

Rôles des forces dans le contrôle des formes et de l'homéostasie des cellules épithéliales

Contexte :

Les cellules épithéliales polarisées forment des feuilletts épithéliaux et maintiennent l'homéostasie en servant de barrières qui séparent des compartiments distincts dans le corps. L'adhésion cellulaire, médiée par les jonctions adhérentes bi- et tri-cellulaires, assure la cohésion mécanique et contrôle l'organisation multicellulaire du tissu. En particulier, dans un contexte où le tissu présente une hétérogénéité en étant composé de cellules aux fonctions et identités distinctes communiquant les unes avec les autres par des interfaces de signalisation ligand/ récepteur, la question de la cohésion mécanique et de la régulation des forces s'avère pertinente dans la question fondamentale du lien entre la forme et fonction cellulaire. Pour répondre à ces questions, le système étudié est le thorax dorsal de *Drosophila melanogaster*. Il s'agit d'un épithélium monocouche composé de deux types cellulaires: (i) les cellules épidermales qui se divisent de manière symétrique et participent à la croissance du tissu, et (ii) les Précurseurs d'Organes Sensoriels (SOPs) qui se divisent de manière asymétrique pour générer deux cellules filles aux identités distinctes via l'activation différentielle de la voie de signalisation Notch (figure A).

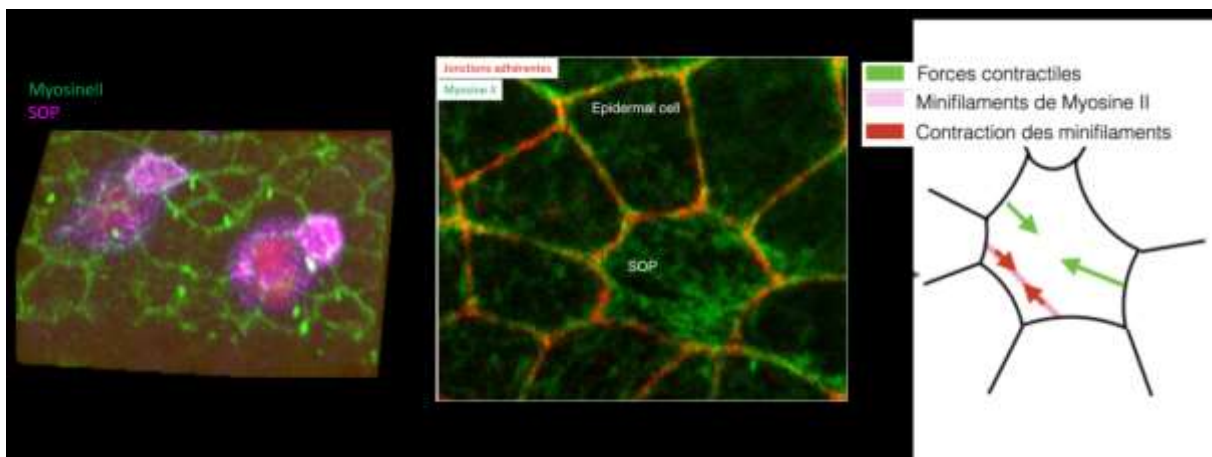
Contrairement aux cellules épidermales, les interfaces des SOPs présentent des tensions inférieures au niveau des jonctions adhérentes avec ses cellules voisines, ce qui lui confère des formes en étoile (figure B). Des résultats de l'équipe ont montré que la déformation des interfaces peut être associée à l'activité du réseau pulsatile d'actomyosine au niveau de ces jonctions. En particulier, nous avons pu montrer que ces déformations étaient internes à la SOPs et n'étaient pas dues aux forces externes exercées par les cellules voisines. Cependant l'origine de ces déformations reste en suspens et implique 2 hypothèses (figure C) : (i) est-ce dû aux forces contractiles 'centripètes' ou (ii) à la contraction de minifilaments connectés aux deux interfaces voisines. Afin de répondre à ces questions, nous proposons de combiner imagerie à haute résolution spatio-temporelle avec des outils de photo-manipulation de type nano-ablation et photo-conversion.

Contexte :

Les objectifs de ce projet sont (i) d'évaluer la causalité et la localisation de ces forces, (ii) d'évaluer l'importance et/ou la nécessité de ces forces dans la contribution à la division de cette cellule pour générer deux cellules filles de tailles et identités différentes. Pour se faire, les objectifs spécifiques sont

- 1) Décrire la dynamique du réseau médian et jonctionnel de Myosine II (MyoII) dans la SOP et ses filles par une imagerie à haute résolution spatio-temporelle la dynamique du réseau d'acto-myosine (Microscopie AiryScan et RIM). Nous proposons d'imager simultanément (i) la chaîne légère de la myosine-II non musculaire (MyoIIRedFP), les jonctions adhérentes (E-Cadhérine-GreenFP) et la membrane plasmique de la SOPs et de ses filles (GAP43-InfraRedFP670 (sonde exprimée sous le contrôle d'un promoteur spécifique la SOP et ses filles) ou (ii) la myosine-II non musculaire (MyoII-GreenFP), l'actine (lifeact-Ruby) et la membrane plasmique de la SOPs et de ses filles (GAP43-InfraRedFP670).
- 2) Réponse cellulaire à la perturbation mécanique. Nous proposons l'utilisation de laser pulsé infrarouge (800 nm) pour induire la nano-ablation (localisée dans l'espace) du réseau médian de MyoII de la SOP ou l'isolation mécanique de la SOP (nano-ablation en 'donut' autour de la SOP pour l'isoler mécaniquement). Outre, l'effet en 2D dans le plan des jonctions adhérentes, nous pourrions étudier l'effet en 3D sur la forme et le volume cellulaire (conservation du volume ? localisation des déformations?)

- 3) Dynamique fine du réseau médian et cortical de Myosine-II. Une fois les forces décrites, il s'agira d'utiliser la sonde photoconvertible MyoII-Dendra2. L'idée est de suivre la dynamique de la MyoII à l'échelle de la seconde et de la minute dans la SOP (et ses filles). Le but est de définir les contributions respectives des différents pools de myosine-II: Sont-ils en échange ? Se déplacent-ils ? Se répartissent-ils de façon isotropiques ou anisotropiques le long des jonctions bicellulaires ou aux vertex.... ?
- 4) Interaction réseau Acto-Myosine/microtubules, contribution des microtubules aux propriétés mécaniques des SOPs ? En plus de du cytosquelette d'actine connu pour exercer des forces a courtes portées, nous pourrions envisager imager le cytosquelette de microtubules connus pour exercer des forces a plus longue portée. En effet, les marquages à l'aide de la tubuline (marquage par anticorps ou imagerie sur animal vivant à l'aide de la Tubulin-GFP) indiquent une plus grande 'densité' de microtubules au pôle apical des SOP (dans le plan des jonctions adhérentes). De plus une protéine appelée spectroplakine (qui est un lien entre le réseau d'acto-Myosine-II et les microtubules) est plus fortement exprimée dans la SOP (par rapport aux cellules épidermiques, non-SOPs) et se distribue apicalement dans le plan des jonctions adhérentes. Après avoir décrit la distribution/dynamique des microtubules et de la Spectroplakine, il sera envisageable d'analyser l'effet de la perturbation des microtubules dans le maintien de la forme des SOPs et de ses filles.



Contact

IGDR UMR-CNRS 6290, Rennes, France

Directeur d'équipe : Roland Le Borgne, DR1 CNRS roland.leborgne@univ-rennes1.fr

Encadrant : Mathieu Pinot, CRCN CNRS mathieu.pinot@univ-rennes1.fr