

## **Résumé**

Abstract

# Table des matières

# Chapitre 1

## La cellule et son environnement mécanique

La cellule est l'unité de base des êtres vivants. Elle peut extraire de l'énergie du milieu extérieur afin de se maintenir dans un état organisé et de se reproduire pour donner naissance à d'autres cellules par la division cellulaire.

Une cellule est séparée du milieu extérieur par une membrane. Elle contient son code génétique sous la forme d'ADN, elle le duplique et le transmet lors de ses divisions.

Les cellules sont séparées en deux grands groupes en fonction de l'état de leur ADN : les procaryotes et les eucaryotes. L'ADN des procaryotes est libre dans la cellule, il est souvent constitué d'un seul chromosome circulaire. Au contraire, l'ADN des eucaryotes est confiné dans un compartiment spécial, le noyau.

Chez les eucaryotes comme chez les procaryotes, il existe des organismes vivants pouvant être composés d'une ou de plusieurs cellules. Les plus grands organismes, comme les plantes ou les animaux, peuvent être composées d'un très grand nombre de cellules (de l'ordre de  $10^{14}$ ) qui possèdent le même génome mais ont des phénotypes très divers.

### 1.1 Organisation de la cellule eucaryote

Les cellules eucaryotes sont composées de plusieurs compartiments aux fonctions spécifiques à l'intérieur d'une membrane plasmique. Le noyau est le plus gros de ces compartiments, il renferme l'ADN organisé sous la forme de chromosomes et est le lieu de la transcription de l'ADN en ARN. Le réticulum endoplasmique rugueux est le siège de la traduction de l'ARN en protéines. L'appareil de Golgi est le lieu de transformation finale des protéines. Les mitochondries sont les unités de production d'énergie de la cellule : elles produisent l'Adénosine Triphosphate (ATP), qui sera transformée en Adénosine Diphosphate (ADP) en libérant de l'énergie. Les mitochondries sont d'anciennes bactéries devenues symbiotiques des cellules eucaryotes, elles possèdent leur propre ADN.

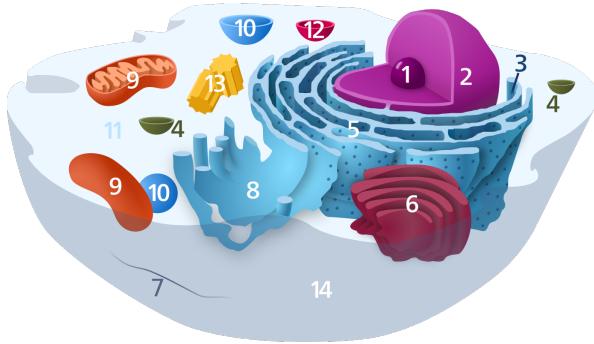


FIGURE 1.1 – La cellule eucaryote. 1. Nucléole 2. Noyau 3. Ribosome 4. Vésicule 5. Réticulum endoplasmique rugueux 6. Appareil de Golgi 7. Cytosquelette 8. Réticulum endoplasmique lisse 9. Mitochondrie 10. Vacuole (cellule végétale uniquement) 11. Cytosol 12. Lysosome 13. Centrosome 14. Membrane Plasmique  
Figure par Kelvinsong (CC0)

### 1.1.1 L'énergie dans la cellule

Une cellule vivante est un système très éloigné de l'équilibre thermodynamique. Pour se maintenir en vie, elle utilise donc de l'énergie qu'elle va trouver dans le milieu extérieur.

À l'intérieur de la cellule, la source d'énergie utilisée dans les réactions enzymatiques est l'hydrolyse de nucléosides triphosphates. Il s'agit majoritairement d'Adénosine Triphosphate, qui est hydrolysée en Adénosine Diphosphate et un phosphate inorganique en libérant 30,5 kJ/mol d'énergie. Les protéines qui utilisent l'ATP comme source d'énergie sont des ATPases. C'est le cas par exemple de l'actine et de la myosine qui utilisent l'ATP pour contracter les muscles, dont nous ferons une description plus détaillée plus loin.

Certaines protéines utilisent à la place de l'ATP le Guanosine Triphosphate, fonctionnant de la même manière. C'est pas exemple le cas des microtubules ou des petites GTPases comme RhoA, dont nous parlerons également plus loin.

Le corps ne possède en permanence que des réserves d'ATP pour quelques secondes, car l'ATP ne peut pas être stockée telle quelle dans l'organisme.

L'ATP ne peut pas être puisée directement dans le milieu extérieur. Les sources d'énergie des cellules animales sont les glucides simples (comme les sucres) ou complexes (comme l'amidon) et les lipides ou les acides aminés lorsque les autres sources font défaut.

La cellule animale reçoit principalement son énergie sous forme de glucose par la circulation sanguine. Ce glucose est alors dégradé d'abord dans le cytoplasme, puis en présence de dioxygène dans la mitochondrie. Une molécule de glucose permet d'obtenir une trentaine d'ATP. Lorsque le dioxygène ne permet pas de fournir assez rapidement l'énergie nécessaire, par exemple lors d'effort musculaires intenses, la fermentation permet de produire de l'énergie en produisant de l'acide lactique.

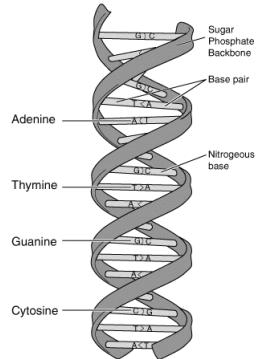


FIGURE 1.2 – Schéma de la structure de l'ADN, par Messer Woland CC-BY-SA-2.5

### 1.1.2 Le noyau

Le noyau sépare le matériel génétique du reste du milieu cellulaire. Cependant, bien d'autres molécules que l'ADN sont présentes dans le noyau, et il s'y passe d'autres choses que la transcription ou la duplication de l'ADN.

#### ADN

L'ADN est une molécule constituée d'un enchaînement de nucléotides composés d'une base azotée, d'un sucre et d'un groupement phosphates. Il existe quatre bases azotées possibles : Adénine, Thymine, Cytosine, Guanine. Leur enchaînement va être à la base du code génétique. L'enchaînement des nucléotides forme une double hélice dans laquelle les nucléotides se correspondent en deux paires : Adénine et Thymine, Cytosine et Guanine.

Le génome des êtres vivants peut comporter typiquement du million au milliard de paires de base d'ADN, la distance entre deux bases étant de 0,34nm. Chez l'homme, on compte environ 3,2 milliards de paires de bases, ce qui correspond à une longueur d'ADN de l'ordre du mètre, qui doit être stockée dans le noyau cellulaire d'un diamètre de 5 à 7 microns. On conçoit alors qu'une organisation spécifique de l'ADN dans le noyau soit nécessaire pour faire tenir une molécule aussi grande dans un compartiment aussi étroit.

L'ADN est enroulé autour de protéines appelées histones comme du fil autour d'une bobine, formant une structure appelée nucléosome. Ces nucléosomes empilés forment une structure bien plus compacte que l'ADN libre, appelée la chromatine. Certains acides aminés qui composent les histones peuvent subir des réactions chimiques comme l'acétylation ou la méthylation, qui ont un rôle dans la régulation de la transcription du génome. L'acétylation des histones détermine l'état de la chromatine : l'hétérochromatine est la forme compacte où l'ADN ne peut pas être transcrit, l'euchromatine est la forme plus étendue dans laquelle l'ADN est accessible pour la transcription.

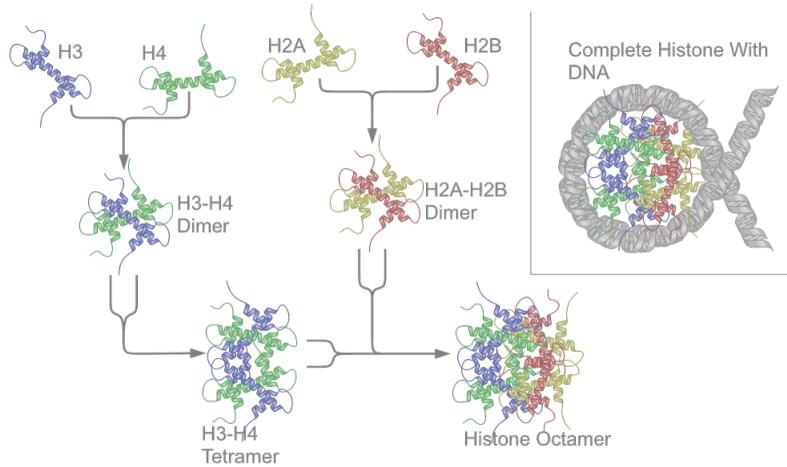


FIGURE 1.3 – Enroulement de l’ADN autour d’un complexe d’histones, illustré par richard wheeler (CC BY-SA 3.0)

### Transport nucléo-cytoplasmique

Le noyau est séparé du reste du cytoplasme par une membrane formée de deux bicouches lipidiques. Elle est percée de trous appelés pores nucléaires, par lesquels les molécules peuvent entrer et sortir du noyau. Les protéines de taille inférieure à 40 kDa peuvent passer par diffusion passive par les pores nucléaires.

Les protéines de plus grande taille doivent faire appel à des transporteurs spécifiques pour aller d'un côté de la membrane à l'autre. Les importines vont localiser sur la protéine à importer un signal de localisation nucléaire (NLS) et se lier à elle par ce biais. Le couple importine-cargo va diffuser à travers le pore nucléaire. Une fois dans le noyau, l'importine va se lier à la RanGTP et se dissocier du cargo, qui est libéré dans le nucléoplasme. L'importine est alors à nouveau exportée du noyau et la GTP hydrolysée en GDP. De même, une protéine possédant une séquence d'export nucléaire (NES) sera liée à une exportine-GTP, et le couple diffusera vers le cytoplasme. Une fois dans le cytoplasme, la GTP est hydrolysée en GDP et le cargo relargué. L'exportine revient dans le noyau par diffusion.

Par exemple, l'actine, bien que de taille 42kDa, à la limite de la diffusion passive, est importée de manière active par l'importine 9 et exportée par l'exportine 6.

### 1.1.3 La membrane plasmique

La membrane plasmique sépare le milieu intérieur de la cellule de l'extérieur. Elle est composée d'une bicouche de lipides amphiphiles dans laquelle sont encastrées des molécules transmembranaires qui permettent de réguler les

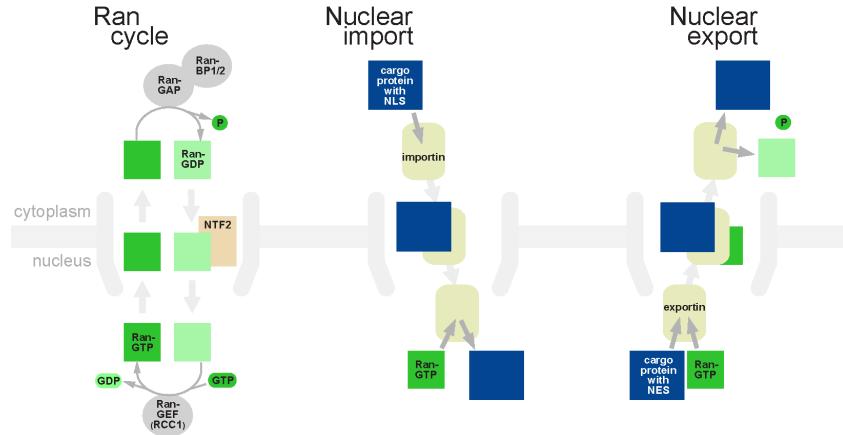


FIGURE 1.4 – Schéma du transport nucléo-cytoplasmique par les karyophérines.

échanges avec le milieu.

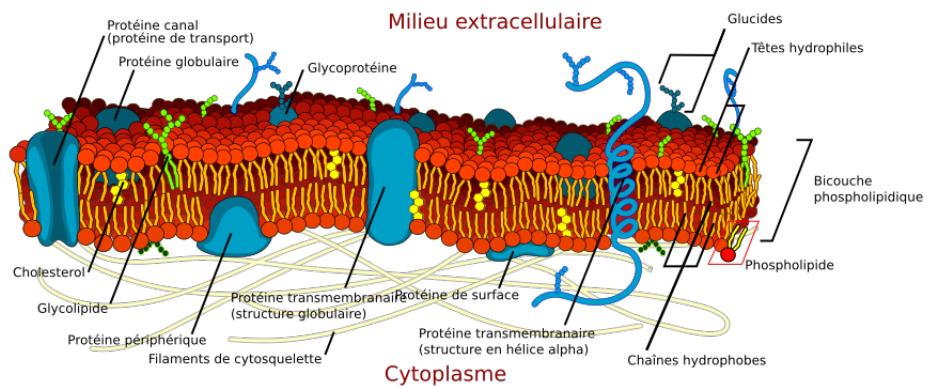


FIGURE 1.5 – Schéma de la membrane plasmique

### Transport transmembranaire

La membrane assure le passage de molécules d'un côté à l'autre de manière active ou passive.

Les lipides peuvent passer par diffusion à travers la barrière, c'est le cas par exemple des hormones stéroïdiennes comme les androgènes ou les œstrogènes, dont les récepteurs sont à l'intérieur de la cellule et non sur la membrane.

Les ions comme le calcium, le potassium ou le magnésium sont transportés par des canaux spécifiques. Le mouvement des ions permet de polariser la membrane et de faire passer un signal électrique et est essentiel dans le fonctionnement du système nerveux et dans la contraction musculaire. Des canaux

spécialisés, les aquaporines, laissent passer l'eau pour moduler la pression osmotique. Il existe une très grande variété de transporteurs d'espèces chimiques à travers la membrane.

Des molécules peuvent également être transportées de l'intérieur vers l'extérieur par l'invagination d'une partie de la membrane en une petite bulle, la vésicule. Ce phénomène s'appelle l'endocytose. Inversement, des vésicules dans le milieu intracellulaire peuvent fusionner avec la membrane pour émettre leur contenu vers l'extérieur, c'est l'exocytose. Les cellules fabriquant la matrice extra-cellulaire utilisent l'exocytose pour excréter les protéines synthétisées.

### **Signalisation**

La liaison d'un récepteur membranaire à un ligand peut déclencher une activité enzymatique, une ouverture de canaux ioniques ou l'activité des protéines G (dont les petites GTPases). La famille des protéines à 7 segments transmembranaires, par exemple, est responsable de la détection des signaux visuels, olfactifs, gustatifs, inflammatoires ...

### **Adhésion**

La plupart des cellules font partie d'un tissu et adhèrent à d'autres cellules voisines et aux protéines de la matrice extra-cellulaire par l'intermédiaire de protéines transmembranaires.

#### Interactions cellules-cellules

Les cellules se lient les unes aux autres pour se reconnaître, communiquer et former une structure complète.

La super famille des immunoglobulines comprend des molécules d'adhésion (IgCAM), souvent spécifiques à un type cellulaire. Elle comprend également les complexes majeurs d'histocompatibilité, qui permettent au système immunitaire de reconnaître les cellules de son propre organisme.

Les cellules échangent entre elles des espèces chimiques et des signaux électriques. Les jonctions communicantes permettent une communication directe entre deux cellules en contact. Les espèces chimiques peuvent passer librement de l'une à l'autre. Cela peut amplifier un signal hormonal, perçu par une cellule et transmis à travers ces jonctions aux voisines qui n'ont pas capté le signal directement. Elles peuvent également servir à transmettre très rapidement un signal électrique. Les synapses sont un système très élaboré de communication entre deux cellules par échange d'espèces chimiques (les neurotransmetteurs) par exocytose dans un espace inter-cellulaire réduit.

Les jonctions serrées permettent de créer une étanchéité de part et d'autre d'une monocouche cellulaire. Les cellules épithéliales forment un feuillet continu lié par des jonctions serrées qui maintient la séparation entre le milieu extérieur (la lumière) et le milieu intérieur, par exemple au niveau de la peau, des muqueuses, de l'intérieur du tube digestif...

Les cadhérines forment une famille de protéines exprimées partout dans l'organisme à tous les stades de son développement. Il existe une trentaine de gènes

de cadhérines, et encore plus de protéines exprimées grâce à l'épissage. Ces différentes protéines sont spécifiques selon le type cellulaire. Les cadhérines de deux cellules voisines peuvent interagir par leur domaine extra-cellulaire pour former une jonction (interaction cis). Les cadhérines peuvent également interagir par leur domaine transmembranaire entre cadhérine d'une même membrane et former des amas (interaction trans). Les cadhérines permettent de maintenir l'intégrité mécanique d'un tissu de cellules en connectant les cytosquelettes de cellules voisines entre eux. Les cadhérines desmosomales lient les réseaux de filaments intermédiaires, alors que les cadhérines classiques lient les réseaux d'actine.

#### Interactions cellules-matrice

La famille des intégrines est le principal médiateur des interactions cellule-substrat. Elles forment des hétérodimères entre une forme alpha (parmi 18) et une forme beta (parmi 8). Au total, les différentes combinaisons entre les unités alpha et beta forment 24 dimères qui sont exprimés dans différents types cellulaires et qui se lient à différentes protéines de la matrice extra-cellulaire comme le collagène ou la fibronectine. Les intégrines relient la matrice extra-cellulaire au cytosquelette d'actine sous la membrane plasmique. Du côté interne de la membrane, l'intégrine se lie à des protéines comme la vinculine, la paxilin, la zyxine, ou la taline pour former des complexes appelés adhésions focales. Les intégrines sont la porte d'entrée des signaux mécaniques de la MEC. La plupart des molécules qui s'associent aux intégrines sont impliquées dans la mécanotransduction car elles sont responsables du déclenchement de voies de signalisation en réponse aux signaux reçus par les intégrines.

