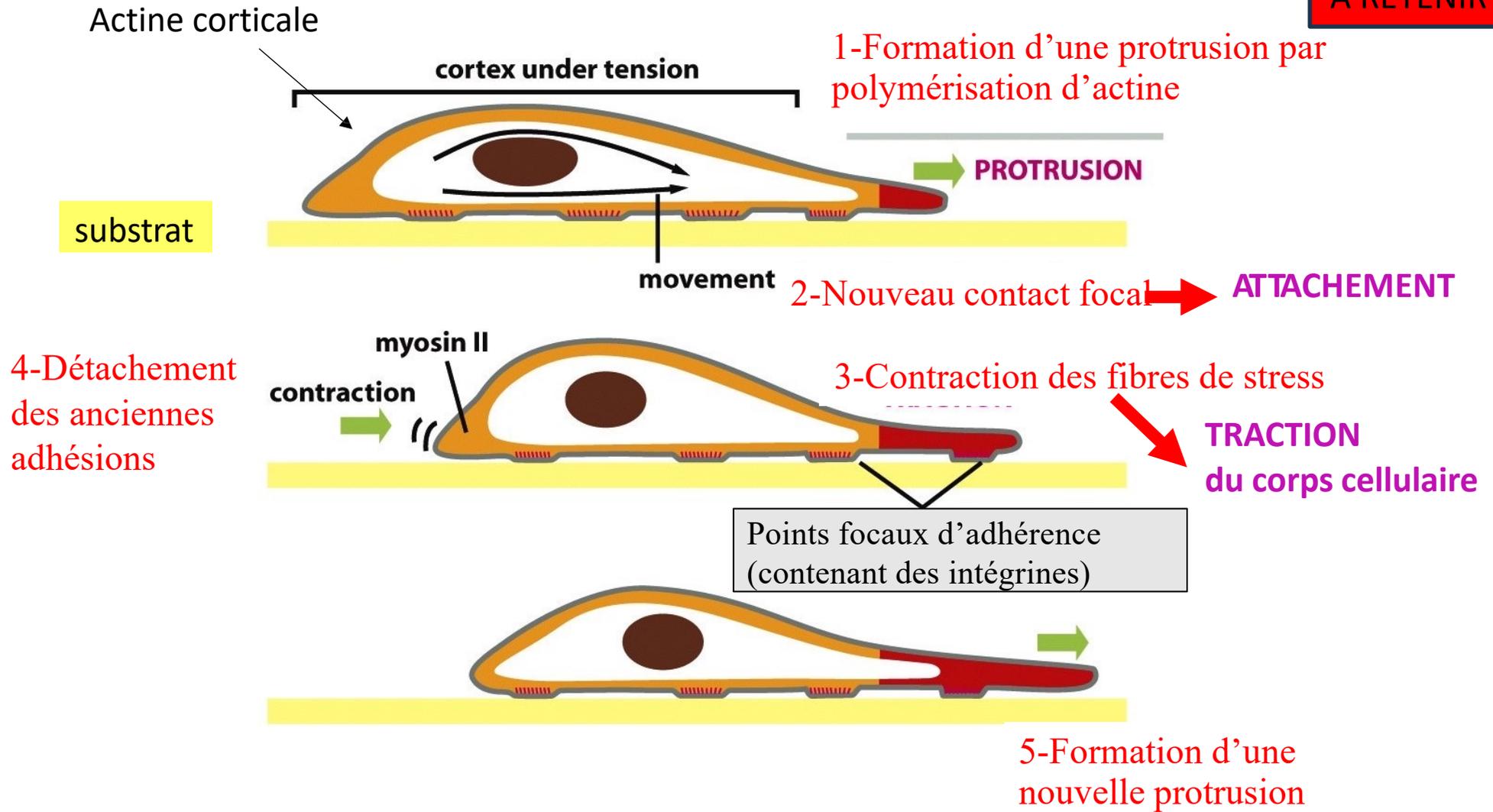
At the rear, adhesion detachment is necessary for actin and membrane to retract



