

Étude de l'exocytose des granules de sécrétion : arrimage à la membrane plasmique et expansion du pore de fusion

Ouardane JOUANNOT

Université des Saints-Pères
UMR8192 CNRS

20/09/2012

Sommaire

- 1 Introduction**
 - L'exocytose régulée
 - Matériel et Méthodes
- 2 Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane
- 3 Cdc42 dilate le pore de fusion
- 4 Conclusion/Perspectives
- 5 Crédits

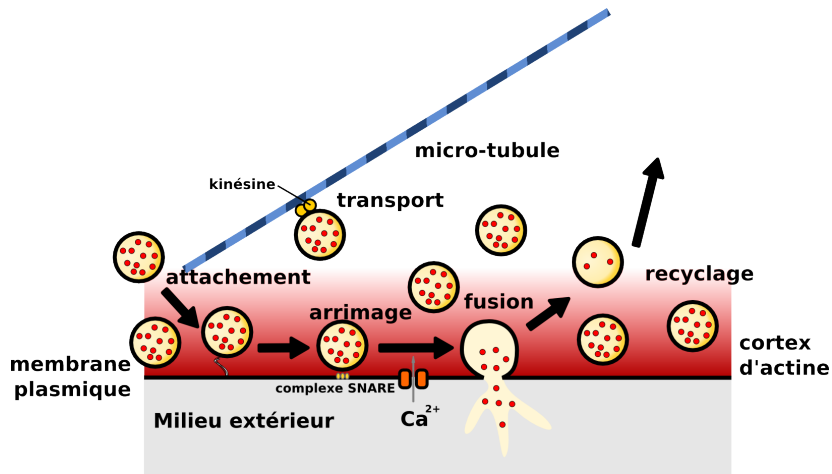
L'exocytose régulée

- fusion de vésicules de sécrétion avec la membrane
- stimulus, Ca^{2+} ↗
- impliqué dans sécrétion d'hormone, neurotransmission, etc.

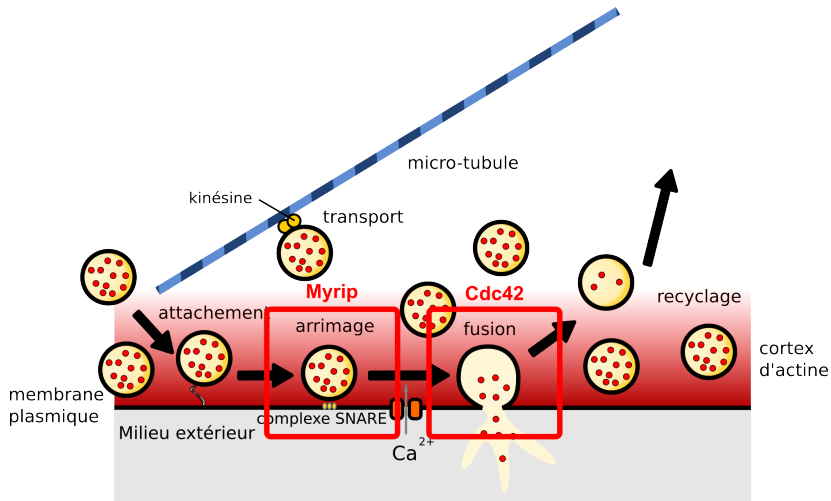
L'exocytose régulée

L'exocytose régulée

L'exocytose régulée



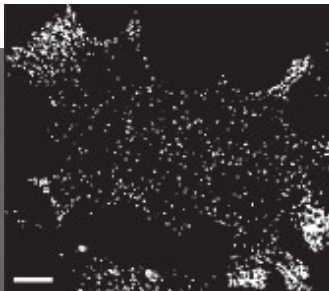
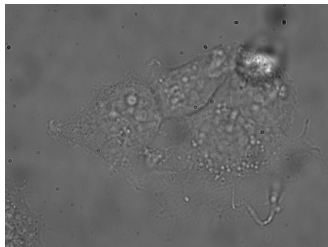
L'exocytose régulée



Modèle cellulaire

Cellules BON :

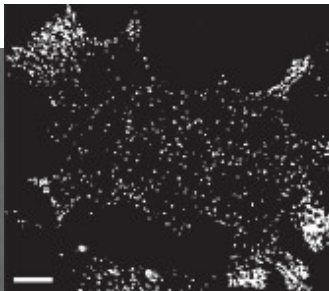
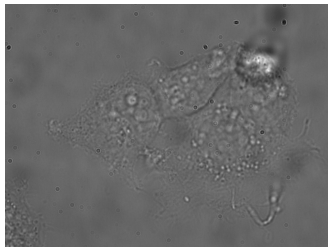
- Lignée cellulaire humaine



Modèle cellulaire

Cellules BON :

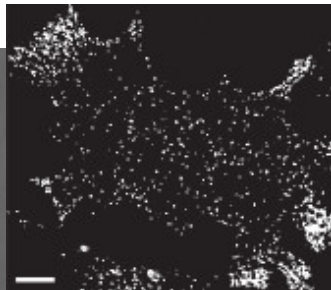
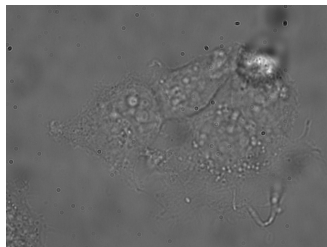
- Lignée cellulaire humaine
- Sécrète de la sérotonine



Modèle cellulaire

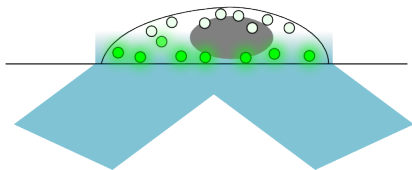
Cellules BON :

- Lignée cellulaire humaine
- Sécrète de la sérotonine
- Issues d'une tumeur pancréatique

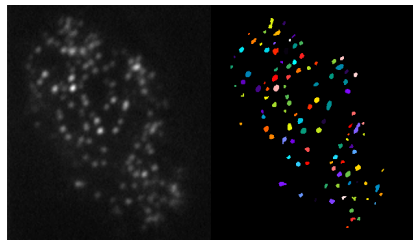


Imagerie à onde évanescente

Utilisation d'imagerie à onde évanescente : bon signal / bruit.



Segmentation (MIA, Racine 2006) :

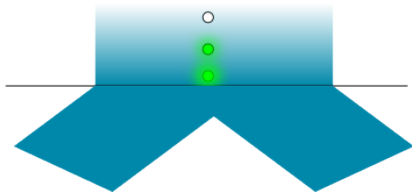


Suivi des trajectoires.

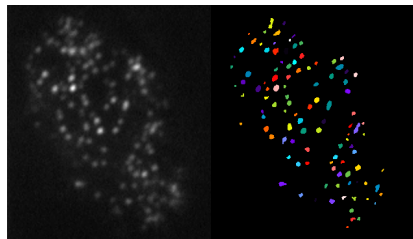


Imagerie à onde évanescente

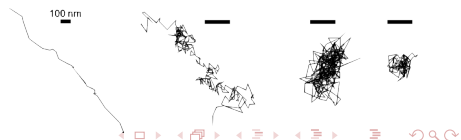
Utilisation d'imagerie à onde évanescente : bon signal / bruit.



Segmentation (MIA, Racine 2006) :



Suivi des trajectoires.

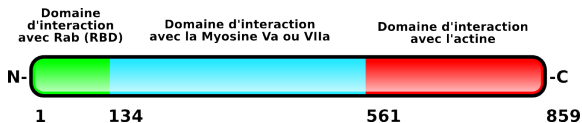


Sommaire

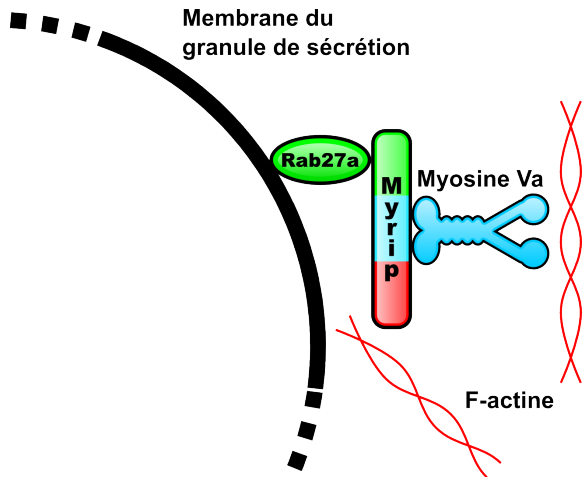
- 1 Introduction
- 2 **Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane**
 - Introduction
 - Définition de l'arrimage à la membrane plasmique
 - Myrip affecte l'arrimage à la membrane plasmique
 - Conclusion
- 3 Cdc42 dilate le pore de fusion
- 4 Conclusion/Perspectives
- 5 Crédits

Myrip, protéine adaptatrice

- 3 domaines d'interaction :
 - Rab27a
 - MyosineVa
 - Actine
- lié aux granules



Myrip, protéine adaptatrice



Rab27a et Myosine Va

Rab27a

- Rab GTPase
- Présente à la surface des granules
- Intervient dans l'exocytose

Myosine Va

- Moteur moléculaire processif
- Intervient dans la localisation des granules et le recrutement à la membrane plasmique
- Rôle des mouvements processifs in vivo peu clair

Myrip est-elle une simple protéine adaptatrice ou a-t-elle un effet spécifique ?