### 1.1.4 Cytosquelette

Le cytosquelette est l'armature sur laquelle repose la cellule pour maintenir sa forme. Il lui permet d'exercer et de sentir des forces, de se déplacer, de gérer l'organisation interne de ses organites et le trafic entre elles. Il est composé de trois réseaux de protéines assemblées en filaments : les microtubules, les filaments intermédiaires et l'actine.

Les filaments du cytosquelette sont en réorganisation constante : la polymérisation<sup>1</sup> et la dépolymérisation ont lieu en permanence, à des rythmes qui sont étroitement régulés par la cellule. Des protéines de pontage peuvent lier ces filaments pour former un gel réticulé, tandis que d'autres protéines peuvent se lier aux extrémités pour contrôler la cinétique de polymérisation ou de dépolymérisation. Certaines des protéines de pontage sont des moteurs : elles peuvent convertir de l'énergie chimique en déplacement le long des filaments et mettre le gel de filaments sous tension.

---

1. Ici, il ne s'agit pas d'une polymérisation au sens chimique. La structure des filaments du cytosquelette est semblable à celle d'un polymère mais à une échelle différente, et les interactions chimiques en jeu sont tout à fait différentes. Par analogie, on parle de monomères, de polymérisation et de protéines de pontage.

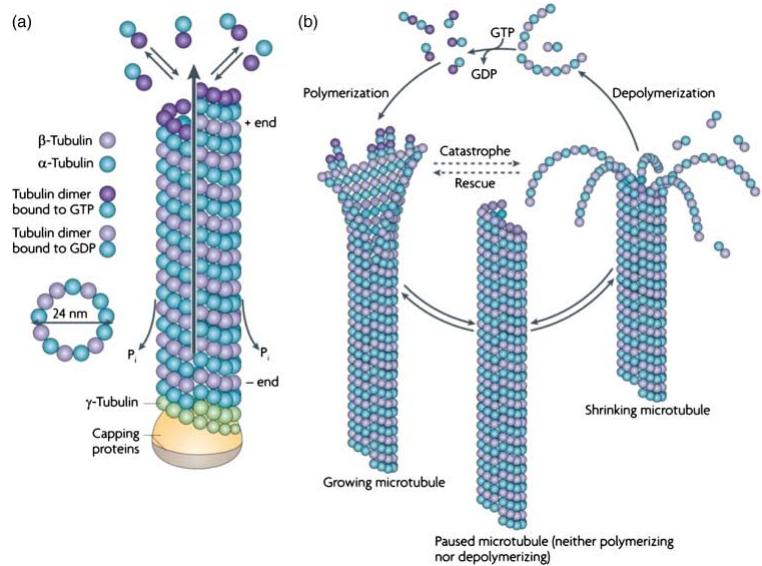


FIGURE 1.6 – Construction et destruction des microtubules.

## Microtubules

La tubuline, composée de deux sous-unité ( $\alpha$  et  $\beta$ ), s'associe en un protofilament de treize monomères, qui vont s'additionner pour former de longs filaments creux de diamètre 25nm. Ces filaments sont polarisés, une extrémité ne comportant que des sous-unités  $\beta$  (notée +) et l'autre que des  $\alpha$  (notée -), la polymérisation ayant lieu à l'extrémité + et la dépolymérisation à l'extrémité -. Le microtubule est le filament le plus rigide du cytosquelette, sa longueur de persistance est de l'ordre du millimètre, bien plus que la taille d'une cellule.

Les microtubules sont organisés autour d'un élément central : le centrosome. A partir de cet élément central, les microtubules irradient vers la périphérie cellulaire. Sur les microtubules, deux moteurs moléculaires se déplacent, les dynéines et les kinésines, respectivement de l'extrémité + vers - et de - vers +.

Les microtubules organisent les éléments de la cellule et assurent le transport entre les organites, en particulier par le déplacement des vésicules. Les moteurs moléculaires conduisent les vésicules d'un organite à l'autre, par exemple les protéines nouvellement synthétisées vers l'appareil de Golgi, ou les protéines de la matrice extra-cellulaire vers la membrane.

Les microtubules jouent un rôle prépondérant lors de la mitose. Ils s'assemblent en un fuseau à la pointe duquel se trouve les centrosomes. Au centre s'alignent les paires de chromosomes, qui sont séparés et emmenés vers les centrosomes. La plupart des drogues perturbant les microtubules bloquent la mitose et sont utilisées pour cette raison dans les traitements anti-cancéreux.

Les flagelles et les cils, par exemple le flagelle du spermatozoïde, sont com-

posés d'un faisceau de microtubules animé par les moteurs moléculaires.

### Filaments intermédiaires

Contrairement à l'actine et à la tubuline, qui sont conservées et exprimées dans tous les types cellulaires, les filaments intermédiaires sont une famille de protéines dont l'expression dépend du type cellulaire (à l'exception de la lamine). Leur assemblage ne nécessite pas non plus l'hydrolyse d'ATP ou de GTP, il est spontané, et il n'existe pas de moteurs moléculaires se déplaçant sur ces filaments.

Les réseaux de filaments intermédiaires sont liés aux protéines transmembranaires (cadhéries, intégrines) au niveau de structures appelées desmosomes (nom qui vient de la desmine) qui participent à l'intégrité mécanique des tissus.

Le réseau de filaments intermédiaires est beaucoup plus stable que les deux autres réseaux du cytosquelette, qui sont en construction et destruction permanentes. Leur rôle est principalement d'ancrer les différents organites dans la cellule.

Les plus connus des filaments intermédiaires sont sans doute les kératines, exprimées dans les cellules épithéliales et qui sont le constituant principal des poils et des ongles des mammifères (la kératine des reptiles et des oiseaux ne présente pas d'homologie avec celle des mammifères).

La vimentine est exprimée dans toutes les cellules d'origine mésenchymateuse. Elle joue un rôle dans la localisation des vésicules bien que ne participant pas directement à leur transport : le réseau de vimentine interagit avec celui des microtubules. Elle est également impliquée dans la régulation de l'adhésion et de la migration cellulaire. L'expression de vimentine est souvent un marqueur de la transition épithélio-mésenchymateuse.

Plusieurs types de filaments intermédiaires sont exprimés dans les neurones, et deux types sont spécifiquement responsables de la transparence du cristallin.

### Les lamines

Les lamines diffèrent des autres filaments intermédiaires sur plusieurs points. Elles ne forment pas un réseau dans toute la cellule mais sont localisées à la membrane nucléaire, et elles sont exprimées dans tous les types cellulaires.

Les lamines forment un réseau soutenant la membrane nucléaire interne, dans lequel sont ancrés les pores nucléaires. Par l'intermédiaire de protéines comme la nesprine, le réseau laminaire est couplé mécaniquement au cytosquelette d'actine de la cellule et il est couplé au réseau interne par l'émerine, protéine qui coiffe la pointe des filaments d'actine et augmente leur polymérisation. Le réseau de lamines doit maintenir l'intégrité du noyau et définit ses propriétés mécaniques. Les lamines organisent également la chromatine à l'intérieur du noyau et contribuent à réguler l'expression du génome.

La progéria et le syndrome de dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss sont liés à des mutations sur le gène de la lamine A (ou sur celui de l'émerine dans ce deuxième cas).

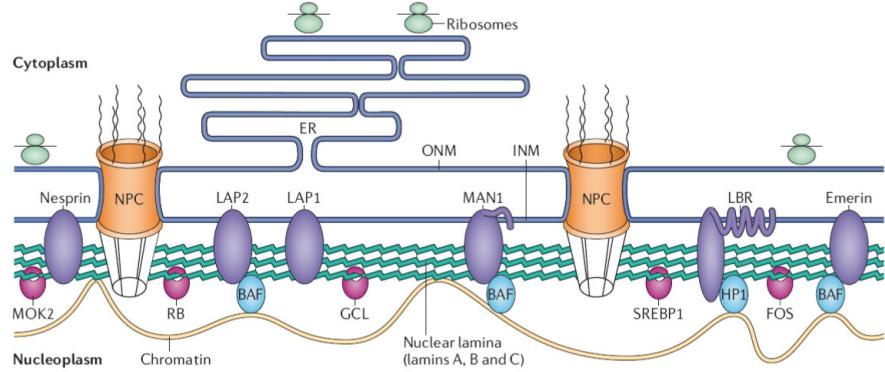


FIGURE 1.7 – Les lamines soutiennent l’organisation de la membrane nucléaire.  
Illustration par Coutinho et al. *Immunity and Ageing* 2009

### Filaments intermédiaires dans les cellules musculaires

Quatre types de filaments intermédiaires sont exprimés dans la cellule musculaire : la desmine, la vimentine, la lamine et la synésine. La desmine et la vimentine ont des structures suffisamment proches pour pouvoir former des hétéro-dimères et s’associer dans des filaments. La synésine ne peut former que des hétéro-dimères avec les autres filaments intermédiaires. Elle permet de lier le réseau de desmine au disque Z.

Le réseau de desmine du muscle squelettique est principalement localisé au niveau des disques Z et organise leur alignement. Dans les desminopathies, les mutations de la desmine désorganisent les myofibrilles et causent une myopathie. Le réseau de desmine s’étend à travers toute la cellule musculaire et couple mécaniquement les différents organites. Les perturbations du réseau de desmine ne désorganisent pas le réseau de microtubules ni celui d’actine, mais il existe des liens entre les trois réseaux du cytosquelette.

Dans les myoblastes (cellules précurseurs du muscle squelettique), la desmine participe aux propriétés mécaniques de la cellule : la surexpression de desmine sauvage augmente la rigidité cellulaire.

### Actine

L’actine constitue le réseau du cytosquelette le plus versatile et le plus dynamique. Son réseau est constamment réorganisé, et elle est le composant essentiel de la motilité cellulaire.

Toutes les cellules eucaryotes expriment des actines, qui sont hautement conservées de la levure jusqu’à l’humain. Ce sont également des protéines très exprimées, et l’actine peut représenter jusqu’à 15% de la masse de protéines

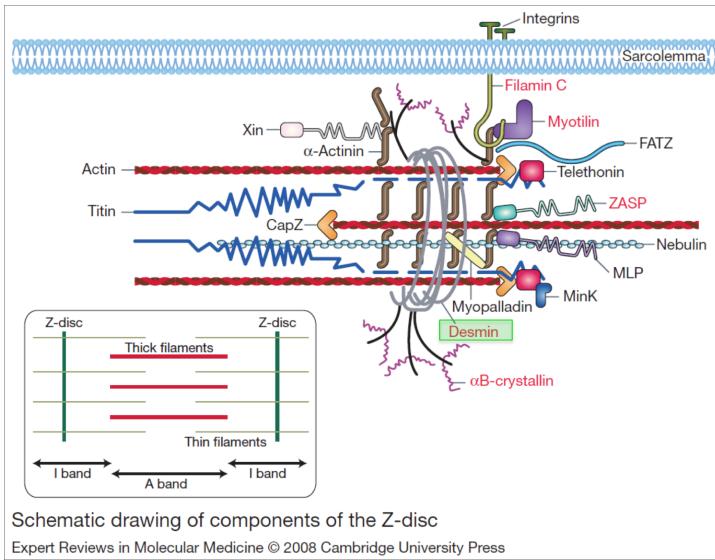


FIGURE 1.8 – Rôle de la desmine dans l’organisation des fibres musculaires.

dans une cellule.

La membrane plasmique est une bicouche lipide qui n'a pas de résistance mécanique propre. Un réseau dense et très branché d'actine forme une couche rigide sous la membrane et confère sa forme à la cellule : le cortex d'actine. Ses propriétés sont essentielles dans les déformations des cellules et dans l'interaction de celles-ci avec un substrat. Dans le volume de la cellule, l'actine forme un réseau moins dense, caractérisé par des faisceaux de filaments appelés fibres de stress. Dans le muscle, l'actine et ses moteurs associés (les myosines) forment une organisation spécialisée responsable de la contraction musculaire, appelée sarcomère.

Lors de la division cellulaire, le réseau d'actine est dépolymérisé. À la fin de la séparation des chromosomes, l'actine corticale forme un anneau contractile qui va se refermer pour séparer le corps cellulaire en deux cellules filles distinctes.

Un grand nombre de protéines interagissent avec l'actine (Actin-Binding Proteins). Concernant le cytosquelette d'actine, il s'agit de facteurs de polymérisation ou de dépolymérisation, de moteurs (les myosines) ou de protéines qui ancrent le réseau d'actine aux protéines transmembranaires (comme les cadhéries ou les intégrines) ou au réseau de lamines du noyau.

L'actine n'est pas limitée à un rôle mécanique, elle a également des rôles de régulation de l'expression du génome et d'organisation de l'ADN.

Le couplage entre le rôle mécanique de l'actine et son rôle transcriptionnel est au cœur de ce travail de thèse, c'est pourquoi l'actine sera présentée en détail dans un chapitre dédié.

## 1.2 Expression du génome

Le génome d'un organisme contient toute l'information nécessaire à la reconstitution de l'organisme entier. Cependant, il est évident dans un organisme pluricellulaire que si toutes les cellules contiennent le même génome, elles ne l'expriment pas de la même manière. C'est également le cas chez des êtres unicellulaires : des bactéries ou des levures ayant le même génome ne vont pas l'exprimer de la même manière selon les conditions extérieures.

Les parties codant directement pour des protéines ne représentent qu'une toute petite partie de l'ADN. Autour des séquences codantes, le reste du génome permet de déterminer quelles protéines doivent être synthétisées, et dans quelles quantités.

### 1.2.1 Des gènes aux protéines

Le chemin d'un gène à une protéine fonctionnelle passe par trois étapes principales : la transcription de l'ADN en ARN, la maturation de l'ARN et la traduction de l'ARN en protéine

#### La transcription

L'information génétique est stockée dans l'ADN, pour y être protégée et transmise d'une génération à l'autre. Les quatre bases de l'ADN fonctionnent par paires, et grâce à ce mécanisme un brin d'ADN peut être complété par sa séquence miroir.

Lorsque toutes les conditions d'expression sont réunies, l'ARN polymérase peut se fixer sur l'ADN au site de début de transcription. Le complexe ouvre l'ADN, et permet aux bases de l'ARN, Adénine, Uracile, Guanine et Cytosine, de compléter les bases de l'ADN, respectivement Thymosine, Adénine, Cytosine et Guanine. L'ARN polymérase progresse ainsi jusqu'à rencontrer une séquence terminatrice sur l'ADN.

À l'issue de cette étape, un ARN a été transcrit directement à partir de la séquence codante.

#### La maturation de l'ARN

A l'issue de sa transcription, l'ARN subit plusieurs transformations. Des éléments sont ajoutés à ses deux extrémités, pour sa stabilité et sa reconnaissance par les ribosomes. L'ARN transcrit comprend deux types de séquences, les introns et les exons. Seuls les exons contiennent l'information des acides aminés pour coder la protéine. L'ARN va subir une étape d'épissage : les introns sont retirés de l'ARN jusqu'à ce qu'il ne reste que l'enchaînement des exons. Lors de cette étape, tous les exons peuvent être réassemblés, ou seulement une partie d'entre eux. Les protéines synthétisées par ces reconstitutions différentes seront différentes : on parle d'épissage alternatif. Un même gène peut donc coder pour des protéines différentes grâce au jeu de l'épissage. Chez la drosophile par

exemple, un unique gène code pour autant de protéines différentes que tout le reste du génome.

Après sa maturation, l'ARN messager est exporté du noyau pour se diriger vers le réticulum endoplasmique.

Tous les ARN n'ont pas vocation à être traduits en protéines : certains vont accomplir leur fonction sous cette forme. C'est le cas des éléments de la machine de traduction (ARN de transfert et ARN du ribosome), ou des micro-ARN, qui vont participer à la régulation de l'expression des gènes en aval de la transcription.

### La traduction

Le code génétique est la correspondance entre des triplets de nucléotides et les acides aminés qui composent les protéines. Dans le cytoplasme, les ribosomes et les ARN de transfert vont faire la correspondance entre les nucléotides de l'ARN messager et les acides aminés, et assembler la suite des acides aminés jusqu'à atteindre un codon stop.

## 1.2.2 Régulation de l'expression du génome

### Réorganisation de la chromatine

L'ADN est stocké dans la cellule sous une forme condensée, la chromatine. Il est enroulé autour de complexes de protéines appelées les histones. Selon leur état biochimique (acétylation, méthylation) les histones forment un enroulement plus ou moins compact de l'ADN. Sous sa forme la plus condensée, l'hétérochromatine, l'ADN n'est pas accessible pour être lu par les ARN polymérase, il ne peut pas être transcrit. Par exemple, chez les femelles mammifères, l'un des deux chromosomes X est désactivé afin de ne pas avoir deux fois plus de transcription des gènes portés par ce chromosome qu'un organisme mâle. Il est condensé définitivement sous forme d'hétérochromatine.

La compaction de l'ADN dans l'hétérochromatine ou dans l'euchromatine détermine donc quels gènes sont accessibles pour être transcrits et quels gènes sont désactivés dans l'hétérochromatine. La régulation de cette organisation par la modification chimique des histones est donc la première étape de la régulation transcriptionnelle du génome.