At the rear, if adhesion is too strong, the cell does not detach and movement is impossible

Mécanisme de la migration cellulaire

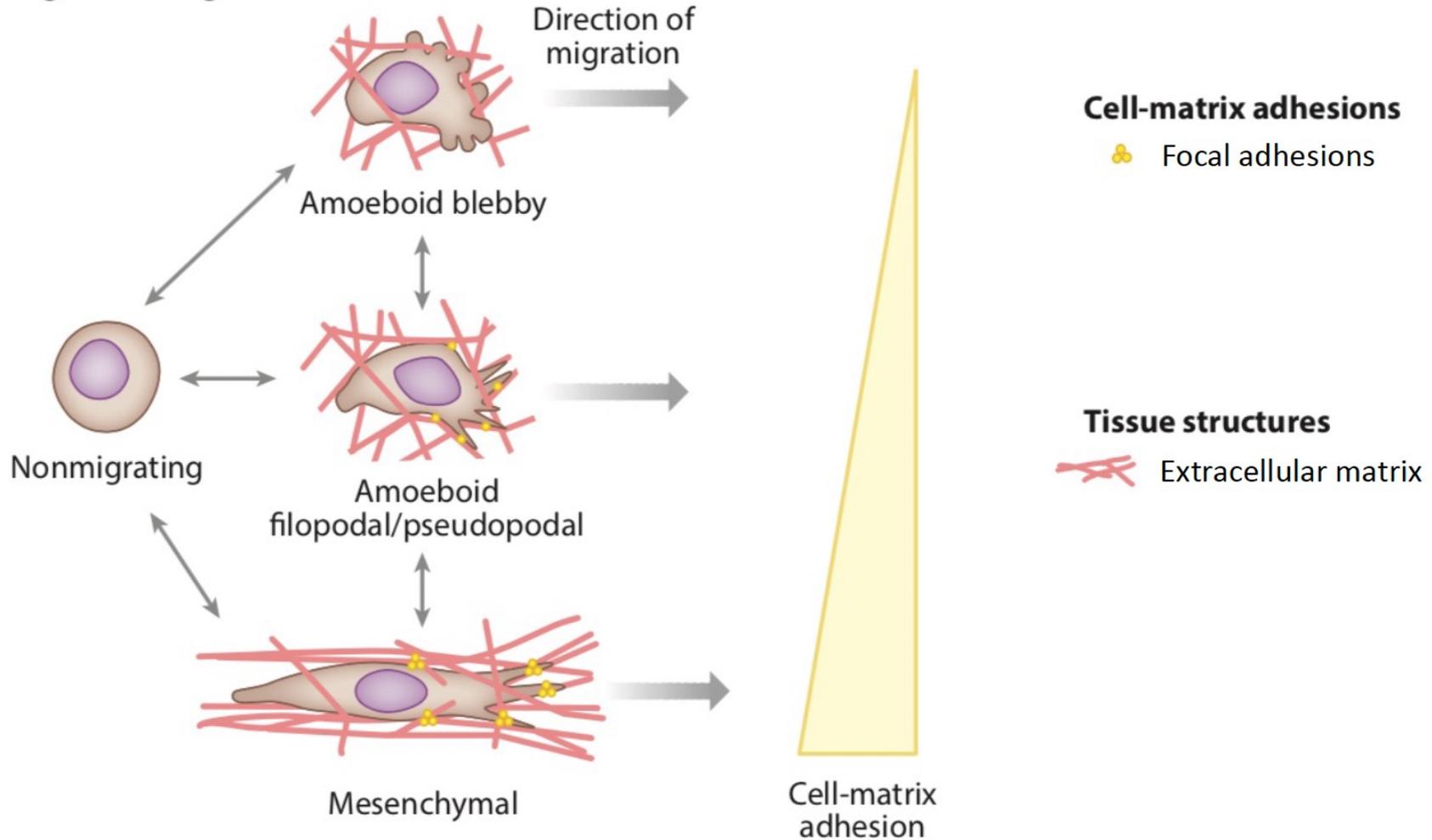
A RETENIR !