Rab27a et Myosine Va

Rab27a

- Rab GTPase
- Présente à la surface des granules
- Intervient dans l'exocytose

Myosine Va

- Moteur moléculaire processif
- Intervient dans la localisation des granules et le recrutement à la membrane plasmique
- Rôle des mouvements processifs in vivo peu clair

Myrip est-elle une simple protéine adaptatrice ou a-t-elle un effet spécifique ?

Rôle de Myrip dans l'exocytose

(Claire Desnos & Isabelle Fanget)

- L'inhibition expression Myrip diminue sécrétion [3H]-serotonine et le nombre d'évènement de fusion

Rôle de Myrip dans l'exocytose

(Claire Desnos & Isabelle Fanget)

- L'inhibition expression Myrip diminue sécrétion [3H]-serotonine et le nombre d'évènement de fusion
- Myrip recrute la Myosine Va sur les granules de sécrétion

Rôle de Myrip dans l'exocytose

(Claire Desnos & Isabelle Fanget)

- L'inhibition expression Myrip diminue sécrétion [3H]-serotonine et le nombre d'évènement de fusion
- Myrip recrute la Myosine Va sur les granules de sécrétion
- Myrip participe à la rétention granules dans le cortex d'actine

Rôle de Myrip dans l'exocytose

(Claire Desnos & Isabelle Fanget)

- L'inhibition expression Myrip diminue sécrétion [3H]-serotonine et le nombre d'évènement de fusion
- Myrip recrute la Myosine Va sur les granules de sécrétion
- Myrip participe à la rétention granules dans le cortex d'actine
 - L'inhibition de l'expression de Myrip redistribue les granules vers le centre de la cellule

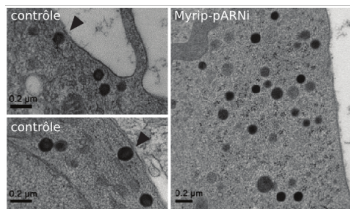
Rôle de Myrip dans l'exocytose

(Claire Desnos & Isabelle Fanget)

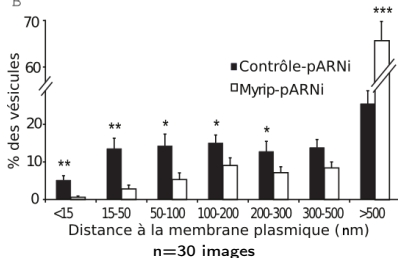
- L'inhibition expression Myrip diminue sécrétion [3H]-serotonine et le nombre d'évènement de fusion
- Myrip recrute la Myosine Va sur les granules de sécrétion
- Myrip participe à la rétention granules dans le cortex d'actine
 - L'inhibition de l'expression de Myrip redistribue les granules vers le centre de la cellule
 - L'inhibition de l'expression de Myrip diminue la densité des granules observés par imagerie à onde évanescente

Rôle de Myrip dans l'exocytose

A



B



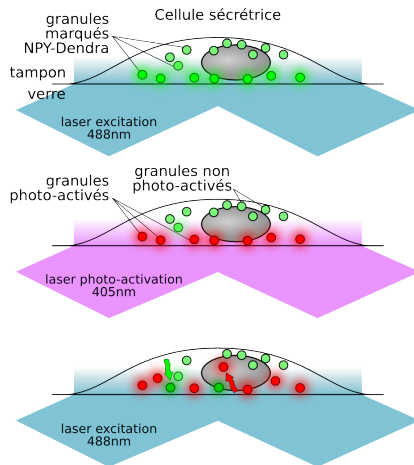
Matériel et Méthodes : photo-activation

Dendra2

Protéine fluorescente verte photo-activable. Spectre d'émission vert → rouge suite à une illumination aux UV (405nm)

Couplage d'une diode laser à 405nm au microscope à onde évanescente.

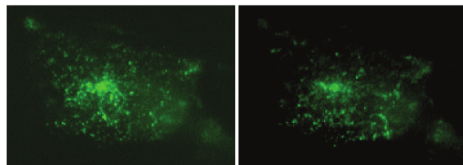
Le domaine C-terminal de Myrip participe à la rétention périphérique



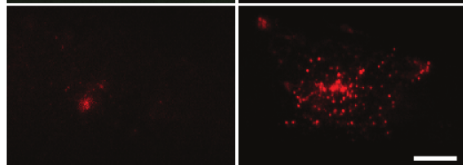
Le domaine C-terminal de Myrip participe à la rétention périphérique

Avant / Après
photoactivation

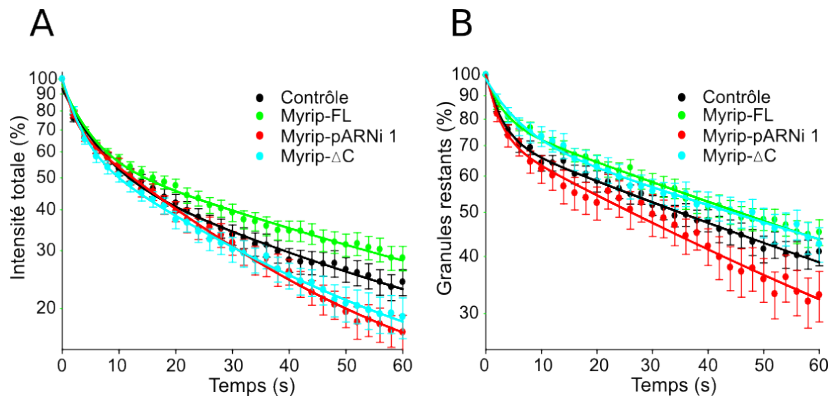
Canal
vert



Canal
rouge



Le domaine C-terminal de Myrip participe à la rétention périphérique

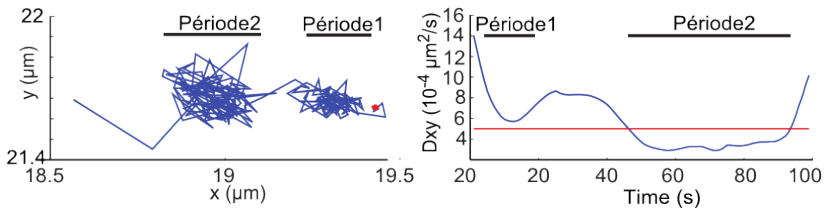


(n=47/16/57/31 cellules ctrl/Myrip-pARNi/Myrip-FL/Myrip Δ C)

Définition de l'arrimage à la membrane plasmique

Arrimage à la membrane plasmique

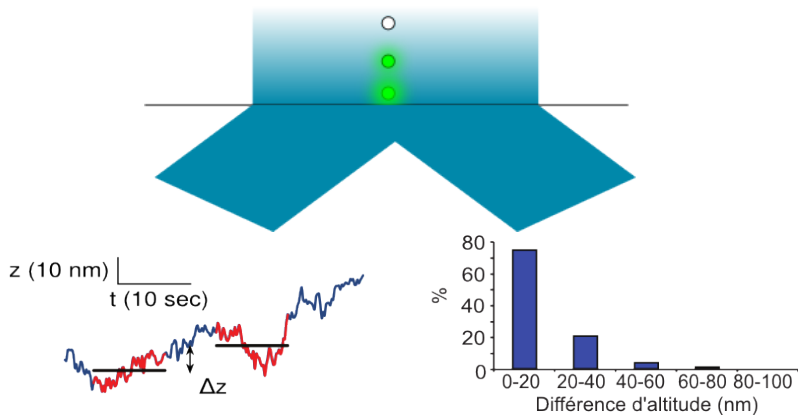
2 secondes avant l'exocytose, 95% des granules ont un $D_{xy} < 5 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$



└ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

└ Définition de l'arrimage à la membrane plasmique

Validation du docking

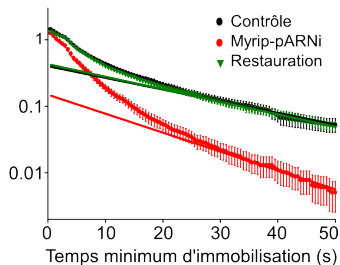
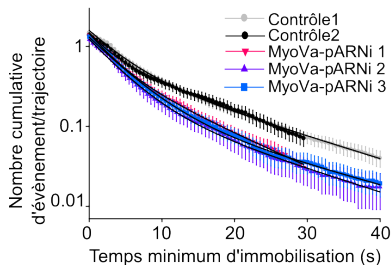
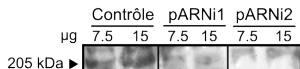


(114 trajectoires / 7 cellules)

↳ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

↳ Myrip affecte l'arrimage à la membrane plasmique

Arrimage à la membrane plasmique

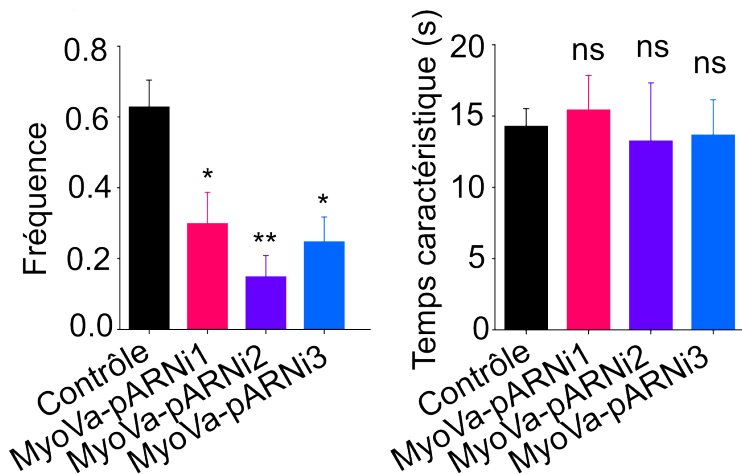


(n=32/30/20 cellules contrôle/Myrip-pARNi/Restauration, 2500–3000 trajectoires par condition)

└ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

└ Myrip affecte l'arrimage à la membrane plasmique

Arrimage à la membrane plasmique

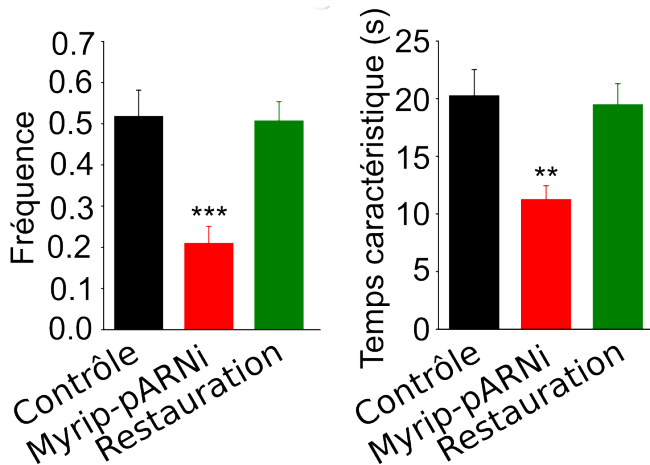


(n=32/30/20 cellules contrôle/Myrip-pARNi/Restauration, 2500–3000 trajectoires par condition)

└ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

└ Myrip affecte l'arrimage à la membrane plasmique

Arrimage à la membrane plasmique

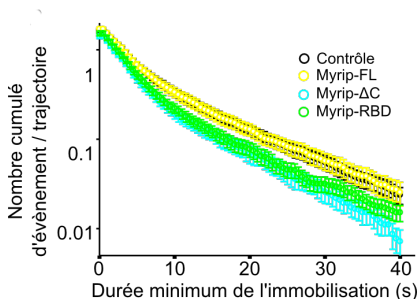
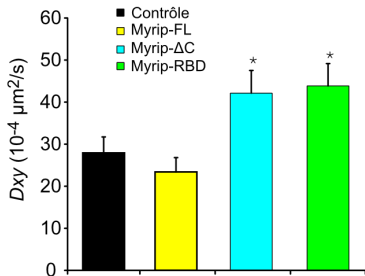


(n=32/30/20)

↳ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

↳ Myrip affecte l'arrimage à la membrane plasmique

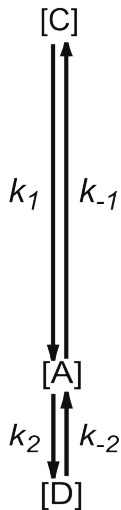
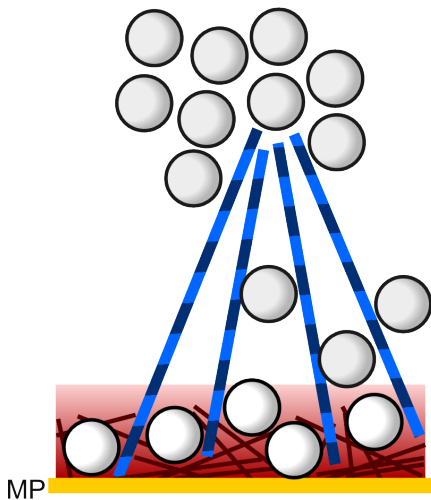
Domaine C-terminal de Myrip



↳ temps caractéristique d'immobilisation Myrip- Δ C vs Myrip-FL

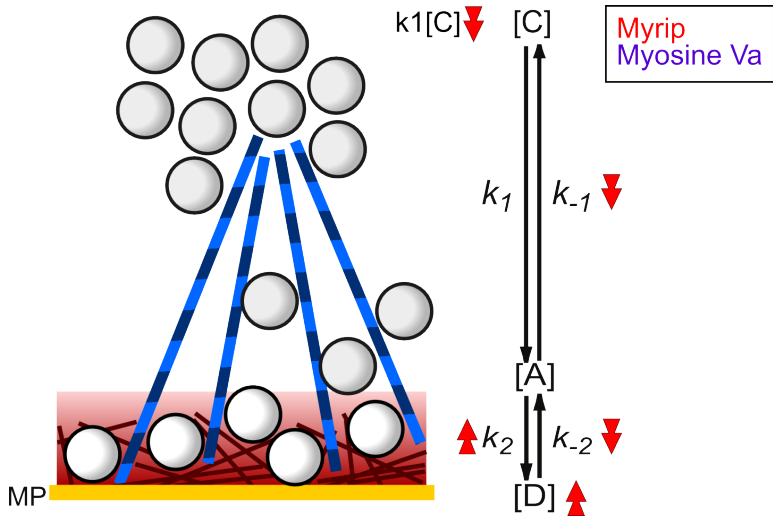
└ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

└ Conclusion



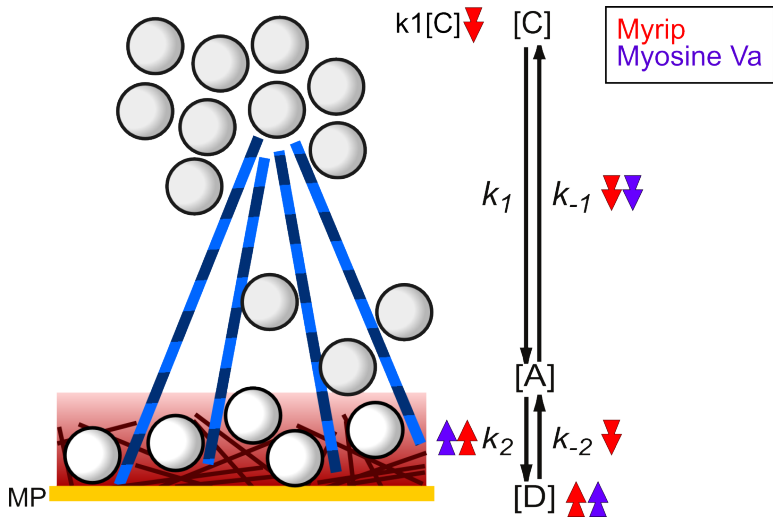
↳ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

↳ Conclusion



↳ Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane

↳ Conclusion

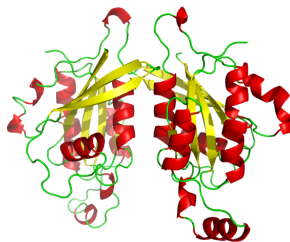
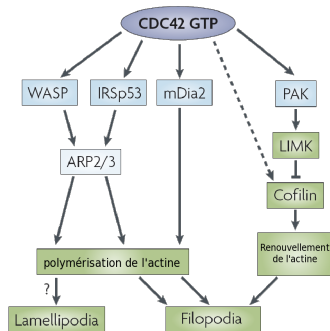


Sommaire

- 1 Introduction
- 2 Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane
- 3 Cdc42 dilate le pore de fusion
 - Introduction
 - Les étapes de l'exocytose
 - Sécrétion et arrimage
 - L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération
 - Imagerie des évènements de fusion
 - Et le mécanisme ?
 - Conclusion
- 4 Conclusion/Perspectives
- 5 Crédits

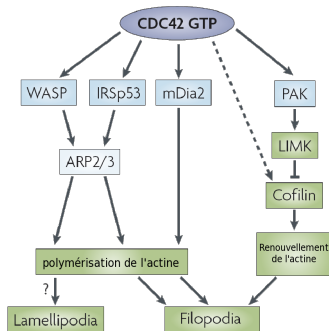
Cdc42

■ famille des RhoGTPases.