### Les facteurs de transcription

L'ARN polymérase ne peut pas se lier seule de manière stable sur l'ADN pour initier la transcription. Les facteurs de transcription sont une famille de protéines qui ont pour rôle de se fixer sur l'ADN en amont de la séquence à transcrire pour contribuer à l'expression du gène ou au contraire pour la réprimer.

Un facteur de transcription reconnaît une séquence spécifique sur l'ADN en amont du gène régulé, le promoteur. Les promoteurs en amont d'un gène vont déterminer quels facteurs de transcription vont être capables d'activer la

transcription. Des gènes partageant le même promoteur vont être activés par les mêmes facteurs de transcription et répondre aux mêmes stimuli.

Dans le développement des êtres pluricellulaires, la différenciation des cellules souches totipotentes de l'embryon en différents types de tissus va être orchestrée par l'activation de nombreux facteurs de transcription.

Les facteurs de transcription vont également être impliqués dans les réponses d'une cellule ou d'un organisme à des signaux biologiques provenant de cellules voisines (par l'intermédiaire des liaisons transmembranaires entre deux cellules, par une structure spécialisée comme un synapse ou par un signal paracrine) ou des tissus éloignés (hormones circulant dans le corps), mais aussi à des signaux environnementaux comme la température, le choc osmotique, les contraintes mécaniques, l'exposition à la lumière du soleil ...

Un facteur de transcription peut recruter d'autres protéines, comme des coactivateurs (ou des corépresseurs), ou des protéines qui vont changer localement l'état de compacité de la chromatine, afin de rendre le gène plus facilement ou plus difficilement accessible.

Un facteur de transcription ou ses coactivateurs doivent être présents dans le noyau pour accomplir leur fonction. Le contrôle de leur localisation dans la cellule permet d'activer ou de désactiver un facteur de transcription. Par exemple, le récepteur des œstrogènes est principalement présent dans le cytoplasme en l'absence d'hormone. En présence d'hormones, il est transporté dans le noyau où il peut se lier à l'ADN et activer la transcription de ses gènes cibles.

Un facteur de transcription peut également être régulé par la phosphorylation ou celle de ses cofacteurs, ou par la présence d'un ligand.

## Chapitre 2

# L'actine

L'actine est une protéine ubiquitaire conservée chez tous les eucaryotes, exprimée dans tous les types cellulaires. Ses fonctions sont multiples et variées et se divisent en deux catégories principales, les fonctions mécaniques et les fonctions régulatrices.

Elle se présente dans la cellule sous deux formes principales : en monomères (Actine G pour globulaire) ou en filaments (Actine F). Elle interagit avec un grand nombre de protéines (certains pensent même qu'il s'agit de la protéine interagissant avec le plus grand nombre d'autres protéines) appelées Actin-Binding Proteins.

L'actine est un composant du cytosquelette sous forme d'un réseau de filaments très dynamique. La rigidité d'une cellule et sa motilité sont majoritairement contrôlées par l'organisation du cytosquelette d'actine.

Mais l'actine est également un composant des trois ARN Polymérases PolII, PolIII et PolIII, qui transcrivent l'ADN en ARN pendant la première étape de l'expression du génome. Elle est indispensable à la réorganisation de la chromatine qui précède l'expression mais aussi à l'export de l'ARN.

L'association de ces rôles mécaniques et biologiques fait de l'actine un acteur de choix dans l'interface entre les signaux mécaniques et les signaux biologiques.

Dans le corps, l'actine a des fonctions spécifiques dans un grand nombre d'organes, comme la contraction des muscles, l'organisation des dendrites et des axones des neurones, le fonctionnement des plaquettes ou de l'appareil auditif.

### 2.1 Actine G

Chez les mammifères, l'actine est codée par 6 gènes qui peuvent donner une trentaine de molécules différentes par le jeu de l'épissage. Elles sont divisées en trois familles : les actines  $\alpha$  qui sont exprimées dans les muscles cardiaques, lisses et squelettiques, les actines  $\beta$  et  $\gamma$  exprimées dans les autres types cellulaires. Les différentes formes d'actine sont très proches en séquence, mais ne peuvent pas complètement se substituer les unes aux autres. Toutes les formes peuvent



FIGURE 2.1 – Cristallisation d'un monomère d'actine ADP, d'après OTTERBEIN 2001

s'incorporer dans les filaments.

La protéine transcrit à un poids moléculaire de 42 kDa, et est produite en grande quantité dans les cellules, où elle pèse environ pour 1 à 5 % de la masse protéique.

### 2.1.1 Structure

La structure moléculaire de l'actine a été observée un grand nombre de fois, en cristallisation avec différents ABP comme la Dnase, la latrunculine ou la profiline.

Elle est composée de 4 sous-domaines organisés en deux lobes. Les sous-domaines 2 et 4 forment l'extrémité - du filament, les sous-domaines 1 et 3 forment l'extrémité +. Entre les deux lobes se trouve le site de liaison à l'ATP. À côté de ce site se trouve une zone d'interaction avec les cations divalents ( $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$ ).

Dans le sous-domaine 2 se trouve une structure de 8 acides aminés appelée Dnase binding loop, désorganisée dans la plupart des cristallisations de l'actine mais organisée en feuillet  $\beta$  lorsqu'elle est liée à la Dnase. Au centre de cet élément se trouve une méthionine en position 44 qui peut être oxydée par la protéine MICAL.

### **2.1.2 L'actine est une ATPase**

L'actine, après sa fabrication, n'est prête à jouer son rôle qu'avec l'ajout d'une ATP au centre de sa structure. En plus de ses deux formes, globulaire ou filamenteuse, l'actine a donc également deux états énergétiques : ATP ou ADP.

Les deux formes d'actine, ATP et ADP sont capables de former des filaments et de s'incorporer à des filaments. Cependant, l'actine ATP est plus facilement polymérisée alors que l'actine ADP est plus facilement dépolymérisée. Les actines ATP incorporées dans un filament sont ensuite hydrolysées, et deviennent donc plus facilement dépolymérisables, ce qui donne lieu à un tapis roulant : les monomères s'ajoutent à un bout et s'enlèvent à l'autre.

### **2.1.3 Localisation et transport**

L'actine a longtemps été étudiée pour son rôle dans le cytoplasme, en tant que composant du cytosquelette. Cependant de l'actine est également présente dans le noyau de la cellule, où elle a des rôles essentiels. L'actine peut polymériser dans les deux compartiments, bien que l'on ne trouve pas de grands filaments organisés dans le noyau.

L'actine est à une taille intermédiaire pour les pores nucléaires : elle n'est pas tout à fait assez petite pour diffuser facilement à travers. Elle est donc transportée activement entre le noyau et le cytoplasme. Son import nécessite la liaison à la cofiline, et est médiée par l'importine 9. Son export nécessite la profiline et est médiée par l'exportine 6.

### **2.1.4 Oxydation de l'actine**

Les protéines MICAL sont capables d'ajouter deux atomes d'oxygène sur la Met44 de l'actine. Cet acide aminé est au centre d'une zone de la protéine qui relie les monomères dans un filament. L'oxydation spécifique de cet acide aminé déstabilise les filaments et l'actine oxydée est incapable de se lier à d'autres actines pour former de nouveaux filaments.

MICAL2 est une version de cette protéine localisée dans le noyau. L'actine qu'elle oxyde, en plus d'être dépolymérisée, est expulsée du noyau et ne peut plus y entrer. MICAL2 organise donc la régulation de l'actine nucléaire en appauvrissant le réservoir d'actine nucléaire en filaments et en monomères.

### **2.1.5 Protéines interagissant avec l'actine G**

La profiline est une petite protéine (autour de 15kDa) qui peut se lier à l'actine G par son extrémité +, l'empêchant de former un nouveau filament ou de se lier à l'extrémité - d'un filament existant. Bien qu'elle se lie au monomère, son action est globalement favorable à la croissance des filaments. La profiline facilite le remplacement d'une ADP par une ATP dans le monomère auquel elle est attaché. Or l'actine ATP polymérisé mieux que l'actine ADP, l'action de la profiline va donc recycler l'actine ADP dépolymérisée des anciens filaments en

actine ATP prête à allonger de nouveaux filaments. De plus, les élongateurs de filaments comme les formines et VASP vont préférentiellement utiliser de l'actine liée à la profiline pour faire croître les filaments. La profiline joue également un rôle dans la localisation de l'actine : l'exportine 6 va se lier spécifiquement au complexe actine-profiline et le faire passer de l'intérieur vers l'extérieur du noyau.

Les thymosines  $\beta$ 4 sont de toutes petites protéines d'environ 5kDa dont le rôle principal est de maintenir un réservoir d'actine monomérique. Elles se lient principalement aux actines ATP et les empêchent de polymériser.

Les CAP (Adenylate Cyclase Associated Protein) sont également des catalyseurs de l'échange une ADP contre une ATP dans les monomères d'actine.

Les cofilines sont une famille de petites protéines qui lient à l'actine G et à l'actine F. Elles ont une préférence pour l'actine ADP. Le complexe cofiline-actine est plus facilement recruté par les CAP, qui vont dissocier le complexe et remplacer l'ADP par une ATP sur l'actine. Les cofilines sont suffisamment petites pour passer par les pores nucléaires par diffusion, elles sont cependant dotées d'un signal de localisation nucléaire. Cela leur permet d'être importées dans le noyau lorsqu'elles sont liées à d'autres protéines plus massives. Ainsi, le complexe cofiline-actine est importé dans le noyau par l'importine 9.

L'actine bloque l'activité de la DNase I, une enzyme qui coupe l'ADN en fragments de 4 paires de bases de manière non spécifique. La DNase I se lie à l'actine globulaire avec une grande affinité, alors qu'elle ne se lie que très peu à l'actine F, c'est pourquoi elle est souvent utilisée pour la détection de l'actine G en immunofluorescence.

Les Myocardin-Related Transcription Factors sont des cofacteurs de transcriptions qui peuvent former des complexes avec trois ou cinq monomères d'actine. Leur rôle n'est pas de réguler l'équilibre dynamique de l'actine mais d'agir comme un détecteur de la concentration de monomères d'actine disponibles. En fonction de l'état de polymérisation du cytosquelette, les MRTF vont réguler l'activité d'un facteur de transcription contrôlant les gènes de l'actine et d'un grand nombre d'ABP qui régulent sa dynamique. Les MRTF sont un maillon d'une boucle de rétro-action qui contrôle la dynamique de l'actine à long terme par l'expression des gènes. Les mécanismes détaillés de ce contrôle et ses conséquences seront décrits dans un chapitre dédié.

## 2.2 Actine F

La principale fonction de l'actine chez les eucaryote est sa capacité à former un réseau de filaments branchés, connecté par des moteurs moléculaires. La formation de filaments d'actine est régulée par de très nombreuses protéines qui vont se lier aux monomères ou aux filaments.

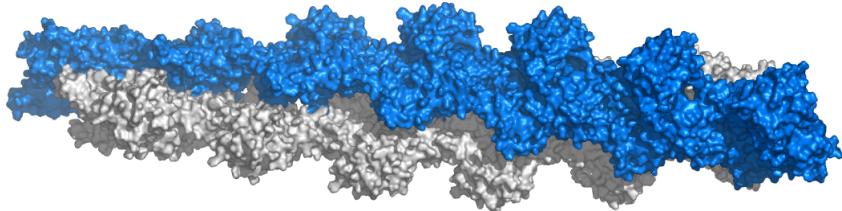


FIGURE 2.2 – Structure d'un filament d'actine basée sur le modèle de Ken Holmes, illustré par Thomas Splettstoesser

### 2.2.1 Le filament

Les filaments d'actine sont très dynamiques, et ont une structure changeante. Ils ont un diamètre de 6nm et une longueur de persistance de l'ordre de la dizaine de microns, donc du même ordre de grandeur que la taille typique cellulaire.

Les monomères d'actine s'associent les unes à la suite des autres, l'extrémité pointue d'un monomère se liant à l'extrémité barbée de l'autre, avec une rotation entre un monomère et l'autre. Le filament est alors polarisé, avec une extrémité pointue notée également - et une extrémité barbée notée +.

Les deux bouts du filaments ont des affinités différentes pour les monomères. En présence d'une grande quantité de monomères disponibles, le filament peut croître par les deux bouts, mais dans une concentration intermédiaire, le filament va croître par ajout de monomères à son extrémité + et décroître par dépolymérisation à l'extrémité -. L'équilibre entre les deux cinétiques de réaction détermine si la taille du filament croît ou non.

Cet équilibre est connu comme le "tapis roulant" de l'actine : lorsque les deux cinétiques sont égales, le filament avance par remplacement des monomères en gardant une longueur constante.

Bien que cet assemblage puisse avoir lieu spontanément en présence d'actine, de nombreuses protéines aident à la nucléation des filaments, à leur stabilité ou à leur déstabilisation.

### 2.2.2 L'équilibre de polymérisation

Des protéines vont réguler toute l'existence d'un filament d'actine : la nucléation, la croissance, la stabilisation et la dissociation.

#### Les nucléateurs

Les dimères et les trimères d'actine sont des structures peu stables, à la durée de vie assez courte. C'est à partir du tétramère que la structure devient suffisamment stable pour créer un nouveau filament d'actine.

Afin de dépasser cette barrière, d'autres protéines jouent le rôle de nucléateurs. Le complexe Arp2/3 (Arp pour Actin Related Protein) est le plus connu

de ces nucléateurs. Il se lie au côté d'un filament et Arp2 et Arp3 miment un dimère d'actine. D'autres monomères peuvent alors se fixer sur cette base et un nouveau filament peut croître. Ce nouveau filament est de plus attaché avec un angle fixé au filament initial, créant un réseau branché.

Les formines se fixent à l'extrémité barbée d'un filament et y ajoutent successivement des monomères d'actine. Les formines peuvent nucléer un nouveau filament en stabilisant un dimère et en y ajoutant d'autres monomères.

### Les élongateurs

Une fois les filaments formés, des facteurs d'élongation comme les formines ou Ena/VASP, peuvent ajouter des monomères liés à la profiline à l'extrémité barbée du filament. Certaines formines avancent le long du filament tout en le construisant à partir de complexes actine-profiline.

### Protéines de coiffage (capping proteins)

Il existe deux sortes de protéines de coiffage : celles qui se lient à l'extrémité barbée et contribuent donc à réduire la polymérisation (comme CapZ, la gelsolin ou la tensine), et celles qui se lient à l'extrémité pointue, empêchant la dépolymérisation (comme la tropomoduline).

### Protéines de fragmentation (severing proteins)

Les protéines de fragmentation découpent et dépolymérisent les filaments d'actine.

La cofilin se lie aux filaments d'actine ADP et entraîne une configuration où la rotation des monomères les uns par rapport aux autres est plus grande. Cela déstabilise les filaments et les casse.

La gelsoline et la famille des villines et la fragmine sont également des facteurs de dépolymérisation des filaments d'actine.

À première vue, on peut voir l'impression que ces protéines vont avoir tendance à diminuer le nombre et la longueur des filaments et participer à la destruction du cytosquelette. Cela peut être le cas, mais pas toujours : la fragmentation d'un long filament en de nombreux filaments courts fait apparaître de nombreuses extrémité barbées là où il n'y en avait qu'une seule. Selon les conditions, en particulier l'activation de facteurs d'élongation et la disponibilité des monomères, la fragmentation peut donc agir en faveur de la polymérisation, en particulier lors du remplacement d'un réseau à longs filaments par un réseau très dense et réticulé.

Les protéines MICAL sont une nouvelle famille de protéines dépolymérisant l'actine, découvertes dans les neurones. En oxydant l'actine des filaments, elle les dépolymérisent. Comme l'actine oxydée ne peut plus former de nouveaux filaments, la destruction du cytosquelette par MICAL ne peut pas promouvoir la croissance du réseau.

## Stabilisateurs des filaments

Les tropomyosines sont des protéines qui vont former également des filaments. Ces filaments vont s'enrouler autour des filaments d'actine et les protéger : ils bloquent l'activité des cofilines et avec la troponine ils promeuvent l'association avec les myosines.

Les nébulines sont des protéines stabilisantes dont le but est de fixer la longueur du filament d'actine auquel elles vont se lier, à la manière d'un étalon de mesure.