ETAPES de la migration

L'intensité de la force d'adhésion cellule/MEC dicte le mode de migration

a Single-cell migration



La migration est déclenchée par des facteurs extracellulaires

TD6

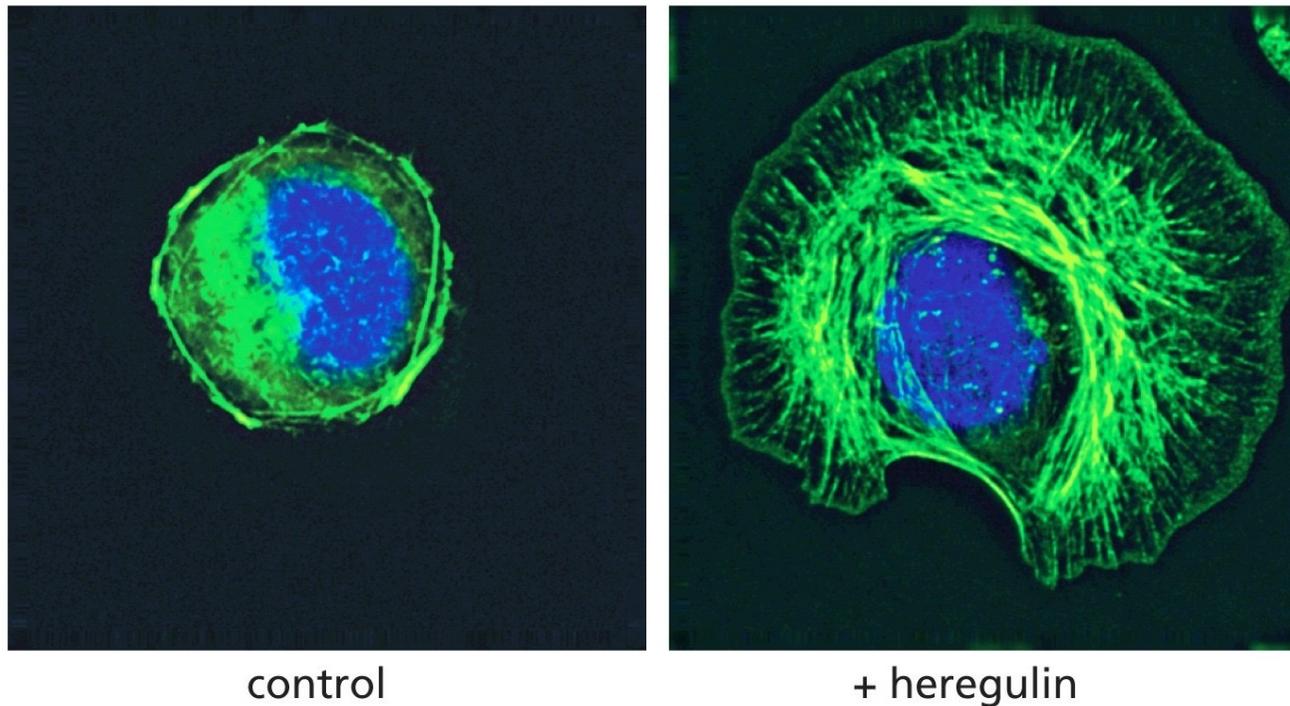