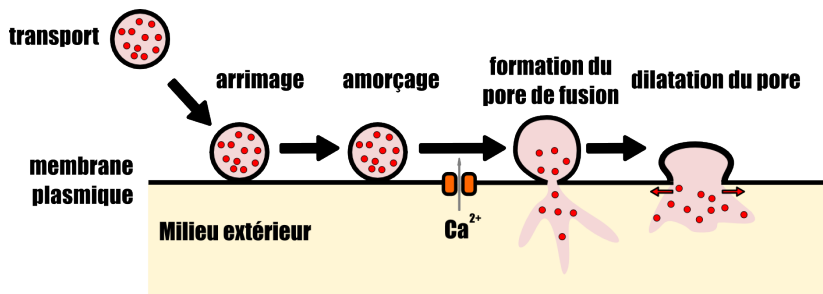


Cdc42

- famille des RhoGTPases.
- Impliquée dynamique de l'actine (formation de filopodia).



les étapes de l'exocytose



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage

Cdc42 affecte l'exocytose

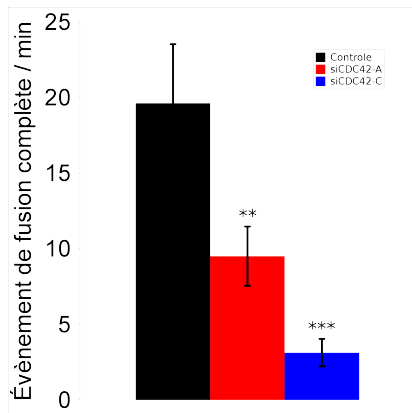
Montré par Stéphane Gasman sur population.

Cdc42 affecte l'exocytose

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage

Cdc42 régule l'exocytose

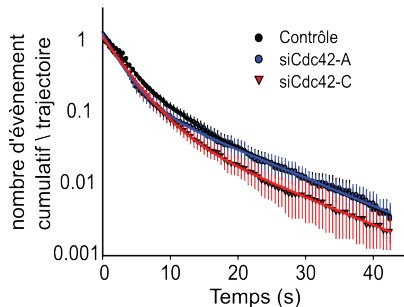
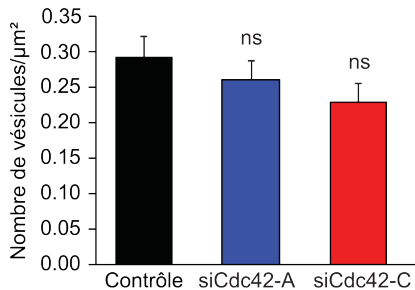


N ≈ 45/condition



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage

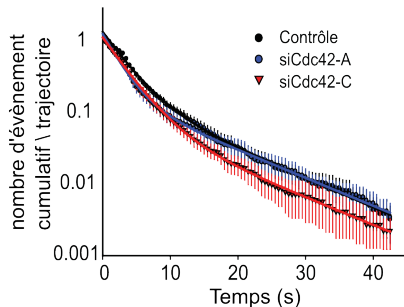
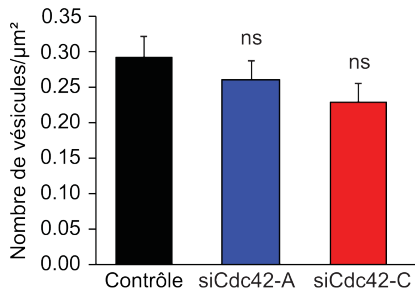


N=19/18/17 cellules ; 2200-2900 trajectoires/condition

- L'inhibition de l'expression de Cdc42 n'affecte pas la densité des granules.

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage



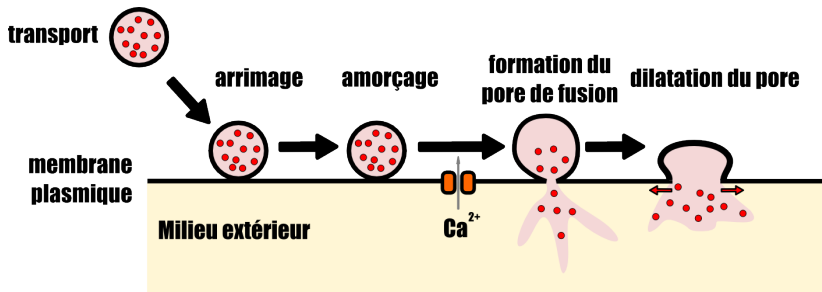
N=19/18/17 cellules ; 2200–2900 trajectoires/condition

- L'inhibition de l'expression de Cdc42 n'affecte pas la densité des granules.
- L'inhibition de l'expression de Cdc42 ne diminue pas l'immobilisation à la membrane plasmique (arrimage).

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage

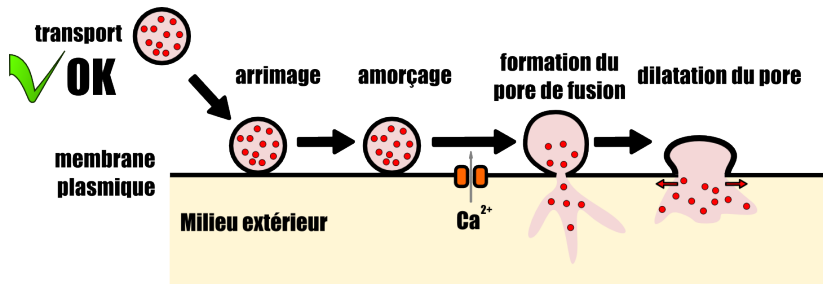
Conclusion



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage

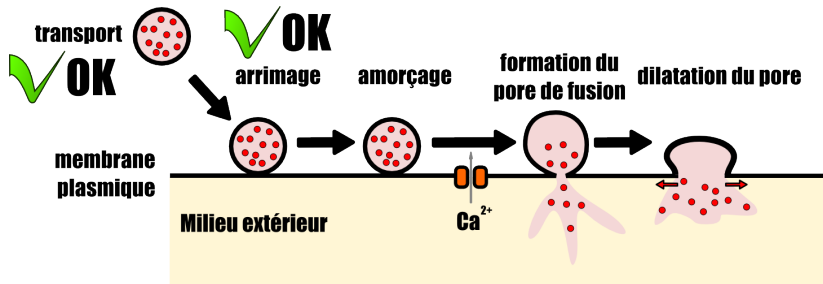
Conclusion



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Sécrétion et arrimage

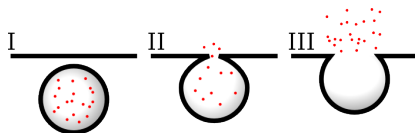
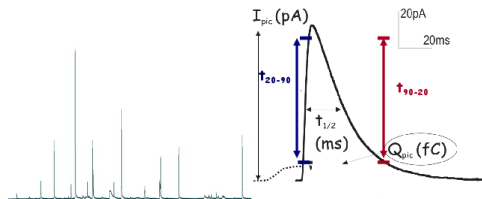
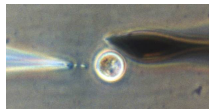
Conclusion



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

Mesurer la dynamique de libération des granules



N.B. :

Chaque pic correspond à la détection des mono-amines libérées par un granule unique

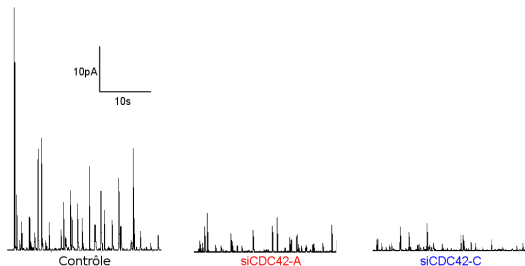
└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

Cdc42 affecte la dynamique de l'exocytose

Par ampérométrie, on constate que :

- L'amplitude moyenne des pics ↓.