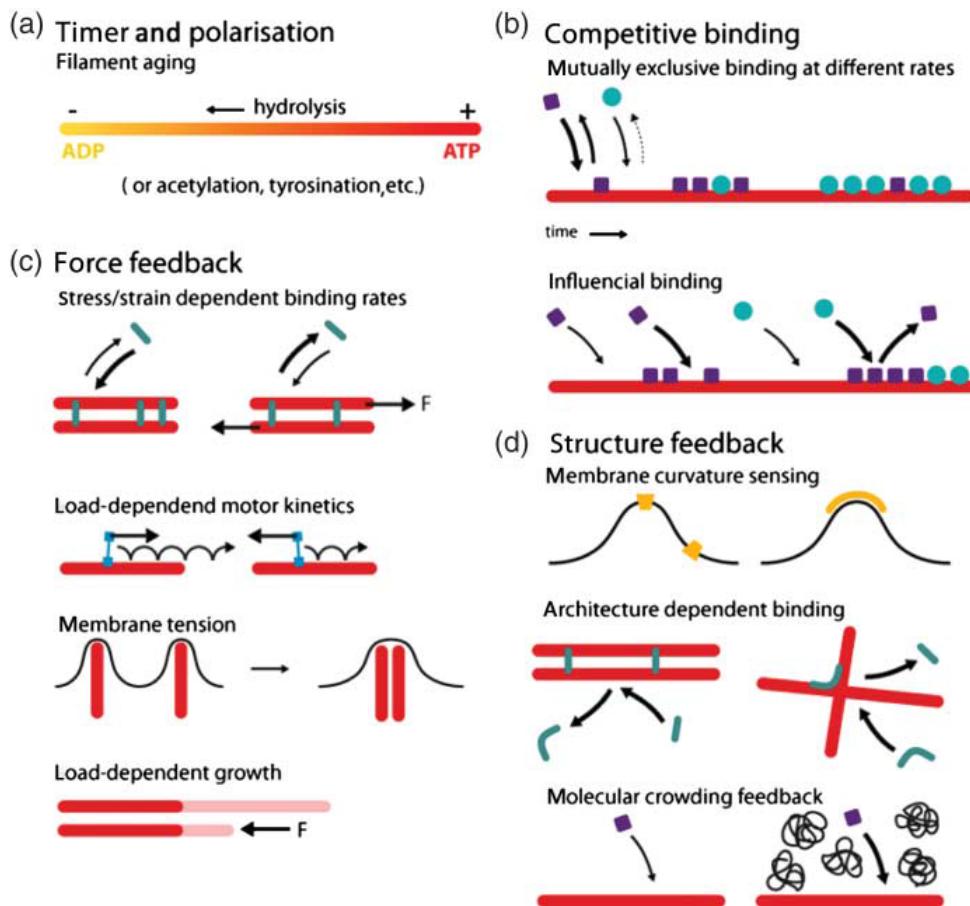


FIGURE 2.3 – •

### 2.2.3 Organisation en réseau de filaments

Les filaments d'actine en évolution permanente sont liés entre eux par des protéines de pontage, liés à la membrane plasmique et liés aux autres filaments

du cytosquelette (microtubules et filaments intermédiaires).

### Ancrage à la membrane

Les cellules sont liées mécaniquement entre elles par les cadhérines qui relient leur réseau d'actine. Les caténines font la liaison entre les cadhérines et les filaments d'actine.

L'ancre du cytosquelette à la matrice extra-cellulaire se fait par l'intermédiaire d'une structure extraordinairement complexe, les adhésions focales. Au niveau des adhésions focales, des dizaines de protéines interagissent entre elles pour relier les intégrines enchaînées dans la membrane et les filaments d'actine. Il serait impossible de faire ici l'inventaire des protéines impliquées dans ces adhésions. À l'intérieur des adhésions focales, une signalisation complexe est à l'œuvre qui permet, en réponse à des forces extérieures, de construire une structure mécanosensible capable de déclencher des cascades de signalisation dans toute la cellule. En particulier, les petites GTPases Rac, Rho et Ras sont activées par les adhésions focales soumises à des signaux mécaniques et régulent l'architecture du cytosquelette.

### Protéines de pontage

Les filaments d'actine sont organisés en réseau par des protéines comme la filamine, la spectrine ou la transgeline.

La filamine est un homodimère qui lie deux filaments d'actine. Elle peut se déformer sous la contrainte, ce qui permet doter le réseau d'actine à la fois d'une élasticité et d'une mécanosensibilité supplémentaire. La filamine peut également se lier à la membrane pour y ancrer le réseau d'actine.

Les tétramères de spectrine s'associent à l'actine pour former un réseau hexagonal soutenant la membrane plasmique.

Lorsque son interaction avec les filaments est forte, l' $\alpha$ -actinine peut lier des filaments en réseaux, alors que lorsque sa vitesse de dissociation est grande elle forme plutôt des faisceaux.

### Protéines de faisceau

Ces protéines permettent de rassembler les filaments d'actine en faisceaux parallèles ou anti-parallèles. Cette architecture est retrouvée dans les filopodes, dans les fibres de stress ou dans les microvillosités.

Il peut y avoir deux domaines de liaison à l'actine sur la même protéine, comme c'est le cas pour la fimbriate, l'écart entre deux filaments est alors faible et le faisceau maintenu serré. Des protéines se liant à l'actine peuvent également former des dimères ou des multimères où chaque sous-unité lie un filament. L' $\alpha$ -actinine permet ainsi de former des fibres de filaments anti-parallèles. La jonction entre les filaments est plus souple et moins serrée.

## Lien avec les autres filaments du cytosquelette

Le cytosquelette d'actine est relié aux réseaux de filaments intermédiaires et aux microtubules par des protéines capables de se lier aux trois types de filaments. Par exemple, la plectine et les nesprines permettent de connecter les microtubules et les filaments d'actine au réseau de lamines de la membrane nucléaire, et donc de transmettre les contraintes jusqu'au noyau. Les WHAMM se lient aux microtubules et à la membrane et nucléent des filaments d'actine.

## Moteurs moléculaires : myosines

Les myosines sont des moteurs moléculaires qui se déplacent sur l'actine en consommant de l'ATP. Il en existe chez tous les eucaryotes, mais leur homologie n'est pas aussi grande que celle de l'actine, car elles ont des fonctions différentes. Dans le génome humain, on dénombre une quarantaine de gènes pour la myosine.

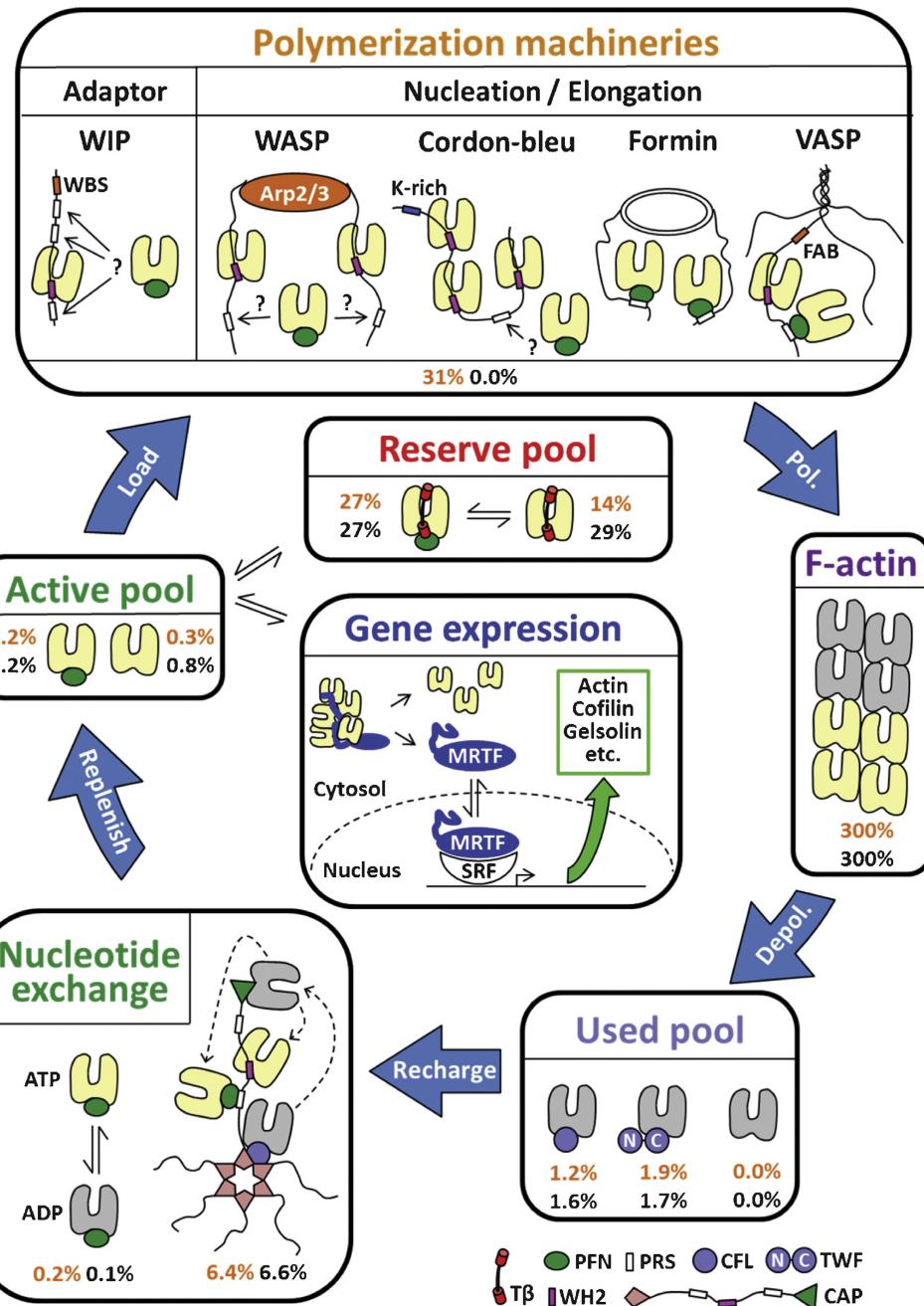
La myosine II, aussi appelée "conventionnelle" est la plus étudiée. Elle est présente en quantité importante dans le muscle, car avec l'actine elle permet la contraction musculaire.

Les myosines ont une tête qui peut se lier à l'actine en filament, un cou qui sert de levier et de régulateur, et une queue qui sert souvent à former un dimère, et éventuellement à se lier à un cargo. On les appelle "chaînes lourdes" par opposition aux "chaînes légères", qui ne sont pas à proprement parler des myosines mais qui sont des protéines qui vont se lier au cou des "chaînes lourdes" pour les réguler.

Par exemple, pour la contraction musculaire, deux chaînes lourdes de myosine II s'associent en dimère par leur queue, et quatre chaînes légères s'ajoutent au niveau des deux cou. Le dimère a alors deux têtes pouvant se lier à l'actine, et va s'en servir comme de deux jambes pour avancer le long du filament. La myosine est une ATPase, lors de l'hydrolyse de l'ATP qui lui est attachée, sa tête va changer de conformation et se détacher de l'actine. L'ADP sera alors libérée, et remplacée par une nouvelle ATP. La tête reprend alors sa conformation initiale, et peu se rattacher au filament. Dans le dimère, chaque tête va faire ainsi un pas successivement et faire avancer le moteur sur le filament en consommant de l'ATP.

Certaines myosines ont un rôle analogue à celui des moteurs moléculaires associés aux microtubules et transportent des molécules le long des filaments, en général en direction de l'extrémité + (seule la myosine VI se déplace en sens inverse).

Les faiseaux anti-parallèles peuvent être liés par des paires de dimères, qui vont marcher en sens opposé sur les deux filaments, et donc les déplacer l'un par rapport à l'autre. Si les deux filaments sont liés par ailleurs dans le réseau, il va être mis sous tension par ces moteurs moléculaires.



## 2.3 Rôle mécanique de l'actine : du filament au cytosquelette

Le cytosquelette est une structure multi-échelle, allant de l'échelle des moteurs moléculaires et des nucléateurs, à l'échelle de la cellule toute entière, en passant par l'échelle des filaments et des réseaux de filaments. Il peut ressentir et exercer des forces à toutes les échelles.

Dans cette partie, il ne s'agit pas de parler des propriétés mécaniques du cytosol ou de la cellule, mais d'expliquer comment les filaments peuvent générer des forces et comment il réagissent à des forces.

### 2.3.1 Mécanique du filament d'actine

Le filament d'actine en lui-même est à la fois générateur et senseur de forces.

#### Longueur de persistance

La longueur de persistance est un moyen de quantifier la corrélation entre l'orientation des différents segments d'un polymère soumis aux fluctuations thermiques. Si l'on considère un polymère de longueur  $L$  auquel on attribue une abscisse curviligne  $s$ , avec  $\vec{t}_s$  la tangente au polymère en  $s$ , alors on a la relation :

$$\langle \vec{t}_0 \cdot \vec{t}_s \rangle_L \propto e^{L/\ell_p}$$

Au bout de quelques longueurs de persistance, l'information de l'orientation du polymère en  $s = 0$  est perdue.

La longueur de persistance dépend de l'énergie thermique disponible pour agiter le filament. Une manière de définir la rigidité d'un polymère indépendamment de la température consiste à définir un module de courbure comme le produit de la longueur de persistance et de l'énergie thermique :

$$\kappa = \ell_p k_B T$$

Le filament d'actine subit un vieillissement par l'hydrolyse de l'ATP des monomères qui le composent. Le changement de conformation induit par l'hydrolyse de l'actine a des conséquences sur les propriétés mécaniques du filament. Un filament d'actine ATP a une longueur de persistance de 15 micromètres, contre 9 micromètres pour un filament d'actine ADP. Le vieillissement du filament le rend donc plus déformable et plus souple. Les protéines attachées au filament peuvent également, en stabilisant une conformation, changer sa rigidité. Un filament stabilisé par la phalloïdine ou par la tropomyosine voit sa longueur de persistance augmentée à 18 et 20 microns respectivement. Au contraire, la conformation stabilisée par la cofilin n'a qu'une longueur de persistance de 2,2 microns.

Un même filament d'actine peut évidemment être le lieu de toutes ces modifications en même temps. Souvent l'extrémité + des filaments est riche en actine ATP alors que l'extrémité - est riche en actine ADP, ce qui crée un filament plus rigide d'un côté et plus flexible de l'autre.

## Couplage traction-torsion

L'hélice que forme le filament peut adopter des conformations différentes, en particulier en ce qui concerne l'angle de rotation entre les monomères successifs. Une force tirant sur le filament va alors favoriser une conformation à faible torsion, ce qui va rendre la fixation de la cofilane, qui stabilise le filament dans une conformation à grande rotation, beaucoup plus difficile. Il en résulte que la cofilane est moins efficace sur les filaments qui sont en tension, induisant une préservation automatique des filaments sous contrainte par rapport aux filaments libres. Au contraire, mDia1 et la profilane sont plus efficaces sur les filaments soumis à une tension. La conformation de l'actine est alors un senseur de contrainte qui va encourager la préservation et l'élongation des filaments qui ressentent une force de traction.

Les filaments d'actine semi-flexibles peuvent également être courbés, en particulier au voisinage de la membrane. À cause de l'organisation hélicoïdale des monomères, la courbure d'un filament d'actine exerce également une torsion sur ce filament, ce qui rend la modélisation des filaments encore plus complexe. Le facteur de nucléation Arp2/3 se lie plus facilement au côté convexe d'un filament d'actine courbé.

## Les myosines

L'action mécanique de la tête de myosine sur le filament d'actine se fait par un changement de conformation à l'échelle de la protéine. La myosine ayant hydrolysé son ATP en ADP + phosphate s'est liée à l'actine. Elle va alors changer de conformation en libérant le phosphate puis l'ADP. Cette dernière étape transforme l'énergie chimique de l'ATP en déplacement mécanique sur le filament d'actine. À l'ajout d'une nouvelle ATP, la myosine se détache.

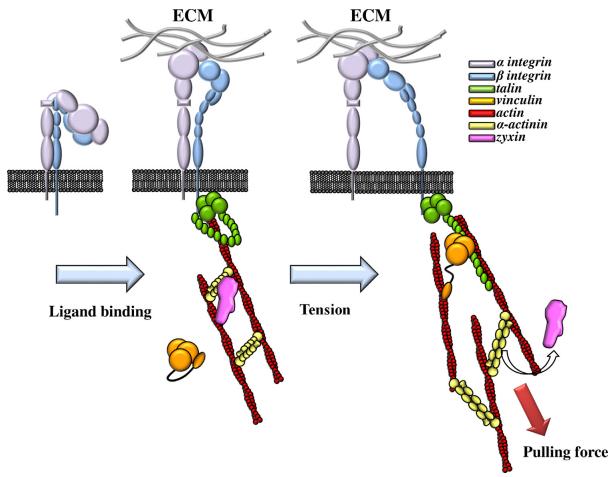
Ces événements sont eux-même dépendant des contraintes qui peuvent être appliqués à la myosine. L'application d'une force de 1,6pN poussant la myosine vers sa conformation finale divise par deux la durée que la myosine va passer attachée au filament en facilitant le changement de conformation. Inversement, l'application de la même force en sens opposé multiplie par deux la durée d'attachement. En fait, la durée que la myosine passe attachée au filament d'actine dépend exponentiellement de la force exercée, dans la gamme -2pN – 2pN.

## La croissance du filament comme source de force

### 2.3.2 Mécanique des adhésions focales

Les sites d'ancre de la cellule dans la matrice extra-cellulaire sont la porte d'entrée des signaux mécaniques dans la cellule. Parmi les molécules qui constituent les adhésions focales, certaines réagissent directement lorsqu'elles sont soumises à des stimulations mécaniques.

Lorsque la transmission des forces est coupée dans la cellule (par l'ajout de drogues qui inhibe la contractilité du cytosquelette), les adhésions focales disparaissent : la tension est nécessaire non seulement à leur constitution, mais



également à leur maintien. Ces contraintes peuvent provenir de forces extérieures mais aussi de la contraction du cytosquelette sous l'action des moteurs moléculaires.