Figure 14.37c The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

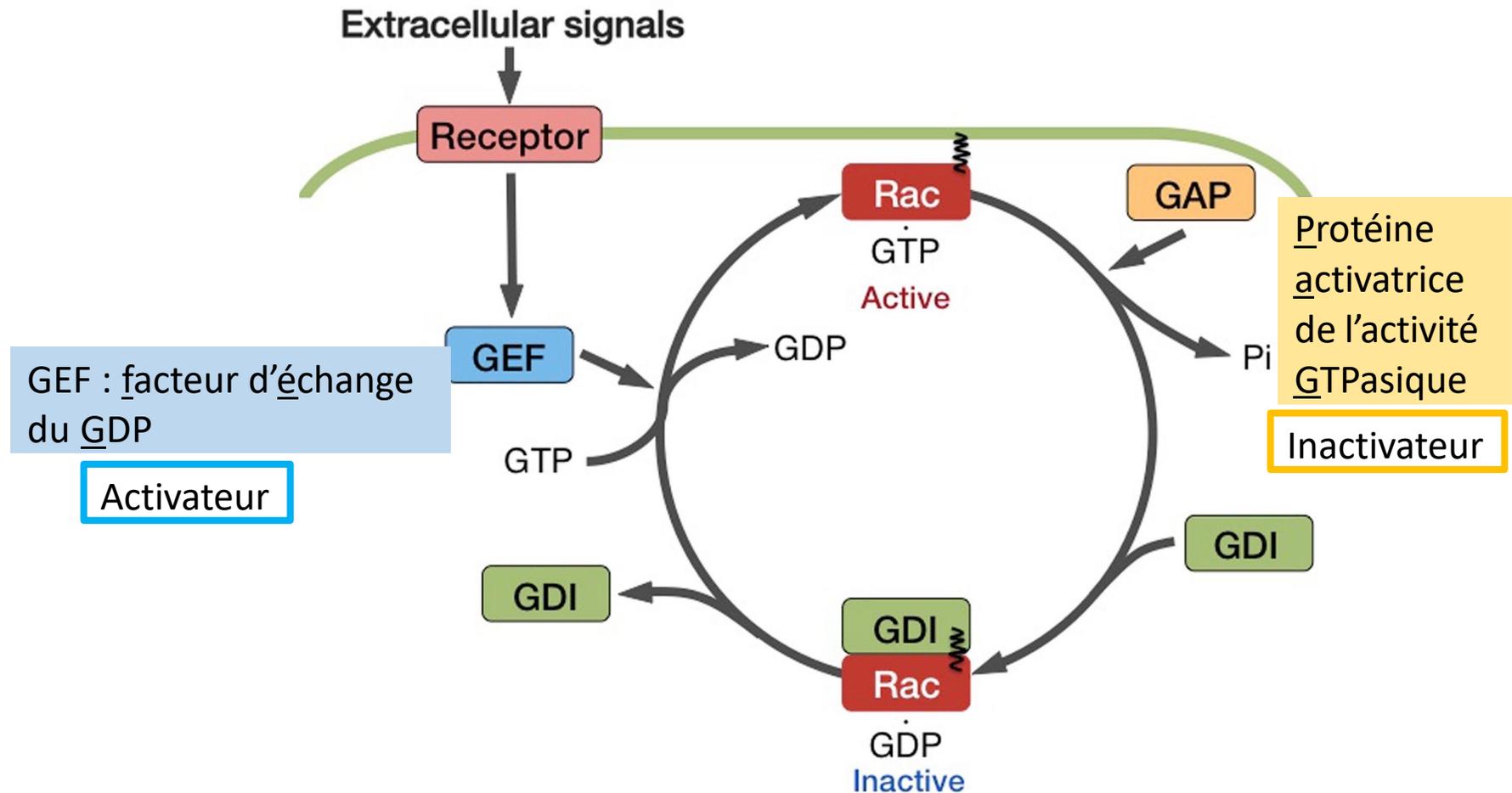
Cellule cancéreuse traitée par un facteur de croissance
Détection de l'actine F grâce à la phalloïdine conjuguée à un fluorophore

©

Mécanisme de la migration cellulaire (1/3)

A RETENIR !

