

Architecture et dynamique des jonctions adhérentes interendothéliales

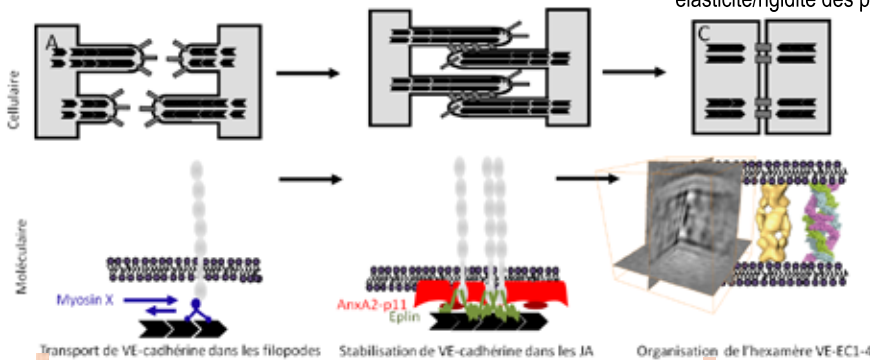
PCV 2006

Coordinateur: Olivier LAMBERT, CBMN, UMR5248, Bordeaux
 Partenaire 1: Danielle GULINO-DEBRAC, INSERM U1036, IRTVS-CEA Grenoble
 Partenaire 2: Claire DURMORT, Franck BOREL, IBS, UMR5075, Grenoble

Objectifs et Résultats

L'endothélium vasculaire (VE), formé d'une monocouche de cellules endothéliales tapissant l'intérieur des vaisseaux sanguins, constitue une barrière semi-perméable régulant la transmigration de constituants sanguins au niveau des jonctions intercellulaires. L'établissement de ces jonctions adhérentes (JA) **composées** entre autre de **molécules de VE cadhérine associées au cytosquelette d'actine** est un processus très dynamique qui reste encore mal connu. Les enjeux sont d'appréhender les mécanismes moléculaires mis en jeu au cours de la formation des JAs intercellulaires en révélant notamment la structure de la VE cadhérine, ses capacités d'autoassemblage et ses interactions avec le cytosquelette d'actine. Les jonctions adhérentes jouent un rôle central dans le contrôle de la balance migration/quiescence des cellules qui est au cœur des mécanismes de réparation tissulaire ou d'angiogénèse.

Dans le cadre de ce contrat ANR, la formation des JAs a été décrite de l'échelle moléculaire à l'échelle cellulaire en décryptant les mécanismes moléculaires utilisés par la cellule pour transporter rapidement et stabiliser les molécules de cadhérines. Les rôles actifs de la myosine X, (Almagro et al, 2010) de l'annexine A2 (Heyraud et al, 2009) et de l'EPLIN (Chervin-Pétinot et al, soumis) dans le transport des cadhérines et la stabilisation des JAs ont été appréhendés ainsi que les étapes de formation des jonctions (Bibert et al, 2008; Taveau et al., 2008; Almagro et al, soumis) et la structure de la VE-cadherine (Hewat et al, 2007). Cette étude nous informe sur les capacités des JAs à se remanier de manière contrôlée dans un contexte de formation ou de réparation tissulaires. Elle ouvre de nouvelles perspectives d'étude pour comprendre la dynamique des jonctions en réponse aux contraintes environnementales (flux sanguin, élasticité/rigidité des parois vasculaires ...).



Formation de JAs à base de VE-cadherine.
 A l'échelle cellulaire, formation de contacts intercellulaires précoces le long des parois latérales des filopodes.
 A l'échelle moléculaire, la VE-cadherine est transportée par la myosine X. En arrivant le complexe adhésif aux filaments d'actine, l'annexine A2 et l'EPLIN participent à sa stabilisation au niveau des JAs.

Méthodologie

En complément des techniques classiques de biochimie et de biologie cellulaire, trois grandes techniques ont été utilisées : (i) la **vidéomicroscopie de fluorescence** associée à la microscopie de type FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching), (ii) la microscopie électronique et les techniques associées telles que la **cryo-microscopie électronique**, la tomographie et l'analyse d'images des particules isolées et (iii) la **cristallographie et diffraction des rayons X** pour la détermination de structure des protéines.

Perspective rôle "mechanosensor" des JAs

Nous nous ré-engageons dans un nouveau projet « Mecatouch » sur cette thématique de l'adhérence cellulaire (AAP 2011 ANR (SVSE 5) pour analyser comment les JAs sont impliquées dans la transmission des forces intercellulaires.

[1] Taveau J.C., Dubois M., Le Bihan O., Tripodi S., Almagro S., Hewat E., Dumort C., Heyraud S., Gulino-Debrac D., Lambert O. (2006). Structure of artificial and natural VE-cadherin based adherens junctions. *Biochem. Soc. Trans.* **34**, 189-193.
 [2] Bibert S., Ayari H., Rivalina D., Corcos E., Hemarti B., Vernet T., Gulino-Debrac D. (2008). Establishment of cell-cell junctions depends on the oligomeric states of VE-cadherin. *J. Biochem.* **143**(6):824-832.
 [3] Almagro S., Dumort C., Chervin-Pétinot A., Heyraud S., Le Bihan O., Lambert O., Courjon M., Huber P., Gulino-Debrac D. Trafficking of VE-cadherin on intrajunctional and perijunctional actin filaments lead to the formation of endothelial adherens junctions (in press).
 [4] Hewat E., Dumort C., Jacquemin L., Corcos E., Gulino-Debrac D. (2007). Architecture of the VE-cadherin hexamer. *J. Mol. Biol.* **365**, 744-751.
 [5] Heyraud S., Taveau J.-C., Lambert O. (2010). Structure determination of membrane protein by both cryo-electron tomography and single particle analysis. *Methods Mol. Biol.* **654**, 207-220.
 [6] Almagro S., Dumort C., Chervin-Pétinot A., Heyraud S., Dubois M., Lambert O., Mallevaey C., Hewat E., Schatz J.-P., Huber P., Gulino-Debrac D. (2010). The motor protein Myosin-X transports VE-cadherin along filopodia to allow the formation of early endothelial cell-cell contacts. *Mol. Cell Biol.* **30**, 1710-1717.
 [7] Almagro S., Chervin-Pétinot A., Courjon M., Boulet S., Huber P., Gulino-Debrac D. Myosin-X constitutes a motor-assisted link between cadherins and the actin cytoskeleton. En cours de rédaction.
 [8] Heyraud S., Jacquemin L., Dumort C., Corcos E., Schatz J.-P., Huber P., Gulino-Debrac D. 2009. Contribution of armenin 1 to the architecture of mature endothelial adherens junctions. *Mol. Cell Biol.* **29**, 1651-1660.
 [9] Chervin-Pétinot A., Courjon M., Almagro S., Nicolas A., Gicquelais A., Pineda-Moné, Huber P., Gulino-Debrac D. Connection of EPLIN (Ephrin-Like Protein Lost in Neoplasia) to the VE-cadherin-catenin complex stabilizes vascular capillary network sources.

CONTACT :

o.lambert@cbmn.u-bordeaux.fr