En présence d'une force, les intégrines forment des agrégats et leur affinité pour le ligand augmente grâce à un changement de conformation. La taline relie les intégrines aux filaments d'actine. Dans la conformation initiale, elle est repliée sur elle-même. Lorsqu'elle est mise sous tension entre les intégrines et l'actine, elle se déplie, laissant apparaître des domaines de liaisons à la vinculine qui n'étaient pas précédemment accessibles. La vinculine peut alors recruter d'autres protéines dans les adhésions focales, comme l'α-actinine, qui connecte les filaments d'actine en faisceaux. L'étirement de l'α-actinine change sa configuration et pourrait être à l'origine de la relocalisation de la zyxine en réponse aux contraintes mécaniques.

La filamine, qui lie entre eux des filaments d'actine, peut être dépliée lors de tensions sur les filaments. Son domaine de liaison aux intégrines devient alors accessible, et la filamine ancre alors le cytosquelette à la matrice extra-cellulaire par l'intermédiaire des intégrines. De plus, cela cause un changement de conformation des intégrines qui favorise la formation d'agrégats, renforçant l'adhésion.

Ce ne sont là que quelques exemples de protéines impliquées dans les adhésions focales, il en existe des centaines. Leur exemple montre qu'au premier niveau de contact avec l'environnement mécanique extérieur, les forces sont transmises en signal biologique au niveau de la molécule individuelle, en changeant la conformation des protéines.

### 2.3.3 Mécanique du cytosquelette d'actine

Les protéines organisant les filaments d'actine vont construire des structures à l'échelle de la cellule spécialisées dans l'exploration, le mouvement, le maintien ou le changement de forme ...

Le cytosquelette a principalement été étudié par la motilité sur des surfaces planes et rigides de cellules comme les fibroblastes et les kératocytes. Cependant, d'autres types cellulaires peuvent s'engager dans des mouvements ou des organisations du cytosquelette très différentes. C'est le cas par exemple des cellules du système immunitaire : les lymphocytes T patrouillant dans le système sanguin sont dotées d'un uropode qui leur permet de s'orienter à contre-courant, la phagocytose requiert une réorganisation locale rapide du cytosquelette à l'échelle de la cellule... C'est également le cas des cellules musculaires différenciées en myofibres, qui ont une organisation du cytosquelette extrêmement spécialisée pour la contraction musculaire, et qui seront décrites plus loin.

Si les organisations décrites ici ont été particulièrement étudiées dans le cadre des fibroblastes et des kératocytes, elles font partie des mécanismes de migration de la plupart des cellules.

### Le cortex

La membrane plasmique est soutenue par un réseau d'actine de quelques centaines de nanomètres d'épaisseur appelée le cortex.

Le cortex est constitué d'un mélange entre un réseau ramifié par Arp2/3 et des faisceaux de filaments alignés. Il est attaché à la membrane plasmique par des protéines comme celles de la famille ERM (ezrine, radixin, moesine).

Il contient également des myosines qui mettent le réseau sous tension. Cette tension crée une pression vers l'intérieur de la cellule contrée par la pression osmotique. Lorsque le cortex d'actine est brisé ou détaché de la membrane localement, cette pression interne de la cellule provoque la formation d'un bleb.

Les blebs sont un moyen qu'a la cellule d'explorer l'espace. La protrusion de membrane est alors complétée par un réseau d'actine et des adhésions à partir desquels la cellule va pouvoir se tracter vers l'avant. Ce mode de déplacement a été particulièrement étudié chez les amibes comme *Dictyostelium*.

Le cortex et la membrane sont intimement couplés mécaniquement, au point qu'il est souvent difficile de séparer l'influence mécanique de la tension de la membrane de celle du cortex. En aspirant le cortex dans une micropipette il est possible de tester la résistance mécanique du cortex, et de constater qu'elle dépend de l'activité des myosines.

### Le lamellipode

Le lamellipode est une structure plane à l'avant d'une cellule en mouvement, prenant la plupart du temps une forme en croissant.

Sous la membrane, la GTPase Rac active Arp2/3 par l'intermédiaire du complexe WAVE, formant un réseau ramifié. La croissance des filaments pousse alors le bord de la cellule vers l'avant, en s'appuyant sur les adhésions focales à l'arrière du lamellipode. La croissance du réseau ramifié créé par Arp2/3 est maintenu sous contrôle par les protéines de coiffage qui bloquent l'élongation excessive des filaments.

Le flux rétrograde de l'actine entraîne les filaments vers l'arrière de la cellule où ils sont fragmentés et dépolymérisés. Certains sont assemblés en faisceaux contractiles par les myosines.

À l'arrière de la cellule, le réseau d'actine est détruit et les adhésions disparaissent afin de permettre à la cellule d'avancer.

Le lamellipode est principalement lié aux déplacements sur une surface plane, comme en culture cellulaire ou à la surface d'un épithélium.

### Les filopodes

Les filopodes sont des protrusions constituées d'un faisceau d'actine dont les extrémité + sont pointées vers l'extérieur. La croissance du filopode est principalement liée à celle des filaments du faisceau grâce à l'action des formines ou de Ena/VASP.

Un filopode peut se former à partir de la convergence de filaments provenant d'un réseau branché au bord de la cellule. Des protéines comme la fascine associent alors ces filaments en faisceau rigide, dont la croissance déforme la membrane plasmique.

Les filopodes servent à explorer l'espace, initiant le contact avec d'autres cellules voisines. Certaines bactéries exploitent ce comportement pour être capturées et internalisées par la cellule. Après contact avec la bactérie, le filopode se rétracte rapidement, ramenant la bactérie vers sa cible. La force exercée par un filopode en rétraction peut atteindre 10pN, à des vitesses de l'ordre de 100nm/s.

### Fibres de stress et arcs de traction

Les fibres contractiles sont constituées de faisceaux de filaments anti-parallèles associées à des myosines. Les fibres de stress sont des structures qui apparaissent essentiellement dans les cellules étalées sur un substrat plan, beaucoup plus rarement dans une matrice à trois dimensions.

## 2.4 Rôle régulateur de l'actine nucléaire

L'actine nucléaire est plus difficile à observer que l'actine cytoplasmique, c'est pourquoi son existence et son rôle ont été ignorés pendant longtemps. Aujourd'hui, l'amélioration des techniques de microscopie et le développement de techniques spécifiques (comme des sondes dotées d'un NLS) permettent de confirmer l'existence d'actine nucléaires tant en monomères qu'en filaments. De plus, un grand nombre de protéines liées à l'actine, comme la profiline, la cofilin, Arp2/3, N-WASP, les formines, MICAL et des myosines, sont également présentes dans le noyau, créant toutes les conditions pour qu'un véritable nucléosquelette soit constitué dans la cellule. La profiline et la cofilin aident respectivement à l'export et à l'import des monomères d'actine par les pores nucléaires, jouant ainsi un double rôle de régulation de l'actine nucléaire.

### **2.4.1 L'actine G nucléaire dans les complexes**

80% de l'actine nucléaire est sous forme de monomères. Ces monomères vont d'incorporer dans un grand nombre de complexes indispensables à la transcription de l'ADN en ARN et à la maturation de l'ARN.

Chez les eucaryotes, la transcription de l'ADN en ARN est effectuée par trois ARN Polymérases. Il a été montré que l'actine est nécessaire à l'activité des trois ARN Polymérases. Elle fait partie du complexe pré-initiation de l'ARN Poymérase II qui transcrit les gènes codant pour des protéines en pré-ARN messagers.

L'actine est également liée aux ribonucléoprotéines hétérogènes (hnRNP) présentes sur les pré-ARN messagers pendant et après leur transcription. Les hnRNP empêchent ces ARN messagers qui doivent encore subir des étapes de maturation de se replier sur eux-mêmes (ce qui pourrait interférer avec leur traitement) ou d'être exportés avant d'avoir été traités. Elles peuvent également se lier à la machinerie d'épissage.

Les complexes de remodelage de la chromatine font passer la chromatine d'un état très compact impossible à transcrire à un état où l'expression des gènes devient possible. L'actine fait partie de plusieurs types de complexes de remodelage de la chromatine comme SWI/SNF, RSC et BAF.

L'actine monomérique bloque également l'activité de la DNase I dans le noyau et l'empêche de couper l'ADN en petits morceaux.

### **2.4.2 Les filaments d'actine et la myosine nucléaires**

20% de l'actine nucléaire est présente sous la forme de filaments. Les nucléateurs comme Arp2/3 et les formines sont présents dans le noyau, aux côtés d'elongateurs spécifiques comme l'émerine. Des myosines, comme la Nuclear Myosin 1 (NM1) et la myosine VI sont présentes dans le noyau et ont un rôle essentiel dans la transcription.

L'actine, mais également N-WASP et Arp2/3 sont nécessaires à la transcription efficace par l'ARN Polymérase II. Les drogues empêchant la formation de filaments comme la latrunculine ou la cytochalasine D perturbent la transcription par PolII. La myosine VI s'associe également à PolII.

La NM1 et l'actine se lient à PolII pour la transcription des gènes ribosomaux. La NM1 remodèle localement la chromatine dans une conformation favorable à la transcription.

L'émerine, qui relie des filaments d'actine aux lamines qui enveloppent le noyau, joue un rôle essentiel dans l'organisation de l'hétérochromatine.

Les myosines nucléaires sur le réseau d'actine sont capables de réorganiser les locus de gènes présents sur des chromosomes différents mais partageant un même promoteur. Par exemple, la translocation dans le noyau des récepteurs des hormones stéroïdiennes androgènes et œstrogènes provoque le regroupement des sites des gènes cibles d'une manière active et dépendante de l'activité de l'actine et de la myosine nucléaire 1.

Le noyau contient tous les éléments nécessaires à la formation d'un nucléosquelette mécaniquement fonctionnel : nucléateurs, élongateurs, protéines de pontages et moteurs moléculaires. Ce nucléosquelette est relié au cytosquelette par différentes protéines de la membrane nucléaire qui lient l'actine F, les filaments intermédiaires, les microtubules et les centrosomes. Dans le cas de l'actine, les nesprines et SUN font la liaison entre les filaments d'actine du cytoplasme et les lamines, qui font la liaison avec les filaments nucléaires et la chromatine grâce à l'émerine.

# Chapitre 3

## MRTF-A

En 2001, MERCHER, BUSSON-LE CONIAT et al. 2001 décrivent une translocation impliquée dans les leucémies aigües mégacaryocytiques. Il s'agit de la translocation d'un gène du chromosome 1 sur le chromosome 22, le gène fusion est nommé One-Twenty-Two-Megakaryocytic-Acute-Leukemia (OTT-MAL). Les fonctions des deux gènes qui ont fusionné sont alors inconnues.

En 2002, deux homologues de la myocardine sont identifiés dans le génome humain par D.-Z. WANG et al. 2002 et sont nommés Myocardin-Related Transcription Factor A et B (MRTF-A/B). MRTF-A correspond au gène du chromosome 22 MAL (ou MKL1) et MRTF-B à un gène du chromosome 16 (MAL16 ou MKL2). Un homologue est également découvert chez la souris et nommé Basic, SAP et Coil-coil (BSAC) (SASAZUKI 2002).

Alors que cette protéine sera appelée dans la suite de cette thèse MRTF-A, elle pourra être identifiée indifféremment comme MAL, MKL1 ou BSAC dans la bibliographie.

### 3.1 MRTF-A, cofacteur de Serum Response Factor

La fonction principale des protéines de la famille des myocardines est l'activation du facteur de transcription Serum Response Factor.

#### 3.1.1 Serum Response Factor

Serum Response Factor est un facteur de transcription qui fait partie de la famille MADS (MCM-1, Agamous, Deficiens, SRF). SRF est présent en un seul exemplaire dans le génome humain mais peut être transcrit en 4 isoformes. La protéine SRF comprend un signal de localisation nucléaire (NLS), une boîte MADS composée du site de liaison à l'ADN et d'un domaine de dimérisation, et d'un domaine de transactivation auquel se fixent ses cofacteurs.

Un dimère SRF se fixe sur une séquence consensus de nucléotides sur l'ADN appelée boîte CArG : CC(A/T)<sub>6</sub>GG, ou sur une séquence CArG-like, qui diffère du consensus d'une seule base, avec une affinité plus faible. Le gène srf contenant lui-même deux boîtes CArG, il est sa propre cible, dans une boucle de rétroaction positive.

### 3.1.2 Les cofacteurs de SRF : TCF et MRTF

Serum Response Factor n'est lui-même qu'un transactivateur faible, mais il peut être activé par deux grandes familles de cofacteurs : les Ternary Complex Factors, et les Myocardin-Related Transcription Factors.

Les deux familles ne sont pas concurrentes pour se lier à SRF : la plupart des sites sur l'ADN sont spécifiques de l'une ou l'autre des familles de cofacteurs (ESNAULT et al. 2014). Même lorsque les MRTF sont séquestrées dans le cytoplasme, les TCF ne les remplacent pas sur les sites de liaison à SRF.

Un ChIP-seq sur des fibroblastes 3T3 a estimé que 921 gènes sont susceptibles d'être régulés par MRTF/SRF en réponse au sérum, et 76 gènes par TCF/SRF (ESNAULT et al. 2014), ce qui représente entre 3 et 4% du génome. Les MRTF sont donc un élément important de la régulation transcriptionnelle, et l'acteur principal de la régulation de SRF.

*Les autres cofacteurs de SRF ?*

#### Ternary Complex Factors

Elk1, Net et SAP-1 sont trois coactivateurs de SRF de la même famille, les TCF. Ils possèdent un domaine qui leur permet de se lier à des sites spécifiques sur l'ADN (Ets Binding Sites). Lorsqu'un site Ets et une boîte CArG sont adjacents, ils forment un Serum Response Element (SRE). La formation d'un complexe TCF-SRF sur un SRE déclenche la transcription du gène cible.

Les TCF sont phosphorylées et activées par les MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases).

#### La famille Myocardine

Cette famille de cofacteurs de SRF comprend la myocardine, MRTF-A et MRTF-B.

La myocardine se présente sous deux isoformes, une forme cardiaque et une forme spécifique au muscle lisse. Les deux sont exclusivement localisées dans le noyau et sont constitutivement actives, en raison de motifs RPEL déficients ou incomplets.

Les Myocardin-Related Transcription Factors A et B sont exprimées dans un grand nombre de tissus : muscles cardiaques, lisses et squelettiques, neurones, cellules épithéliales, mégacaryocytes ... Contrairement à la myocardine, les MRTF peuvent être séquestrées dans le cytoplasme, ce qui les empêche d'activer SRF et la transcription. La régulation de la localisation de MRTF est

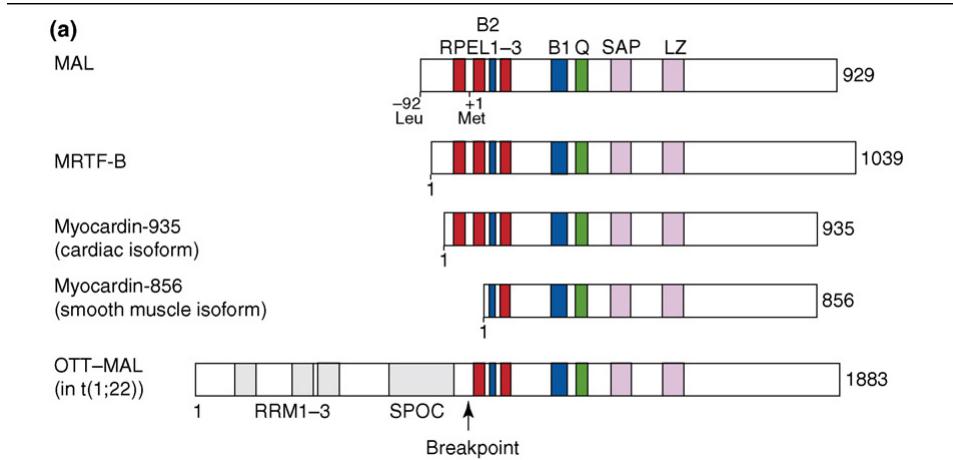


FIGURE 3.1 – La famille de la myocardine d'après POSERN et TREISMAN 2006

assurée par l'actine, qui peut former un complexe avec la partie N-terminale des MRTF.

One-Twenty-Two-Megakaryocytic-Acute-Leukemia (OTT-MAL) est la protéine résultant d'une translocation d'un gène du chromosome 1 à côté du gène MRTF-A. La protéine fusion comprend presque toute la protéine MRTF-A excepté la partie N-terminale.

## 3.2 MRTF-A, indépendamment de SRF

### 3.2.1 Transition épithélio-mésenchymateuse et domaine SAP

L'activation de la transcription de la tenascine C en réponse à une stimulation mécanique et à TGF $\beta$  a été liée à MRTF-A (MAIER et al. 2008). Cependant, cette réponse est indépendante de SRF, ou du domaine liant MRTF-A à SRF (ASPARUHOVA et al. 2011), elle dépend du domaine SAP. S'il est possible que SAP soit capable de lier MRTF-A à l'ADN (ARAVIND et KOONIN 2000), savoir si MRTF-A est capable d'être un facteur de transcription à lui seul, ou s'il a un partenaire facteur de transcription encore inconnu est une question ouverte.

### 3.2.2 NF- $\kappa$ B

NF- $\kappa$ B est un facteur de transcription impliqué dans les voies de signalisation de l'inflammation. MRTF-A et NF- $\kappa$ B peuvent se lier dans le noyau, et s'empêcher l'un l'autre d'activer leurs promoteurs respectifs sur l'ADN (D. WANG et al. 2012). Cette activité dépend uniquement du domaine C-terminal de MRTF-A, où se trouve le domaine TAD. Ainsi l'activation de la voie TNF $\alpha$ /NF- $\kappa$ B peut être empêchée par l'activation de BMP4/MRTF-A et inversement.