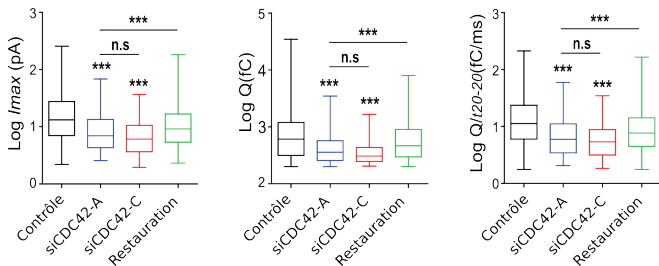
- └ Cdc42 dilate le pore de fusion

- └ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

Cdc42 affecte la dynamique de l'exocytose

Par ampérométrie, on constate que :

- L'amplitude moyenne des pics \searrow . La capacité de libération est amoindrie.



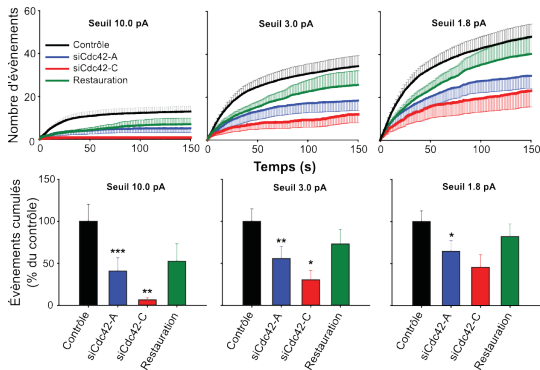
- └ Cdc42 dilate le pore de fusion

- └ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

Cdc42 affecte la dynamique de l'exocytose

Par ampérométrie, on constate que :

- L'amplitude moyenne des pics \searrow . La capacité de libération est amoindrie.
- La fréquence des pics de haute amplitude \searrow , mais l'effet s'efface si on baisse le seuil de détection.



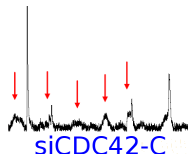
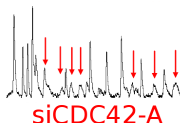
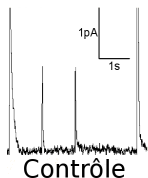
└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

Cdc42 affecte la dynamique de l'exocytose

Par ampérométrie, on constate que :

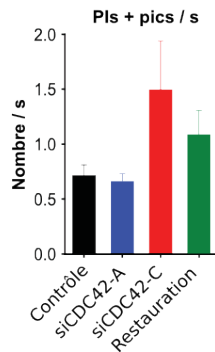
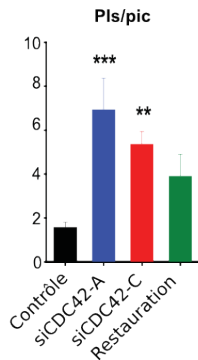
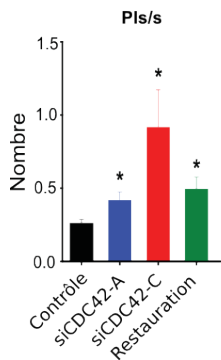
- L'amplitude moyenne des pics \searrow . La capacité de libération est amoindrie.
- La fréquence des pics de haute amplitude \searrow , mais l'effet s'efface si on baisse le seuil de détection.
- De petits évènements (pieds isolés) apparaissent : évènements de fusion abortifs ?



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

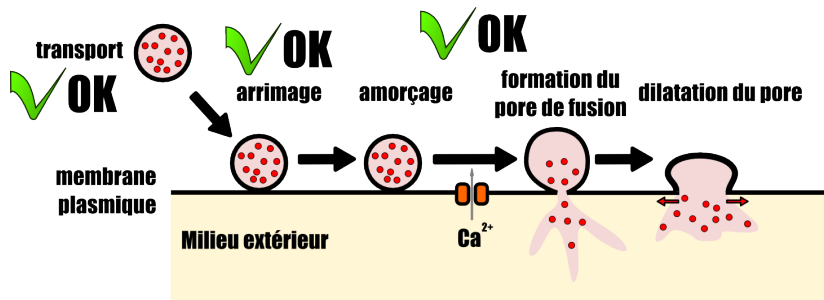
Mais n'affecte pas la probabilité de l'exocytose



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ L'effet de Cdc42 sur la dynamique de libération

Mais n'affecte pas la probabilité de l'exocytose



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Imagerie des évènements de fusion

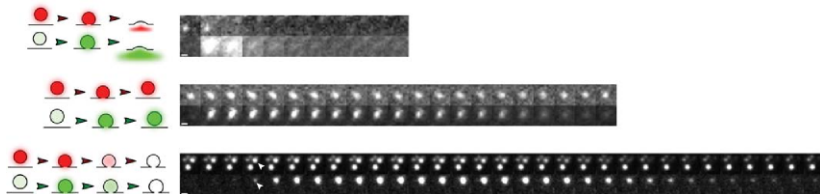
Libération complète ou partielle ?

Method

Transfection de NPY-mRFP et NPY-pHluorine.

mRFP : faible sensibilité au pH.

pHluorine (super-écliptique) : très haute sensibilité au pH.



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Imagerie des évènements de fusion

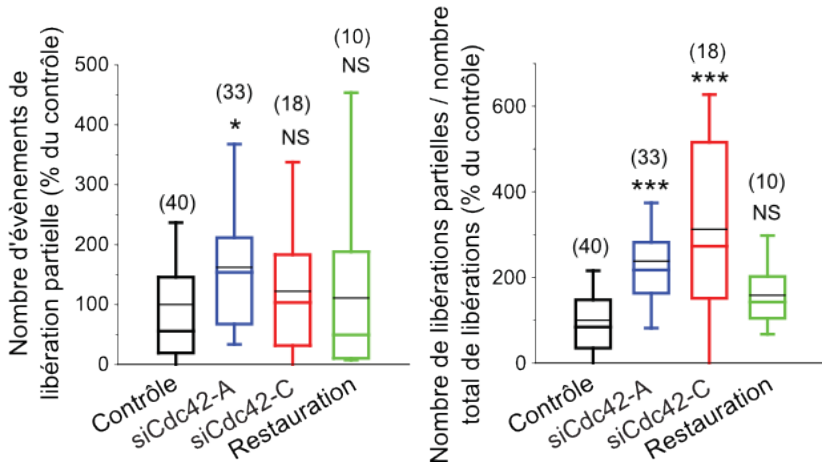
Cdc42 affecte-t-il le mode de fusion ?

Test de fusion partielle

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Imagerie des évènements de fusion

Les PIs sont des évènements de libération partielle



N ≈ 20 cellules/condition

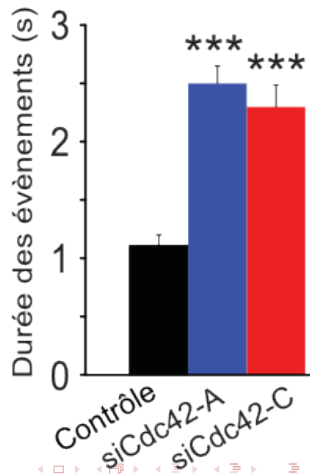
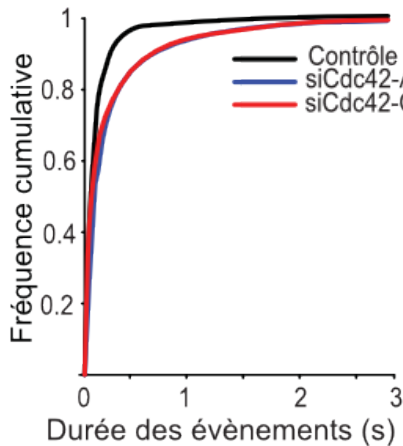
└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Imagerie des évènements de fusion

Cdc42 affecte le temps de libération

Temps nécessaire au retour à 20% du bruit de fond.

F



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Et le mécanisme ?

Matériel et Méthodes : piège optique

Piège optique

(Ashkin 1970, Ashkin 1986)

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Et le mécanisme ?

Matériel et Méthodes : mesure de la tension

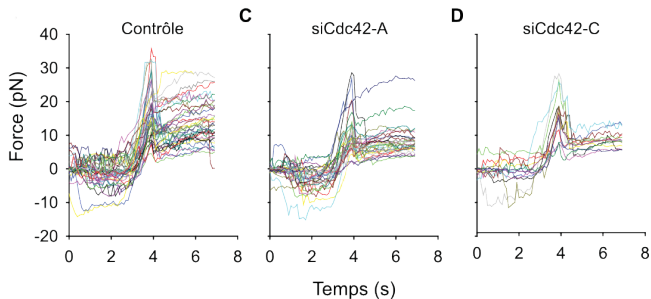
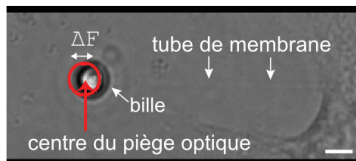
Mesure de tension

(Lee 2007, Dai 1995)

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Et le mécanisme ?