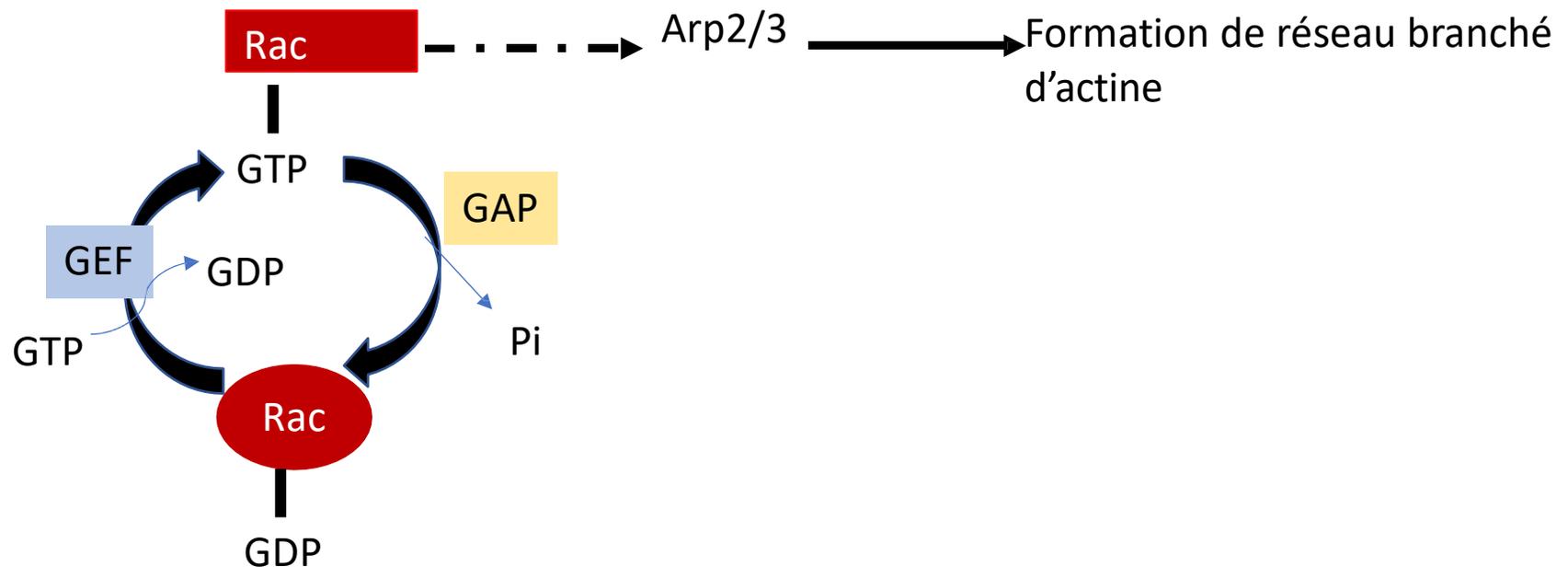
- La migration est déclenchée par des facteurs extracellulaires.
- Ceux-ci vont activer des **petites protéines G de type Rho** (« ras homologue »): Rac, Cdc42 et Rho



Mécanisme de la migration cellulaire (2/3)

A RETENIR !

- La migration est déclenchée par des facteurs extracellulaires.
- Ceux-ci vont activer des petites protéines G de type Rho (« ras homologue »): Rac, Cdc42 et Rho
- Sous forme active, ces protéines vont réguler l'assemblage des filaments d'actine



Mécanisme de la migration cellulaire (3/3)