### 3.3 Structure de MRTF-A

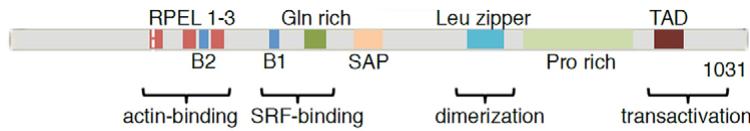


FIGURE 3.2 – Structure de MRTF-A (SCHARENBERG et al. 2014)

#### 3.3.1 Les motifs RPEL

La partie N-terminale de MRTF-A contient trois motifs RPEL consécutifs, qui peuvent se lier aux monomères d'actine (POSERN, MIRALLES et al. 2004, MOUILLERON et al. 2008) avec des affinités variables, les deux premiers motifs se liant plus fortement que le troisième (GUETTLER et al. 2008). La structure détaillée du complexe montre que les trois motifs RPEL se lient à 3 à 5 monomères d'actine selon la concentration en monomères d'actine. (HIRANO et MATSUURA 2011, TREISMAN et al. 2011).

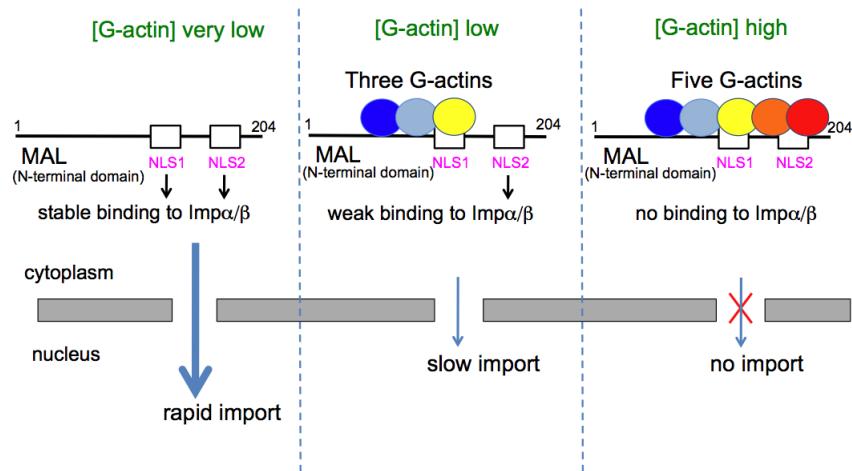


FIGURE 3.3 – D'après HIRANO et MATSUURA 2011

Deux domaines basiques, B2 et B3 sont inclus dans les motifs RPEL et forment un signal de localisation nucléaire (NLS) bipartite (RAJAKYLÄ, Maria K. VARTIAINEN et TREISMAN 2010). Lorsqu'il n'y a pas d'actine sur les motifs RPEL, ce NLS peut se lier au complexe Importine $\alpha/\beta$  (HIRANO et MATSUURA 2011, RAJAKYLÄ, Maria K. VARTIAINEN et TREISMAN 2010) et MRTF-A est importée dans le noyau de la cellule, où se trouve SRF. En présence de suffisamment de monomères, le NLS est recouvert par l'actine liée aux RPEL, MRTF-A

reste cytoplasmique (Posern 2002, MIRALLES et al. 2003, POSERN, MIRALLES et al. 2004).

MRTF-A est exportée du noyau par Crm1 (M. K. VARTAINEN et al. 2007, K. HAYASHI et T. MORITA 2013). Ces deux articles se contredisent sur la question de la liaison à l'actine : le premier prétend qu'elle est indispensable, le second qu'elle empêche l'export.

Les motifs RPEL sont donc la clé de la régulation de MRTF-A par l'actine : selon la concentration en monomères d'actine, MRTF-A est localisée dans le cytoplasme en cas d'excès et dans le noyau, où se trouve SRF, en cas de manque. Lorsque le domaine RPEL est muté ou absent, la protéine est constitutivement nucléaire (MIRALLES et al. 2003), comme la myocardine, dont les motifs RPEL ne sont plus fonctionnels (GUETTLER et al. 2008).

### 3.3.2 La région basique et SRF

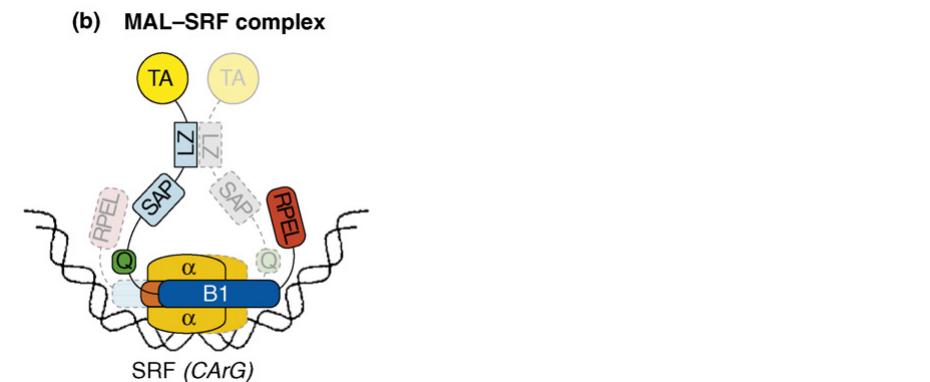


FIGURE 3.4 – D'après POSERN et TREISMAN 2006

La région B1 est le site de liaison de MRTF-A à SRF. MRTF-A s'attache préférentiellement à SRF en dimère (MIRALLES et al. 2003). Le complexe MRTF-A-5actines ne peut pas se lier à SRF et l'activer, la présence de MRTF-A dans le noyau n'est donc pas suffisante pour activer SRF, il faut également que la concentration en G-actine dissocie le complexe (M. K. VARTAINEN et al. 2007).

### 3.3.3 Leucine zipper et oligomérisation

MRTF-A/B peuvent former des homo ou des hétérodimères (MIRALLES et al. 2003). Un dominant négatif pourra ainsi bloquer une protéine WT dans un hétérodimère non fonctionnel (A. SELVARAJ et R. PRYWES 2003, Bo CEN, Ahalya SELVARAJ et Ron PRYWES 2004, Shijie LI et al. 2005, RAJAKYLÄ, Maria K. VARTAINEN et TREISMAN 2010). La formation des dimères n'est pas indispensable à la fonctionnalité de MRTF-A, les mutations dans cette région

réduisent son efficacité sans l'inhiber totalement (A. SELVARAJ et R. PRYWES 2003). OTT-MAL est également capable de former des hétérodimères avec les MRTF, et donc de perturber leur équilibre.

### 3.3.4 SAP

Dans les cellules épithéliales, il a été montré qu'un groupe de gènes est activé par MRTF-A et nécessite particulièrement la zone SAP, tout en étant indépendant de SRF (ASPARUHOVA et al. 2011, GURBUZ et al. 2014).

### 3.3.5 TAD

### 3.3.6 Phosphorylation

MRTF-A peut être phosphorylée (MIRALLES et al. 2003, Bo CEN, Ahalya SELVARAJ et Ron PRYWES 2004). Dans les neurones, la phosphorylation de MRTF-A par ERK1/2 est même la voie principale de régulation de son activité, car la protéine est toujours nucléaire, mais elle n'active SRF qu'une fois phosphorylée (K. KALITA et al. 2006). Il existe donc au moins une voie d'activation de MRTF indépendante de la régulation de l'actine.

### 3.3.7 Isoformes

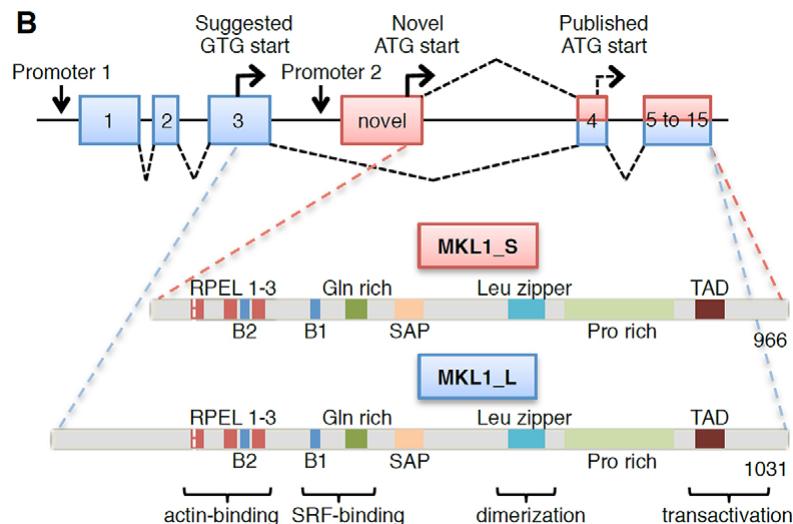


FIGURE 3.5 – D'après SCHARENBERG et al. 2014 : les deux isoformes de MRTF-A

D'après SCHARENBERG et al. 2014, il existe 2 isoformes de MRTF-A chez l'humain, une version longue (MRTF-A\_L) et une courte (MRTF-A\_S). La

version longue présente 80 acides aminés avant le premier motif RPEL, contre 15 seulement pour la version courte. Cette dernière contient deux TAD de 9 acides aminés (9aaTAD), un à l'extrémité C-terminale, et un à l'extrémité N-terminale spécifique à cet isoforme. Une surexpression de MRTF-A\_S est observée en réponse à TGF- $\beta$  ou à une contrainte cyclique dans les cellules épithéliales.

### 3.3.8 Conformations

La conformation de MRTF-A en complexe avec cinq actines est très différente de la conformation de MRTF-A liée à l'importine  $\alpha$  (HIRANO et MATSUURA 2011). Ddx19 est une protéine capable de remodeler des complexes protéine-ARN, dont le rôle principal est de contribuer à l'export des ARN messagers. Des expériences de FRET ont montré que Ddx19 peut également changer la conformation de MRTF-A, la faisant passer d'une configuration repliée à une configuration dépliée qui permet son attachement à l'importine  $\alpha/\beta$  et son import dans le noyau.

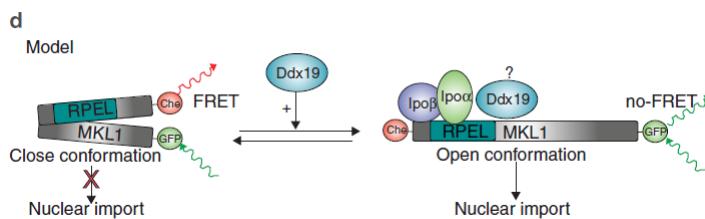


FIGURE 3.6 – Modèle proposé par RAJAKYLÄ, VIITA et al. 2015

## 3.4 En amont de MRTF-A : voie de signalisation et régulation de l'actine

La régulation de l'activité de MRTF-A se fait principalement par sa localisation intracellulaire qui dépend du réservoir d'actine monomérique disponible. Lorsque l'actine G est disponible pour former un complexe pentamérique avec MRTF-A, ce complexe est confiné dans le cytoplasme où il ne peut jouer aucun rôle dans la transcription. Lorsque l'actine G n'est pas disponible, MRTF-A est importée dans le noyau et peut se lier à SRF pour activer la transcription de ses gènes cibles.

L'actine est le point de convergence d'une grande diversité de signaux extracellulaires ou intracellulaires, biochimiques ou mécaniques, qui vont activer ou inhiber MRTF-A et SRF. Ainsi, tout élément qui va perturber la dynamique de l'actine aura des conséquences sur l'activation de MRTF-A : drogues agissant sur l'actine, protéines liées à l'actine (Actin-Binding Proteins, ABP), voies de signalisations, environnement mécanique.

### 3.4.1 Actines mutantes

La surexpression d'actine, même sans changer l'équilibre entre les filaments et les monomères, entraîne l'augmentation des monomères disponibles pour former le complexe avec MRTF-A (MIRALLES et al. 2003, M. K. VARTIAINEN et al. 2007). MRTF-A est alors localisée dans le cytoplasme.

La surexpression d'une actine-NLS (M. K. VARTIAINEN et al. 2007, POSERN, SOTIROPOULOS et TREISMAN 2002) a le même effet. Lorsque l'export est bloqué par la Leptomycine B, MRTF-A est *de facto* bloquée dans le noyau, mais comme elle reste complexée par l'actine, SRF n'est pas activé.

Les mutants non-polymérisables comme R62D ont le même effet que la sur-expression de l'actine, mais en plus efficace (POSERN, SOTIROPOULOS et TREISMAN 2002, MIRALLES et al. 2003, M. K. VARTIAINEN et al. 2007, COLLARD et al. 2014).

Les mutants qui polymérisent mieux ou qui forment des filaments plus stables déclenchent l'accumulation nucléaire de MRTF-A et l'activation de SRF (POSERN, MIRALLES et al. 2004).

### 3.4.2 Drogues agissant sur l'actine

Les drogues agissant sur l'actine sont très souvent utilisées lors des études sur MRTF-A comme contrôles.

La latrunculine B séquestre les monomères d'actine, empêchant leur incorporation dans les filaments. La liaison Latrunculine-Actine est compatible avec l'incorporation dans le complexe avec MRTF-A (MOUILERON et al. 2008). L'ajout de latrunculine B permet donc de conserver l'actine hors des filaments et de la rendre disponible pour former un complexe avec MRTF-A, qui est alors séquéstré dans le cytoplasme et inactif (M. K. VARTIAINEN et al. 2007, ZHAO et al. 2007, SMITH et al. 2013).

La cytochalasine D coiffe les microfilaments d'actine à leur extrémité + et empêche leur polymérisation et leur dépolymérisation. Contrairement à la latrunculine, elle est incompatible avec la formation du complexe car l'organisation de l'actine dans le complexe actines-RPELs est très différente de l'organisation dans les filaments (TREISMAN et al. 2011). Par conséquent, la cytochalasine séquestre l'actine hors de portée à la fois des filaments et de MRTF-A, qui est alors importée dans le noyau et activée. (MIRALLES et al. 2003, M. K. VARTIAINEN et al. 2007, SMITH et al. 2013) Le Swinholid A séquestre des dimères d'actine et fonctionne de manière semblable. (MIRALLES et al. 2003, M. K. VARTIAINEN et al. 2007).

Le Jasplakinolide augmente la polymérisation de l'actine, diminuant la disponibilité de l'actine monomérique et entraînant l'accumulation de MRTF-A dans le noyau (MIRALLES et al. 2003, M. K. VARTIAINEN et al. 2007, SMITH et al. 2013).

### 3.4.3 Actin-Binding Proteins

L'équilibre dynamique de polymérisation de l'actine dans la cellule est régulée par de nombreuses protéines impliquées dans d'encore plus nombreuses voies de signalisation.

De manière générale, les protéines qui vont favoriser la formation ou la stabilité des filaments, comme la profiline, Arp2/3, les formines mDia (CHAN et al. 2010, BAARLINK, H. WANG et GROSSE 2013) ou l'émerine (HO et al. 2013), seront à l'origine d'une accumulation nucléaire de MRTF-A, car elle vont appauvrir les réserves de monomères d'actine.

Lorsque la voie RhoA est activée, la cofiline est phosphorylée, ce qui l'inactive. L'inactivation de la cofiline stabilise les filaments d'actine, et donc l'accumulation nucléaire de MRTF-A (ZHAO et al. 2007).

La thymosine  $\beta$ , comme la latrunculine, séquestre les monomères d'actine avec une stoechiométrie de 1 :1. Mais contrairement à celle-ci, la thymosine  $\beta$  empêche l'intégration des monomères dans le complexe avec MRTF-A. Lors d'une surexpression de T $\beta$ 4, MRTF-A est donc nucléaire et SRF activé (Tsuyoshi MORITA et Ken'ichiro HAYASHI 2013).

### 3.4.4 La voie RhoA

RhoA (Ras homolog gene family, member A) est une protéine de la famille des petites GTPases dont le rôle est de réguler le cytosquelette d'actine. Ce rôle fait de RhoA une voie de signalisation importante pour MRTF-A.

RhoA a deux cibles principales : ROCK (Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase 1) et les formines mDia (mammalian Diaphanous). La phosphorylation de ROCK entraîne la phosphorylation de LIMK (LIM domain kinase) qui désactive la cofiline. L'activation des formines et le blocage de la cofiline concourent à la formation de filaments d'actine plus longs et plus nombreux et à la réduction des réserves de monomères d'actine.

La voie RhoA peut être activée par un grand nombre de signaux biochimiques ou mécaniques. ILK (Integrin Linked Kinase) associée à une stimulation mécanique (MAIER et al. 2008), les androgènes (SCHMIDT et al. 2012), la thrombopoïétine (SMITH et al. 2013), le sérum (SOTIROPOULOS et al. 1999) et les hormones du rythme circadien (GERBER et al. 2013) activent la voie de signalisation RhoA/actine/MRTF-A/SRF. Une déformation mécanique constante (ALBINSSON 2004, ZHAO et al. 2007, CHAN et al. 2010) ou cyclique (KUWAHARA et al. 2010), un substrat dur (HUANG et al. 2012) sont des signaux mécaniques qui vont également activer la voie RhoA.