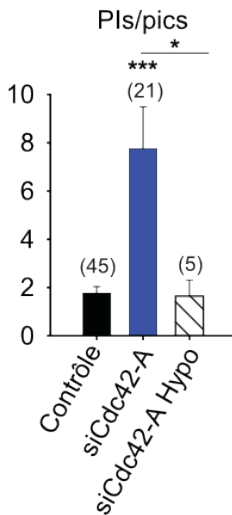
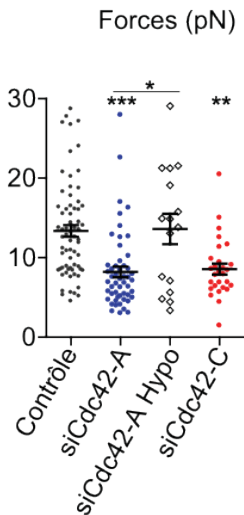
Mesure de la tension de la membrane plasmique



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Et le mécanisme ?

Mesure de tension de la membrane



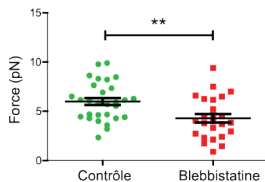
└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Et le mécanisme ?

La blebbistatine mime les effets de Cdc42

La blebbistatine

La blebbistatine est un inhibiteur de la Myosine II



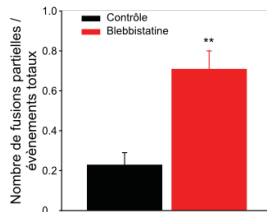
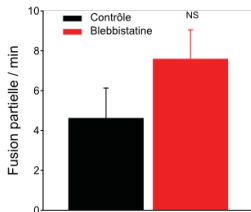
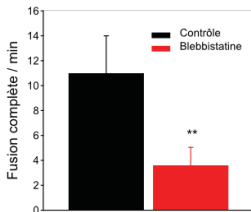
└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Et le mécanisme ?

La blebbistatine mime les effets de Cdc42

La blebbistatine

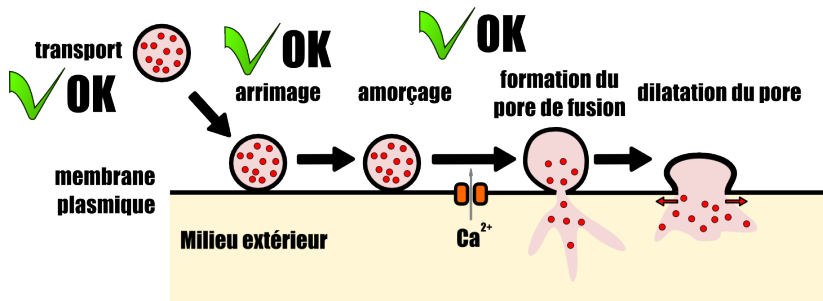
La blebbistatine est un inhibiteur de la Myosine II



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Conclusion

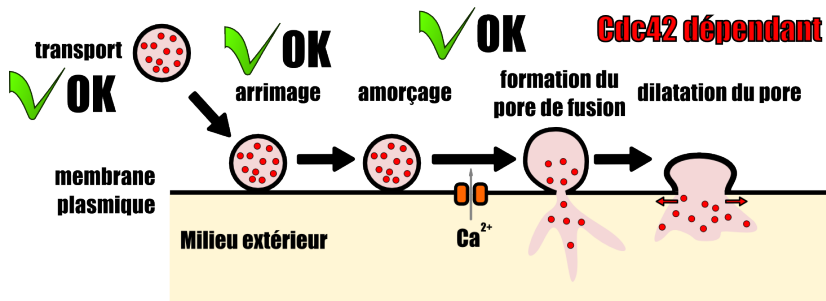
Conclusion



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Conclusion

Conclusion



└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Conclusion

Conclusion

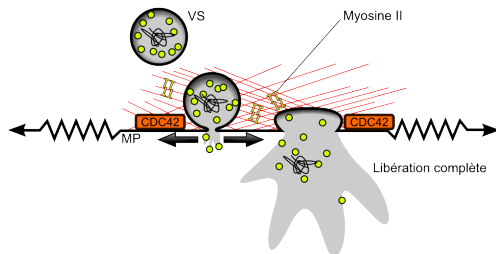
- Cdc42 intervient dans l'exocytose
- Cdc42 affecte dilatation du pore de fusion mais pas les autres étapes.
- Corrélation entre tension de la membrane et expansion

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

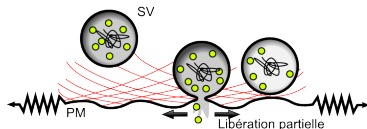
└ Conclusion

Conclusion

A. Tension forte de la membrane



B. Tension faible de la membrane



Conclusion

Quel rôle pour la tension de la membrane ?

- Mobilité cellulaire (Gauthier 2011, Liu 2012)
- Adhésion (Krobath 2011)
- Réponse au stress (Lamaze 2012)
- Endocytose (Boulant 2011)
- Exocytose ?

└ Cdc42 dilate le pore de fusion

└ Conclusion

Conclusion

Autres régulateurs de la dilatation du pore de fusion

- Dynamine (Anantharam 2011)
- Myosine VI (Bond 2011)
- Myosine II (Neco 2008)

Tous liés à la régulation de la tension de la membrane plasmique.

Sommaire

- 1 Introduction
- 2 Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane
- 3 Cdc42 dilate le pore de fusion
- 4 Conclusion/Perspectives**
- 5 Crédits

Conclusion et perspectives

- Deux points de contrôle différents qui affectent la capacité de libération des cellules
- Le cortex d'actine semble jouer un rôle complexe et important

Perspectives : Myrip

Quel est le mécanisme de la stabilisation de l'arrimage à la membrane plasmique par Myrip ?

- L'arrimage via des structures particulière d'actine à proximité de la membrane plasmique ?

Perspectives : Myrip

Quel est le mécanisme de la stabilisation de l'arrimage à la membrane plasmique par Myrip ?

- L'arrimage via des structures particulière d'actine à proximité de la membrane plasmique ?
 - Titrage par sur-expression du domaine C-terminal

Perspectives : Myrip

Quel est le mécanisme de la stabilisation de l'arrimage à la membrane plasmique par Myrip ?

- L'arrimage via des structures particulière d'actine à proximité de la membrane plasmique ?
→ Titrage par sur-expression du domaine C-terminal
- Interaction avec d'autres protéines impliquées dans l'arrimage

Perspectives : Myrip

Quel est le mécanisme de la stabilisation de l'arrimage à la membrane plasmique par Myrip ?

- L'arrimage via des structures particulière d'actine à proximité de la membrane plasmique ?
→ Titrage par sur-expression du domaine C-terminal
- Interaction avec d'autres protéines impliquées dans l'arrimage
→ Recherche de partenaires : Exocyste (Goehring 2007, confirmé au laboratoire)

Perspectives : Myrip

- Rab27a est-elle une simple protéine adaptatrice ?

Perspectives : Myrip

- Rab27a est-elle une simple protéine adaptatrice ?
- Les granules diffusent-ils dans ou avec l'actine ?

Perspectives : Myrip

- Rab27a est-elle une simple protéine adaptatrice ?
- Les granules diffusent-ils dans ou avec l'actine ?
- Utilisation du test de photo-activation sur d'autres protéines impliquée dans l'arrimage à la membrane plasmique (Exocyste)

Perspectives : Cdc42

Questions :

- Régulation de la tension de la membrane globale ou locale ?

Perspectives : Cdc42

Questions :

- Régulation de la tension de la membrane globale ou locale ?
- Tension des lipides ou du cytosquelette ? Rôle de la matrice extracellulaire ?

Perspectives : Cdc42

Questions :

- Régulation de la tension de la membrane globale ou locale ?
- Tension des lipides ou du cytosquelette ? Rôle de la matrice extracellulaire ?
- Rôle physiologique ? Sécrétion différentielle ?

Perspectives : Cdc42

Quel est le mécanisme de la régulation de la tension de la membrane par Cdc42 ?

- Remodelage de l'actine ?

Perspectives : Cdc42

Quel est le mécanisme de la régulation de la tension de la membrane par Cdc42 ?

- Remodelage de l'actine ?

- Effet sur les myosines ?

Perspectives : Cdc42

Quel est le mécanisme de la régulation de la tension de la membrane par Cdc42 ?

- Remodelage de l'actine ?
 - Absence d'effet au laboratoire au niveau global.
 - Analyse de la dynamique de l'actine par photo-activation.