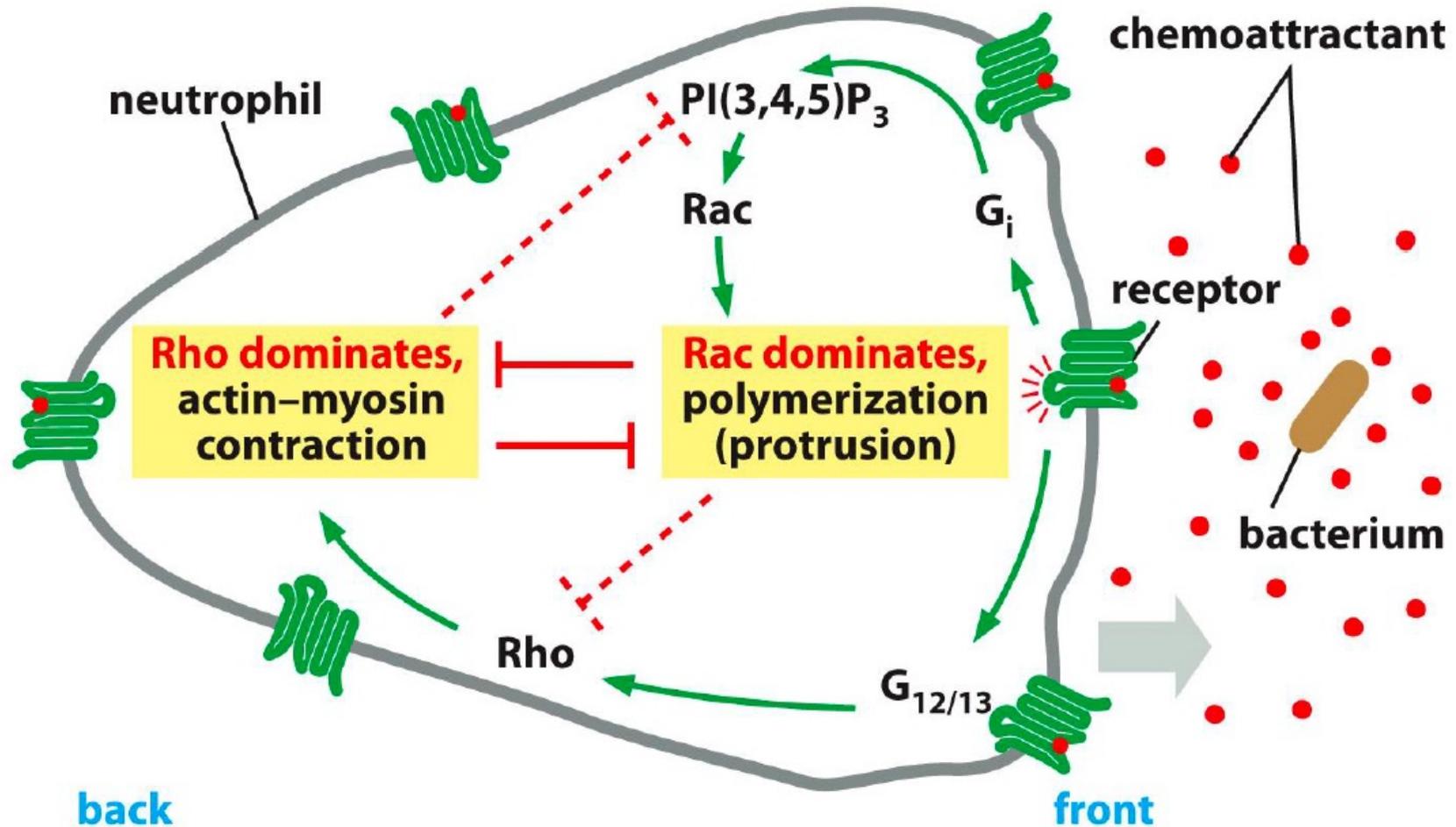


Figure 16-86b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mécanisme de la migration cellulaire: Résumé

A RETENIR !

- La **migration** est déclenchée par des **facteurs extracellulaires**
- Elle implique un **remodelage de l'actine** :
Au front du lamellipode : formation d'un **réseau branché d'actine impliquant le complexe ARP**
- Elle nécessite un **support permissif** (fibronectine, collagène....) sur lequel **les cellules vont être ancrées via les intégrines**

Les mondes cellulaires:

<https://youtu.be/TR3tXKHE6-A?feature=shared>