### 3.4.5 Un cas particulier : MICAL2

La signalisation par MRTF-A/B est importante pour le développement des neurones (Katarzyna KALITA, KUZNIEWSKA et KACZMAREK 2012), cependant contrairement aux fibroblastes et aux myoblastes, les neurones font l'expérience de contraintes et de réorganisation du cytosquelette beaucoup plus limités. Il

n'y a que rarement formation de fibres de stress dans les neurones par exemple. La polymérisation d'actine dans ces cellules n'est pas suffisante pour déclencher la voie MRTF-A de la même manière que dans d'autres types cellulaires.

Les protéines de la famille MICAL sont capables d'oxyder la méthionine 44 de l'actine, ce qui l'empêche de faire partie d'un filament. Cette oxydation peut avoir lieu sur l'actine déjà recrutée dans un filament, causant sa dépolymérisation (HUNG, PAK et TERMAN 2011). L'actine oxydée est également sélectivement exportée du noyau, une actine mutante M44Q constitutivement oxydée est confinée dans le cytoplasme (LUNDQUIST et al. 2014).

MICAL2 est un membre de cette famille particulièrement présent dans le noyau, où il peut contrôler la dépolymérisation de l'actine nucléaire. L'expression d'un mutant dominant négatif de MICAL2 cause l'apparition de longs filaments d'actine dans le noyau, car son activité de dépolymérisation des filaments est interrompue (LUNDQUIST et al. 2014).

L'activation de MICAL2 ou sa surexpression entraîne ainsi paradoxalement une accumulation nucléaire de MRTF-A : l'actine du noyau est oxydée, dépolymérisée puis expulsée du noyau, réduisant ainsi la réserve globale d'actine disponible dans le noyau (LUNDQUIST et al. 2014).

Lorsque une atrophie musculaire est causée par la dénervation, MICAL2 est sous-exprimée dans les fibres musculaires, ce qui participe au maintien de concentrations importantes d'actine monomérique dans le noyau et donc à l'exclusion de MRTF-A (COLLARD et al. 2014).

MICAL2 est donc une voie d'activation de MRTF-A indépendante de RhoA, et donc l'activité se concentre sur le réservoir d'actine nucléaire de la cellule.

## 3.5 Rôles de MRTF-A

Depuis sa découverte au début des années 2000, de nombreux rôles de MRTF-A ont été mis en évidence dans des types cellulaires et dans des tissus très divers.

### 3.5.1 Embryogenèse

Les MRTF sont exprimées dès le jour 10 du développement de l'embryon (D.-Z. WANG et al. 2002), dans tous les tissus. La délétion de MRTF-B entraîne l'échec de la gastrulation, et donc une fin précoce de l'embryogenèse (Katarzyna KALITA, KUZNIEWSKA et KACZMAREK 2012). Au contraire, 60% des mutants MRTF-A<sup>-/-</sup> sont viables et atteignent l'âge adulte, les autres étant perdus pendant l'embryogenèse car souffrant de défauts cardiaques. Les mutants survivants sont dépourvus de ces anomalies cardiaques, et vivent jusqu'à l'âge adulte (S. LI et al. 2006, SUN et al. 2006). Cependant, les femelles souffrent d'un défaut de formation de la glande mammaire, lié à une apoptose précoce des cellules myoépithéliales qui déclenchent l'éjection du lait. Il apparaît donc que chez la souris, tandis que MRTF-B est indispensable à l'embryogenèse, l'absence de MRTF-A peut être compensée dans la plus grande partie des tissus. Les souris possédant un gène mutant dominant négatif de MRTF-A sont en revanche de plus petite

taille, ne bougent pas et ne survivent que quelques jours, principalement à cause des défauts de musculature de leur diaphragme (Shijie LI et al. 2005).

### 3.5.2 Régulation de la masse musculaire

Serum Response Factor a pour gènes cibles un grand nombre de gènes liés au cytosquelette et à la différenciation musculaire.

Lorsque SRF est désactivé dans le muscle squelettique de souris adulte (souris HSA-Cre-ER<sup>T2</sup> :srf<sup>flox/flox</sup>), l'hypertrophie compensatoire de ses muscles est bloquée (GUERCI et al. 2012). Les cellules satellites sont moins nombreuses, et ne fusionnent pas avec les fibres musculaires. Au contraire, un SRF constitutivement actif protège de l'atrophie liée à une immobilisation ou à une dénervation. Suite à une dénervation, MRTF-A est exclue des noyaux des fibres musculaires, et donc incapable d'activer SRF. Une MRTF-A constitutivement nucléaire protège contre l'atrophie induite par la dénervation (COLLARD et al. 2014). C'est donc la régulation de la localisation de MRTF-A dans les fibres musculaires qui régule l'activité de SRF et l'atrophie ou l'hypertrophie en réponse aux contraintes mécaniques.

Dans les myoblastes murins C2C12, un dominant négatif MRTF-B, capable d'interférer avec l'activité des deux MRTF, bloque la différenciation musculaire en myotubes et diminue leur taux de duplication (A. SELVARAJ et R. PRYWES 2003, B. CEN et al. 2003). Les souris DN-MRTF-A montrent d'ailleurs un phénotype myopathique.

### 3.5.3 Transition épithéliale-mésenchymale

La transition épithélio-mésenchymateuse est le processus par lequel des cellules, sous l'influence de signaux extérieurs, vont perdre leur type épithéial (expression de l'E-cadherine, polarisation, organisation en monocouche jointive ...) et acquérir un phénotype mésenchymal (expression de N-cadherine, motilité plus importante, fabrication de matrice extra-cellulaire ...). Plusieurs marqueurs de l'EMT, comme la vimentine ou l'actine du muscle lisse  $\alpha$ Smooth Muscle Actin sont des cibles de SRF.

La conjonction d'un signal biochimique, TGF  $\beta$  (Transforming Growth Factor), et d'un signal mécanique déclenche l'activation de la voie de signalisation RhoA/actine/MRTF-A/SRF. Les signaux mécaniques déclencheurs peuvent être très divers, locaux ou globaux, cycliques ou statiques : membranes étirées cycliquement (MAIER et al. 2008), îlots de fibronectine (GOMEZ et al. 2010, CONNELLY et al. 2010), gels de polyacrylamides de différentes rigidités (HUANG et al. 2012), microbilles magnétiques recouvertes de collagène (CHAN et al. 2010).

Des anomalies dans la transition épithélio-mésenchymateuse ont été liées aux fibroses pulmonaires et hépatiques.

### 3.5.4 Différenciation des mégacaryocytes

Les souris MRTF-A KO ont une genèse anormale des mégacaryocytes, les cellules de la moelle osseuse qui sont à l'origine des plaquettes. Les gènes contrôlant la différenciation de ces cellules sont sous le contrôle de SRF. La thrombopoïétine active la voie RhoA/MRTF-A/SRF.

### 3.5.5 Rythme circadien

Les plantes, les animaux et même certains organismes unicellulaires possèdent une horloge biologique d'environ 24h, calquée sur l'alternance jour/nuit. Un certain nombre de processus biologiques dépendent des hormones produites par cette horloge dans le cerveau et propagées dans le sang vers l'ensemble des organes, comme le rythme veille/sommeil, la température corporelle, le péristaltisme de l'intestin, la sécrétion des hormones de croissance ...

SRF fait partie des facteurs de transcription dont la régulation est sensible au rythme circadien et contient dans ses cibles un certain nombre de gènes régulant le rythme circadien (ESNAULT et al. 2014). Une stimulation par ajout de sérum permet de réinitialiser l'horloge biologique.

Dans le foie de rats et de souris, la polymérisation de l'actine est maximale au lever du jour (fin de période d'activité pour les rongeurs nocturnes) et minimale au crépuscule (GERBER et al. 2013). De manière synchronisée, les MRTF sont nucléaires et SRF est activé au lever du jour, et les MRTF sont cytoplasmiques et SRF désactivé au coucher du soleil. Le niveau d'expression de l'actine et de MRTF ne varie pas au cours de la journée. Chez l'humain, espèce diurne, ce rythme est inversé mais également présent.

### 3.5.6 MRTF-A et cancers

Le rôle de MRTF-A dans l'invasion, les métastases et la prolifération cancéreuse est complexe. Dans l'exemple du cancer du sein, on a attribué à MRTF-A un rôle antiprolifératif en tant que facteur de transcription de l'Eplin $\alpha$  (Epithelial protein lost in Neoplasm), protéine qui est inversement corrélée avec la mortalité et l'invasion cancéreuse (Laura LEITNER et al. 2010). Cependant, dans les cancers du sein sensibles aux œstrogènes, l'activation de MRTF-A favorise la transition vers un type insensible au contrôle hormonal (KERDIVEL et al. 2014) et MRTF et SRF sont nécessaires à l'adhésion, à la motilité et à l'invasion dans des lignées issues de cancers du sein et de mélanomes (MEDJKANE et al. 2009). Les gènes contrôlés par MRTF-A indépendamment de SRF semblent être liés à un mauvais pronostic (GURBUZ et al. 2014).

L. LEITNER et al. 2011 montre bien le rôle complexe que peut avoir la régulation d'un élément du cytosquelette dans différents contextes : MRTF-A augmente l'adhésion dans deux types cellulaires, des cellules épithéliales non-invasives et des cellules tumorales de cancer du sein, mais l'effet sur la motilité est opposé dans les deux types. Dans les cellules mammaires épithéliales, l'augmentation de l'adhésion causée par la surexpression de MRTF-A cloue les

cellules sur place : l'adhésion est trop forte et les cellules ne sont plus capables de se détacher pour avancer. Inversement, l'adhésion était le facteur limitant dans les cellules tumorales. Avec la surexpression de MRTF-A, elles adhèrent mieux et se déplacent plus efficacement.

L'activation de la voie RhoA/MRTF/SRF est liée à l'agressivité des tumeurs de la prostate (SCHMIDT et al. 2012), et une mutation du premier intron de MRTF-A a été identifiée dans des triplets homozygotes dont deux ont développé un lymphome de Hodgkin (BJORKHOLM et al. 2013), sans qu'un lien précis soit établi.

### Le cas particulier d'OTT-MAL

OTT-MAL est une protéine issue de la fusion d'un gène du chromosome 1 également nommé RBM15, qui régule le facteur de transcription RBPJ (recombination signal binding protein for immunoglobulin  $\kappa$  J region), et MRTF-A sur le chromosome 22, qui régule SRF. La présence de cette mutation a été reliée à des leucémies à mégacaryoblastes (MERCHER, BUSSON-LE CONIAT et al. 2001). La protéine fusion est toujours localisée dans le noyau et active SRF (DESCOT et al. 2008), elle peut former des hétérodimères avec MRTF-A et donc interférer avec les protéines saines. Mais c'est l'activation de RBPJ qui est déterminante pour ses propriétés oncogènes dans les mégacaryocytes (MERCHER, RAFFEL et al. 2009).

### 3.5.7 Réorganisation de la chromatine

En plus de son rôle de régulateur de la transcription des cibles de SRF, plusieurs effets de MRTF-A sur l'organisation de la chromatine ont été mis en évidence. L'activation de MRTF-A et de différents mutants montre une augmentation de l'accétylation de l'histone H3, de la quantité d'euchromatine et de l'activité transcriptionnelle (FLOURIOT et al. 2014). Cette fonction de MRTF-A nécessite son domaine C-terminal. Les fibroblastes 3T3 cultivés sur des motifs de grande taille montrent une plus grande quantité de MRTF-A dans le noyau, associée à une histone déacétylase HDAC3 séquestrée dans le cytoplasme et une plus grande activité transcriptionnelle (JAIN et al. 2013).

L'histone méthyltransférase SMYD3 coopère avec MRTF-A, sans interaction direct, pour réguler la transcription du gène MYL9 codant pour la Myosin Light Chain (LUO et al. 2014).

# Bibliographie

- ALBINSSON, S. (2004). "Stretch of the Vascular Wall Induces Smooth Muscle Differentiation by Promoting Actin Polymerization". In : *Journal of Biological Chemistry* 279.33, p. 34849–34855. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : [10.1074/jbc.M403370200](https://doi.org/10.1074/jbc.M403370200). URL : <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M403370200> (visité le 18/11/2013).
- ARAVIND, L. et Eugene V. KOONIN (2000). "SAP—a putative DNA-binding motif involved in chromosomal organization". In : *Trends in biochemical sciences* 25.3, p. 112–114. URL : [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968000499015376/pdf?md5=cedcee99ed900d2aba307d80468151a5&pid=1-s2.0-S0968000499015376-main.pdf&\\_valck=1](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968000499015376/pdf?md5=cedcee99ed900d2aba307d80468151a5&pid=1-s2.0-S0968000499015376-main.pdf&_valck=1) (visité le 05/02/2015).
- ASPARUHOVA, M. B. et al. (2011). "The transcriptional regulator megakaryoblastic leukemia-1 mediates serum response factor-independent activation of tenascin-C transcription by mechanical stress". In : *The FASEB Journal* 25.10, p. 3477–3488. ISSN : 0892-6638, 1530-6860. DOI : [10.1096/fj.11-187310](https://doi.org/10.1096/fj.11-187310). URL : <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.11-187310> (visité le 23/01/2015).
- BAARLINK, C., H. WANG et R. GROSSE (2013). "Nuclear Actin Network Assembly by Formins Regulates the SRF Coactivator MAL". In : *Science* 340.6134, p. 864–867. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : [10.1126/science.1235038](https://doi.org/10.1126/science.1235038). URL : <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1235038> (visité le 21/10/2013).
- BJORKHOLM, M. et al. (2013). "Development of Hodgkin lymphoma in homozygotic triplets with constitutional deletion in MKL1". In : *Blood* 121.23, p. 4807–4807. ISSN : 0006-4971, 1528-0020. DOI : [10.1182/blood-2013-02-469031](https://doi.org/10.1182/blood-2013-02-469031). URL : <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2013-02-469031> (visité le 11/12/2014).
- CEN, Bo, Ahalya SELVARAJ et Ron PRYWES (2004). "Myocardin/MKL family of SRF coactivators : Key regulators of immediate early and muscle specific gene expression". In : *Journal of Cellular Biochemistry* 93.1, p. 74–82. ISSN : 0730-2312, 1097-4644. DOI : [10.1002/jcb.20199](https://doi.org/10.1002/jcb.20199). URL : <http://doi.wiley.com/10.1002/jcb.20199> (visité le 12/12/2014).
- CEN, B. et al. (2003). "Megakaryoblastic Leukemia 1, a Potent Transcriptional Coactivator for Serum Response Factor (SRF), Is Required for Serum Induction of SRF Target Genes". In : *Molecular and Cellular Biology* 23.18,

- p. 6597–6608. ISSN : 0270-7306. DOI : [10.1128/MCB.23.18.6597-6608.2003](https://doi.org/10.1128/MCB.23.18.6597-6608.2003). URL : <http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.23.18.6597-6608.2003> (visité le 11/12/2014).
- CHAN, M. W. C. et al. (2010). “Force-induced Myofibroblast Differentiation through Collagen Receptors Is Dependent on Mammalian Diaphanous (mDia)”. In : *Journal of Biological Chemistry* 285.12, p. 9273–9281. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : [10.1074/jbc.M109.075218](https://doi.org/10.1074/jbc.M109.075218). URL : <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M109.075218> (visité le 21/10/2013).
- COLLARD, L. et al. (2014). “Nuclear actin and myocardin-related transcription factors control disuse muscle atrophy through regulation of Srf activity”. In : *Journal of Cell Science* 127.24, p. 5157–5163. ISSN : 0021-9533, 1477-9137. DOI : [10.1242/jcs.155911](https://doi.org/10.1242/jcs.155911). URL : <http://jcs.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jcs.155911> (visité le 16/01/2015).
- CONNELLY, John T. et al. (2010). “Actin and serum response factor transduce physical cues from the microenvironment to regulate epidermal stem cell fate decisions”. In : *nature cell biology* 12.7, p. 711–718. URL : <http://www.nature.com/ncb/journal/vaop/ncurrent/full/ncb2074.html> (visité le 21/10/2013).
- DESCOT, A. et al. (2008). “OTT-MAL Is a Deregulated Activator of Serum Response Factor-Dependent Gene Expression”. In : *Molecular and Cellular Biology* 28.20, p. 6171–6181. ISSN : 0270-7306. DOI : [10.1128/MCB.00303-08](https://doi.org/10.1128/MCB.00303-08). URL : <http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.00303-08> (visité le 21/01/2015).
- ESNAULT, C. et al. (2014). “Rho-actin signaling to the MRTF coactivators dominates the immediate transcriptional response to serum in fibroblasts”. In : *Genes & Development* 28.9, p. 943–958. ISSN : 0890-9369. DOI : [10.1101/gad.239327.114](https://doi.org/10.1101/gad.239327.114). URL : <http://genesdev.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gad.239327.114> (visité le 13/01/2015).
- FLOURIOT, Gilles et al. (2014). “The actin/MKL1 signalling pathway influences cell growth and gene expression through large-scale chromatin reorganization and histone post-translational modifications”. In : *Biochemical Journal* 461.2, p. 257–268. ISSN : 0264-6021, 1470-8728. DOI : [10.1042/BJ20131240](https://doi.org/10.1042/BJ20131240). URL : <http://www.biochemj.org/bj/461/bj4610257.htm> (visité le 05/02/2015).
- GERBER, Alan et al. (2013). “Blood-Borne Circadian Signal Stimulates Daily Oscillations in Actin Dynamics and SRF Activity”. In : *Cell* 152.3, p. 492–503. ISSN : 00928674. DOI : [10.1016/j.cell.2012.12.027](https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.12.027). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867412015498> (visité le 21/10/2013).
- GOMEZ, Esther W. et al. (2010). “Tissue geometry patterns epithelial-mesenchymal transition via intercellular mechanotransduction”. In : *Journal of Cellular Biochemistry*, n/a–n/a. ISSN : 07302312, 10974644. DOI : [10.1002/jcb.22545](https://doi.org/10.1002/jcb.22545). URL : <http://doi.wiley.com/10.1002/jcb.22545> (visité le 03/03/2014).
- GUERCI, Aline et al. (2012). “Srf-Dependent Paracrine Signals Produced by Myofibers Control Satellite Cell-Mediated Skeletal Muscle Hypertrophy”. In :