- Effet sur les myosines ?

Perspectives : Cdc42

Quel est le mécanisme de la régulation de la tension de la membrane par Cdc42 ?

- Remodelage de l'actine ?
 - Absence d'effet au laboratoire au niveau global.
 - Analyse de la dynamique de l'actine par photo-activation.
 - Anti-corrélation entre l'exocytose et l'expression de Lifeact
 - Utilisation de clones stables exprimant Lifeact-GFP.
- Effet sur les myosines ?

Perspectives : Cdc42

Quel est le mécanisme de la régulation de la tension de la membrane par Cdc42 ?

- Remodelage de l'actine ?

- Effet sur les myosines ?
 - Activation de la Myosine II par Cdc42 ? (effet Cdc42 dépend de la MLCK ?)

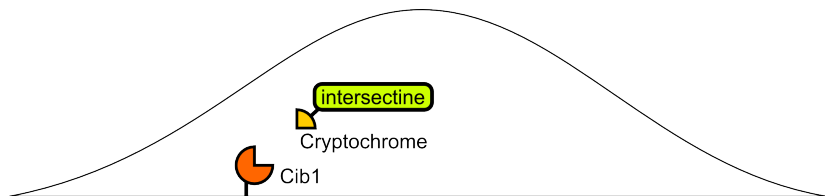
Perspectives : Cdc42

Quel est le mécanisme de la régulation de la tension de la membrane par Cdc42 ?

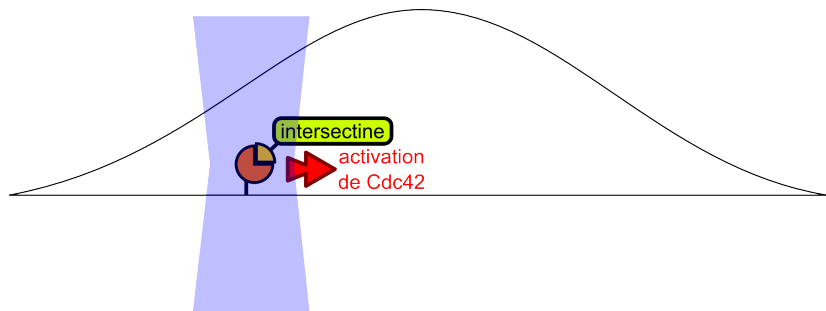
- Remodelage de l'actine ?

- Effet sur les myosines ?
 - Activation de la Myosine II par Cdc42 ? (effet Cdc42 dépend de la MLCK ?)
 - Tester d'autres Myosines (I, VI)

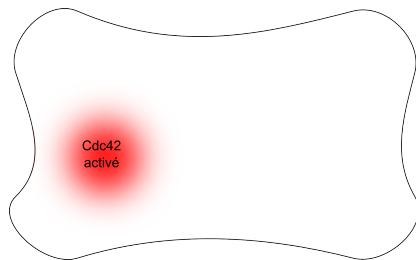
Perspectives : Cdc42



Perspectives : Cdc42



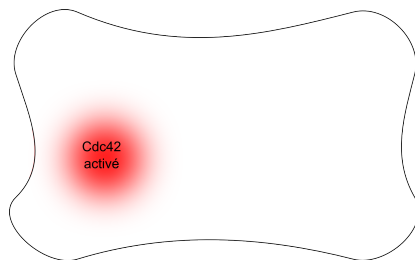
Perspectives : Cdc42



Mesures :

- Recrutement et activation de la Myosine II

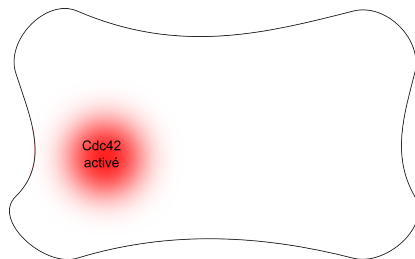
Perspectives : Cdc42



Mesures :

- Recrutement et activation de la Myosine II
- Mode de fusion

Perspectives : Cdc42



Mesures :

- Recrutement et activation de la Myosine II
- Mode de fusion
- Tension de la membrane plasmique locale

Sommaire

- 1 Introduction
- 2 Myrip couple la rétention périphérique et l'arrimage à la membrane
- 3 Cdc42 dilate le pore de fusion
- 4 Conclusion/Perspectives
- 5 Crédits**

Crédits

Collaborateurs :

- Stéphane Gasman (collaboration et construction de Cdc42)
- Thierry Galli (constructions de la pHluorine)

Équipe :

- Marine Bretou (amperometrie et mesure de la tension de la membrane)
- François Darchen (Direction)
- Claire Desnos, Isabelle Fanget (Données Myrip, analyse des données Cdc42)
- Nathanael Larochette (biochimie)

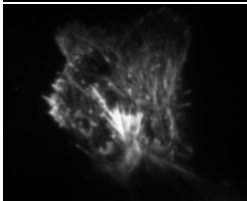
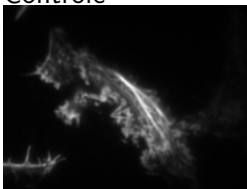
Financements :

- ENS Cachan (bourse de thèse)

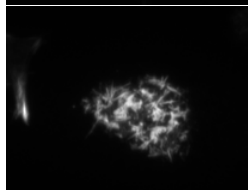
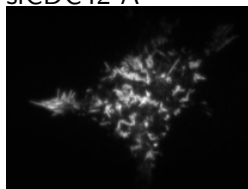


Actine

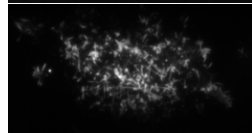
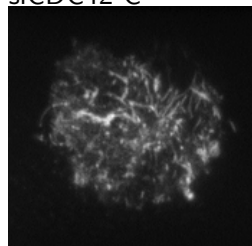
Contrôle



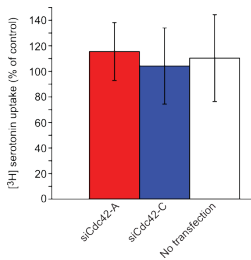
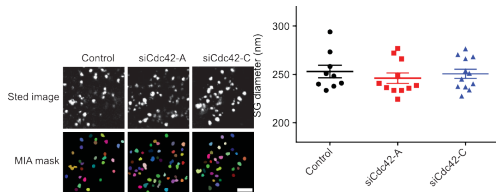
siCDC42-A



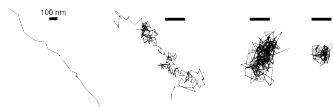
siCDC42-C



Controles



Myrip affecte la dynamique des granules

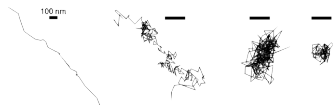


Mouvements dirigés (microtubules) :

Condition	D_{xy} ($10^{-4} \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)		Erreur standard			
Contrôle	24,3		$\pm 5,2$			
Myrip-pARNi	92,3		$\pm 7,2$			
Condition	prop.	ES	vél. ($\mu\text{m s}^{-1}$)	ES	dist. (μm)	ES
Contrôle	3,8	$\pm 0,4\%$	0,39	$\pm 0,02$	1,15	0,06
Myrip-pARNi	11,5	$\pm 1,5\%$	0,63	$\pm 0,03$	1,49	0,11
	$p = 0,002$		$p = 0,0002$		$p = 0,04$	

(N = 653 / 10 | 761 / 10 trajectoires / cellules)

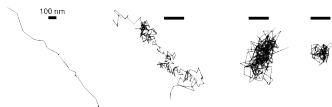
Myrip affecte la dynamique des granules



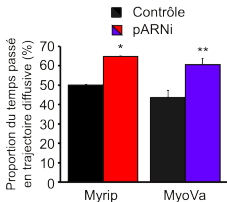
Mouvements diffusifs (actine) :

Condition	D_{xy} ($\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)	Erreur Standard
Contrôle	14,9	$\pm 1,9$
Myrip-pARNi	22,6	$\pm 1,3$
$N = 10$ cellules, $p = 0,01$		
Contrôle	14,0	$\pm 1,5$
MyoVa-pARNi	24,5	$\pm 2,9$
$N = 16$ cellules, $p = 0,003$		