- Cell Metabolism* 15.1, p. 25–37. ISSN : 15504131. DOI : [10.1016/j.cmet.2011.12.001](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.12.001). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413111004591> (visité le 10/12/2014).
- GUETTLER, S. et al. (2008). “RPEL Motifs Link the Serum Response Factor Cofactor MAL but Not Myocardin to Rho Signaling via Actin Binding”. In : *Molecular and Cellular Biology* 28.2, p. 732–742. ISSN : 0270-7306. DOI : [10.1128/MCB.01623-07](https://doi.org/10.1128/MCB.01623-07). URL : <http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.01623-07> (visité le 17/12/2014).
- GURBUZ, Irem et al. (2014). “SAP domain-dependent Mkl1 signaling stimulates proliferation and cell migration by induction of a distinct gene set indicative of poor prognosis in breast cancer patients”. In : *Molecular cancer* 13.1, p. 22. URL : <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1476-4598-13-22.pdf> (visité le 11/12/2014).
- HAYASHI, K. et T. MORITA (2013). “Differences in the Nuclear Export Mechanism between Myocardin and Myocardin-related Transcription Factor A”. In : *Journal of Biological Chemistry* 288.8, p. 5743–5755. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : [10.1074/jbc.M112.408120](https://doi.org/10.1074/jbc.M112.408120). URL : <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M112.408120> (visité le 30/01/2015).
- HIRANO, Hidemi et Yoshiyuki MATSUURA (2011). “Sensing actin dynamics : Structural basis for G-actin-sensitive nuclear import of MAL”. In : *Biochemical and Biophysical Research Communications* 414.2, p. 373–378. ISSN : 0006291X. DOI : [10.1016/j.bbrc.2011.09.079](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.079). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X11016834> (visité le 21/10/2013).
- HO, Chin Yee et al. (2013). “Lamin A/C and emerin regulate MKL1-SRF activity by modulating actin dynamics”. In : *Nature* 497.7450, p. 507–511. ISSN : 0028-0836, 1476-4687. DOI : [10.1038/nature12105](https://doi.org/10.1038/nature12105). URL : <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature12105> (visité le 21/01/2015).
- HUANG, Xiangwei et al. (2012). “Matrix Stiffness-Induced Myofibroblast Differentiation Is Mediated by Intrinsic Mechanotransduction”. In : *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 47.3, p. 340–348. ISSN : 1044-1549, 1535-4989. DOI : [10.1165/rcmb.2012-00500C](https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-00500C). URL : <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1165/rcmb.2012-00500C> (visité le 21/10/2013).
- HUNG, R.-J., C. W. PAK et J. R. TERMAN (2011). “Direct Redox Regulation of F-Actin Assembly and Disassembly by Mical”. In : *Science* 334.6063, p. 1710–1713. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : [10.1126/science.1211956](https://doi.org/10.1126/science.1211956). URL : <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1211956> (visité le 26/05/2014).
- JAIN, Nikhil et al. (2013). “Cell geometric constraints induce modular gene-expression patterns via redistribution of HDAC3 regulated by actomyosin contractility”. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.28, p. 11349–11354. URL : <http://www.pnas.org/content/110/28/11349.short> (visité le 21/10/2013).
- KALITA, Katarzyna, Bozena KUZNIEWSKA et Leszek KACZMAREK (2012). “MKLs : Co-factors of serum response factor (SRF) in neuronal responses”. In : *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 44.9, p. 1444–1447.

- ISSN : 13572725. DOI : [10.1016/j.biocel.2012.05.008](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.05.008). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272512001744> (visité le 21/10/2013).
- KALITA, K. et al. (2006). "Role of Megakaryoblastic Acute Leukemia-1 in ERK1/2-Dependent Stimulation of Serum Response Factor-Driven Transcription by BDNF or Increased Synaptic Activity". In : *Journal of Neuroscience* 26.39, p. 10020–10032. ISSN : 0270-6474, 1529-2401. DOI : [10.1523/JNEUROSCI.2644-06.2006](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2644-06.2006). URL : <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.2644-06.2006> (visité le 02/02/2015).
- KERDIVEL, Gwenneg et al. (2014). "Activation of the MKL1/actin signaling pathway induces hormonal escape in estrogen-responsive breast cancer cell lines". In : *Molecular and Cellular Endocrinology* 390.1, p. 34–44. ISSN : 03037207. DOI : [10.1016/j.mce.2014.03.009](https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.03.009). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720714001014> (visité le 11/12/2014).
- KUWAHARA, K. et al. (2010). "Myocardin-Related Transcription Factor A Is a Common Mediator of Mechanical Stress- and Neurohumoral Stimulation-Induced Cardiac Hypertrophic Signaling Leading to Activation of Brain Natriuretic Peptide Gene Expression". In : *Molecular and Cellular Biology* 30.17, p. 4134–4148. ISSN : 0270-7306. DOI : [10.1128/MCB.00154-10](https://doi.org/10.1128/MCB.00154-10). URL : <http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.00154-10> (visité le 21/10/2013).
- LEITNER, Laura et al. (2010). "Epithelial Protein Lost in Neoplasm a (Eplin-a) is transcriptionally regulated by G-actin and MAL/MRTF coactivators". In : URL : <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1476-4598-9-60.pdf> (visité le 09/02/2015).
- LEITNER, L. et al. (2011). "MAL/MRTF-A controls migration of non-invasive cells by upregulation of cytoskeleton-associated proteins". In : *Journal of Cell Science* 124.24, p. 4318–4331. ISSN : 0021-9533, 1477-9137. DOI : [10.1242/jcs.092791](https://doi.org/10.1242/jcs.092791). URL : <http://jcs.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jcs.092791> (visité le 10/12/2014).
- Li, Shijie et al. (2005). "Requirement for serum response factor for skeletal muscle growth and maturation revealed by tissue-specific gene deletion in mice". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102.4, p. 1082–1087. URL : <http://www.pnas.org/content/102/4/1082.short> (visité le 11/12/2014).
- LI, S. et al. (2006). "Requirement of a Myocardin-Related Transcription Factor for Development of Mammary Myoepithelial Cells". In : *Molecular and Cellular Biology* 26.15, p. 5797–5808. ISSN : 0270-7306. DOI : [10.1128/MCB.00211-06](https://doi.org/10.1128/MCB.00211-06). URL : <http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.00211-06> (visité le 17/12/2014).
- LUNDQUIST, Mark R. et al. (2014). "Redox Modification of Nuclear Actin by MICAL-2 Regulates SRF Signaling". In : *Cell* 156.3, p. 563–576. ISSN : 00928674. DOI : [10.1016/j.cell.2013.12.035](https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.035). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867413016048> (visité le 22/05/2014).
- LUO, Xue-Gang et al. (2014). "Histone methyltransferase SMYD3 promotes MRTF-A-mediated transactivation of MYL9 and migration of MCF-7 breast

- cancer cells". In : *Cancer Letters* 344.1, p. 129–137. ISSN : 03043835. DOI : [10.1016/j.canlet.2013.10.026](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.10.026). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383513007556> (visité le 31/10/2014).
- MAIER, Silke et al. (2008). "Tenascin-C induction by cyclic strain requires integrin-linked kinase". In : *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1783.6, p. 1150–1162. ISSN : 01674889. DOI : [10.1016/j.bbamcr.2008.01.013](https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.01.013). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488908000335> (visité le 12/01/2015).
- MEDJKANE, Souhila et al. (2009). "Myocardin-related transcription factors and SRF are required for cytoskeletal dynamics and experimental metastasis". In : *Nature Cell Biology* 11.3, p. 257–268. ISSN : 1465-7392, 1476-4679. DOI : [10.1038/ncb1833](https://doi.org/10.1038/ncb1833). URL : <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ncb1833> (visité le 09/02/2015).
- MERCHER, Thomas, Maryvonne BUSSON-LE CONIAT et al. (2001). "Involvement of a human gene related to the Drosophila spen gene in the recurrent t (1 ; 22) translocation of acute megakaryocytic leukemia". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98.10, p. 5776–5779. URL : <http://www.pnas.org/content/98/10/5776.short> (visité le 12/12/2014).
- MERCHER, Thomas, Glen D. RAFFEL et al. (2009). "The OTT-MAL fusion oncogene activates RBPJ-mediated transcription and induces acute megakaryoblastic leukemia in a knockin mouse model". In : *Journal of Clinical Investigation*. ISSN : 0021-9738. DOI : [10.1172/JCI35901](https://doi.org/10.1172/JCI35901). URL : <http://www.jci.org/articles/view/35901> (visité le 21/01/2015).
- MIRALLES, Francesc et al. (2003). "Actin dynamics control SRF activity by regulation of its coactivator MAL". In : *Cell* 113.3, p. 329–342. URL : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867403002782> (visité le 21/10/2013).
- MORITA, Tsuyoshi et Ken'ichiro HAYASHI (2013). "G-actin sequestering protein thymosin- $\beta$ 4 regulates the activity of myocardin-related transcription factor". In : *Biochemical and Biophysical Research Communications* 437.3, p. 331–335. ISSN : 0006291X. DOI : [10.1016/j.bbrc.2013.06.069](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.06.069). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X1301067X> (visité le 23/05/2014).
- MOUILLERON, Stephane et al. (2008). "Molecular basis for G-actin binding to RPEL motifs from the serum response factor coactivator MAL". In : *The EMBO journal* 27.23, p. 3198–3208. URL : <http://www.nature.com/emboj/journal/vaop/ncurrent/full/emboj2008235a.html> (visité le 21/10/2013).
- OTTERBEIN, L. R. (2001). "The Crystal Structure of Uncomplexed Actin in the ADP State". In : *Science* 293.5530, p. 708–711. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : [10.1126/science.1059700](https://doi.org/10.1126/science.1059700). URL : <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1059700> (visité le 26/05/2014).
- POSERN, Guido, Francesc MIRALLES et al. (2004). "Mutant actins that stabilise F-actin use distinct mechanisms to activate the SRF coactivator MAL". In : *The EMBO journal* 23.20, p. 3973–3983. URL : <http://www.nature.com/emboj/journal/v23/n20/abs/7600404a.html> (visité le 21/10/2013).

- POSERN, Guido, Athanassia SOTIROPOULOS et Richard TREISMAN (2002). "Mutant actins demonstrate a role for unpolymerized actin in control of transcription by serum response factor". In : *Molecular biology of the cell* 13.12, p. 4167–4178. URL : <http://www.molbiolcell.org/content/13/12/4167.short> (visité le 02/02/2015).
- POSERN, Guido et Richard TREISMAN (2006). "Actin' together : serum response factor, its cofactors and the link to signal transduction". In : *Trends in Cell Biology* 16.11, p. 588–596. ISSN : 09628924. DOI : [10.1016/j.tcb.2006.09.008](https://doi.org/10.1016/j.tcb.2006.09.008). URL : <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0962892406002698> (visité le 21/10/2013).
- RAJAKYLÄ, Eeva Kaisa, Maria K. VARTAINEN et Richard TREISMAN (2010). "An actin-regulated importin  $\alpha/\beta$ -dependent extended bipartite NLS directs nuclear import of MRTF-A". In : *The EMBO journal* 29.20, p. 3448–3458. URL : <http://www.nature.com/emboj/journal/v29/n20/abs/emboj2010216a.html> (visité le 21/10/2013).
- RAJAKYLÄ, Eeva Kaisa, Tiina VIITA et al. (2015). "RNA export factor Ddx19 is required for nuclear import of the SRF coactivator MKL1". In : *Nature Communications* 6, p. 5978. ISSN : 2041-1723. DOI : [10.1038/ncomms6978](https://doi.org/10.1038/ncomms6978). URL : <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ncomms6978> (visité le 30/01/2015).
- SASAZUKI, T. (2002). "Identification of a Novel Transcriptional Activator, BSAC, by a Functional Cloning to Inhibit Tumor Necrosis Factor-induced Cell Death". In : *Journal of Biological Chemistry* 277.32, p. 28853–28860. ISSN : 00219258, 1083351X. DOI : [10.1074/jbc.M203190200](https://doi.org/10.1074/jbc.M203190200). URL : <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M203190200> (visité le 30/01/2015).
- SCHARENBERG, M. A. et al. (2014). "TGF- $\beta$ -induced differentiation into myofibroblasts involves specific regulation of two MKL1 isoforms". In : *Journal of Cell Science* 127.5, p. 1079–1091. ISSN : 0021-9533, 1477-9137. DOI : [10.1242/jcs.142075](https://doi.org/10.1242/jcs.142075). URL : <http://jcs.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jcs.142075> (visité le 31/10/2014).
- SCHMIDT, L. J. et al. (2012). "RhoA as a Mediator of Clinically Relevant Androgen Action in Prostate Cancer Cells". In : *Molecular Endocrinology* 26.5, p. 716–735. ISSN : 0888-8809. DOI : [10.1210/me.2011-1130](https://doi.org/10.1210/me.2011-1130). URL : <http://mend.endojournals.org/cgi/doi/10.1210/me.2011-1130> (visité le 21/10/2013).
- SELVARAJ, A. et R. PRYWES (2003). "Megakaryoblastic Leukemia-1/2, a Transcriptional Co-activator of Serum Response Factor, Is Required for Skeletal Myogenic Differentiation". In : *Journal of Biological Chemistry* 278.43, p. 41977–41987. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : [10.1074/jbc.M305679200](https://doi.org/10.1074/jbc.M305679200). URL : <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M305679200> (visité le 12/12/2014).
- SMITH, Elenoe C. et al. (2013). "Induction of megakaryocyte differentiation drives nuclear accumulation and transcriptional function of MKL1 via actin polymerization and RhoA activation". In : *Blood* 121.7, p. 1094–1101. URL : <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/121/7/1094.short> (visité le 11/12/2014).

- SOTIROPOULOS, Athanassia et al. (1999). "Signal-regulated activation of serum response factor is mediated by changes in actin dynamics". In : *Cell* 98.2, p. 159–169. URL : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400810119> (visité le 10/12/2014).
- SUN, Y. et al. (2006). "Acute Myeloid Leukemia-Associated Mkl1 (Mrtf-a) Is a Key Regulator of Mammary Gland Function". In : *Molecular and Cellular Biology* 26.15, p. 5809–5826. ISSN : 0270-7306. DOI : [10.1128/MCB.00024-06](https://doi.org/10.1128/MCB.00024-06). URL : <http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.00024-06> (visité le 17/12/2014).
- TREISMAN, Richard et al. (2011). "Structure of a Pentavalent G-Actin\* MRTF-A Complex Reveals How G-Actin". In : URL : [http://www.researchgate.net/profile/Stephane\\_Mouilleron2/publication/51219331\\_Structure\\_of\\_a\\_pentavalent\\_G-actin\\*MRTF-A\\_complex\\_reveals\\_how\\_G-actin\\_controls\\_nucleocytoplasmic\\_shuttling\\_of\\_a\\_transcriptional\\_coactivator\\_links/0912f5065bb6d82872000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Stephane_Mouilleron2/publication/51219331_Structure_of_a_pentavalent_G-actin*MRTF-A_complex_reveals_how_G-actin_controls_nucleocytoplasmic_shuttling_of_a_transcriptional_coactivator_links/0912f5065bb6d82872000000.pdf) (visité le 02/02/2015).
- VARTIAINEN, M. K. et al. (2007). "Nuclear Actin Regulates Dynamic Subcellular Localization and Activity of the SRF Cofactor MAL". In : *Science* 316.5832, p. 1749–1752. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : [10.1126/science.1141084](https://doi.org/10.1126/science.1141084). URL : <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1141084> (visité le 21/10/2013).
- WANG, D. et al. (2012). "Bone Morphogenetic Protein Signaling in Vascular Disease : ANTI-INFLAMMATORY ACTION THROUGH MYOCARDIN-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR A". In : *Journal of Biological Chemistry* 287.33, p. 28067–28077. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : [10.1074/jbc.M112.379487](https://doi.org/10.1074/jbc.M112.379487). URL : <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M112.379487> (visité le 11/12/2014).
- WANG, Da-Zhi et al. (2002). "Potentiation of serum response factor activity by a family of myocardin-related transcription factors". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99.23, p. 14855–14860. URL : <http://www.pnas.org/content/99/23/14855.short> (visité le 11/12/2014).
- ZHAO, X.-H. et al. (2007). "Force activates smooth muscle -actin promoter activity through the Rho signaling pathway". In : *Journal of Cell Science* 120.10, p. 1801–1809. ISSN : 0021-9533, 1477-9137. DOI : [10.1242/jcs.001586](https://doi.org/10.1242/jcs.001586). URL : <http://jcs.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jcs.001586> (visité le 21/10/2013).