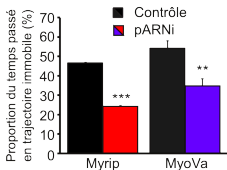
Myrip affecte la dynamique des granules



A

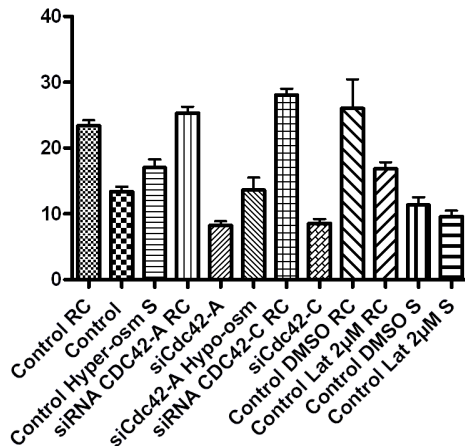


B



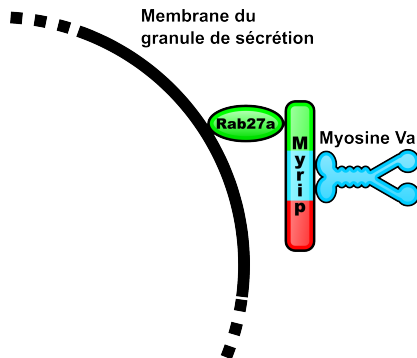
Mesures de tension

Data 1



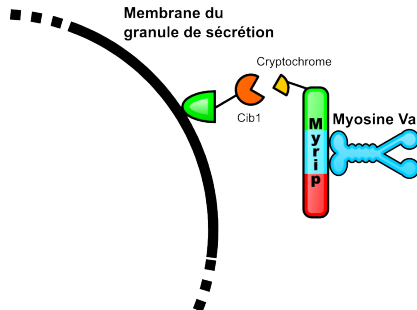
Perspectives : Myrip

Rôle de Rab27, et suivi dynamique de l'effet de Myrip/Myosine Va



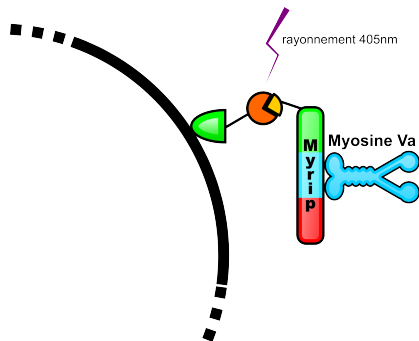
Perspectives : Myrip

Rôle de Rab27, et suivi dynamique de l'effet de Myrip/Myosine Va



Perspectives : Myrip

Rôle de Rab27, et suivi dynamique de l'effet de Myrip/Myosine Va



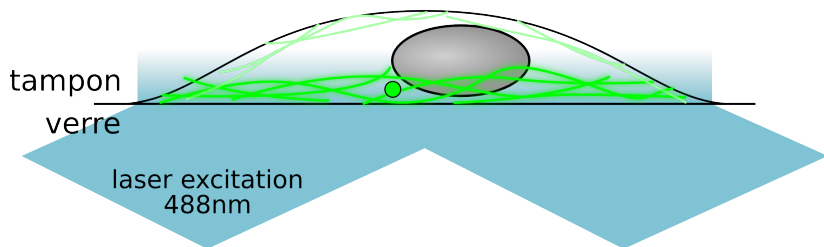
Perspectives : Myrip

Rôle de Rab27, et suivi dynamique de l'effet de Myrip/Myosine Va

Ancrer les granules dans l'actine par la sur-expression de Lifeact-Synaptobrévine ?

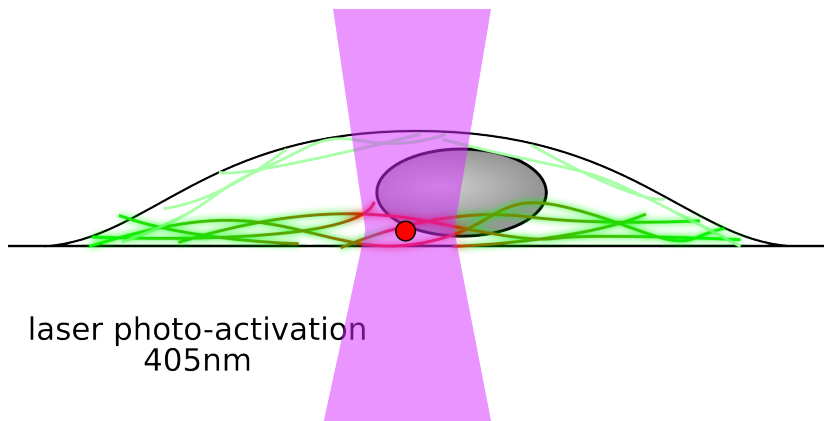
Perspectives : Myrip

Diffusion des granules : diffusion dans / avec l'actine ?
NPY-Dendra2 + Lifeact-Dendra2



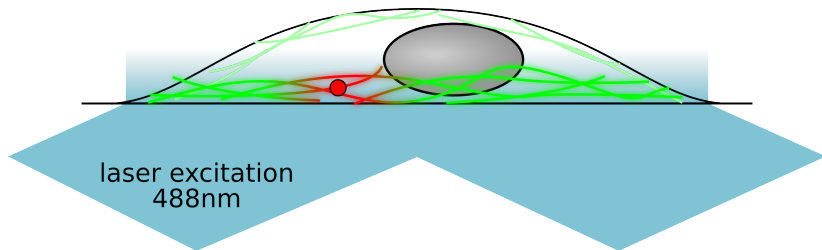
Perspectives : Myrip

Diffusion des granules : diffusion dans / avec l'actine ?
NPY-Dendra2 + Lifeact-Dendra2



Perspectives : Myrip

Diffusion des granules : diffusion dans / avec l'actine ?
NPY-Dendra2 + Lifeact-Dendra2



Perspectives : Myrip

Mise en évidence du rôle des mouvements de la Myosine Va ?

- Suivi des mouvements en z + inhibition de l'expression de la Myosine Va

Perspectives : Myrip

Mise en évidence du rôle des mouvements de la Myosine Va ?

- Suivi des mouvements en z + inhibition de l'expression de la Myosine Va
- Sur-expression d'un mutant actif

Perspectives : Cdc42

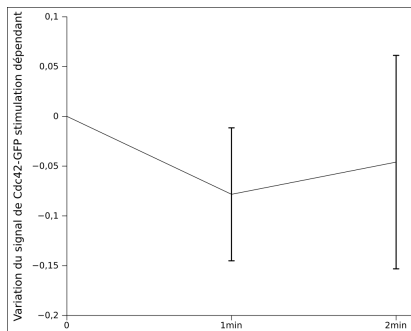
Recrutement de Cdc42 : local / global ?

- Montré par Stéphane Gasman de façon globale

Perspectives : Cdc42

Recrutement de Cdc42 : local / global ?

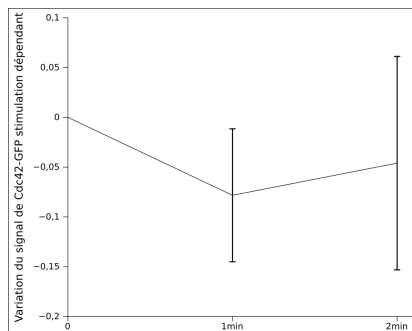
- Montré par Stéphane Gasman de façon globale
- Non reproduit au laboratoire avec Cdc42-GFP



Perspectives : Cdc42

Recrutement de Cdc42 : local / global ?

- Montré par Stéphane Gasman de façon globale
- Non reproduit au laboratoire avec Cdc42-GFP
- Imagerie de Cdc42 actif (FRET)



Perspectives : Cdc42

Mesure de la tension de la membrane

- Les mesures actuelles ne déconvoluent pas la tension du cytosquelette et celle des lipides

Perspectives : Cdc42

Mesure de la tension de la membrane

- Les mesures actuelles ne déconvoluent pas la tension du cytosquelette et celle des lipides
- Nécessité de développer un senseur fluorescent de la tension

Perspectives : Cdc42

Mesure de la tension de la membrane

- Les mesures actuelles ne déconvoluent pas la tension du cytosquelette et celle des lipides
- Nécessité de développer un senseur fluorescent de la tension
- Utilisation de canaux mécano-sensibles pour en faire une sonde de FRET.

Perspectives : Cdc42

Mesure de la tension de la membrane

- Les mesures actuelles ne déconvoluent pas la tension du cytosquelette et celle des lipides
- Nécessité de développer un senseur fluorescent de la tension
- Utilisation de canaux mécano-sensibles pour en faire une sonde de FRET.
- Cartographier la tension de la membrane plasmique

Perspectives : Cdc42

Mesure de la tension de la membrane

- Les mesures actuelles ne déconvoluent pas la tension du cytosquelette et celle des lipides
- Nécessité de développer un senseur fluorescent de la tension
- Utilisation de canaux mécano-sensibles pour en faire une sonde de FRET.
- Cartographier la tension de la membrane plasmique
- Utiliser des motifs pour fixer la forme des cellules. Influence sur la tension / mode de fusion.

Photo-activation de l'actine

