



Stress pariétal et Morphogenèse chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*

Hélène Martin-Yken

► To cite this version:

Hélène Martin-Yken. Stress pariétal et Morphogenèse chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Colloque Microbio Toul, Oct 2010, Toulouse, France. hal-02951121

HAL Id: hal-02951121

<https://hal.inrae.fr/hal-02951121>

Submitted on 28 Sep 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

STRESS PARIÉTAL ET MORPHOGENÈSE CHEZ LA LEVURE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Hélène Martin-Yken

Physiologie Moléculaire des Eucaryotes
Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et Procédés,
UMR-CNRS 5504 & UMR-INRA 792, Toulouse, France.
Email: helene.martin@insa-toulouse.fr Tel: +33 5 61 55 99 59
Web site: <http://biopuce.insa-toulouse.fr/jmflab/>

Colloque MicrobioToul, 21-22 octobre 2010.

Introduction

La paroi chez *S. cerevisiae* : morphologie, rôles, architecture.

Les acteurs de la Morphogenèse

Cytosquelette : actine, septines.

Le polarisome

Signalisation cellulaire en réponse aux stress

Le Mécanisme de compensation

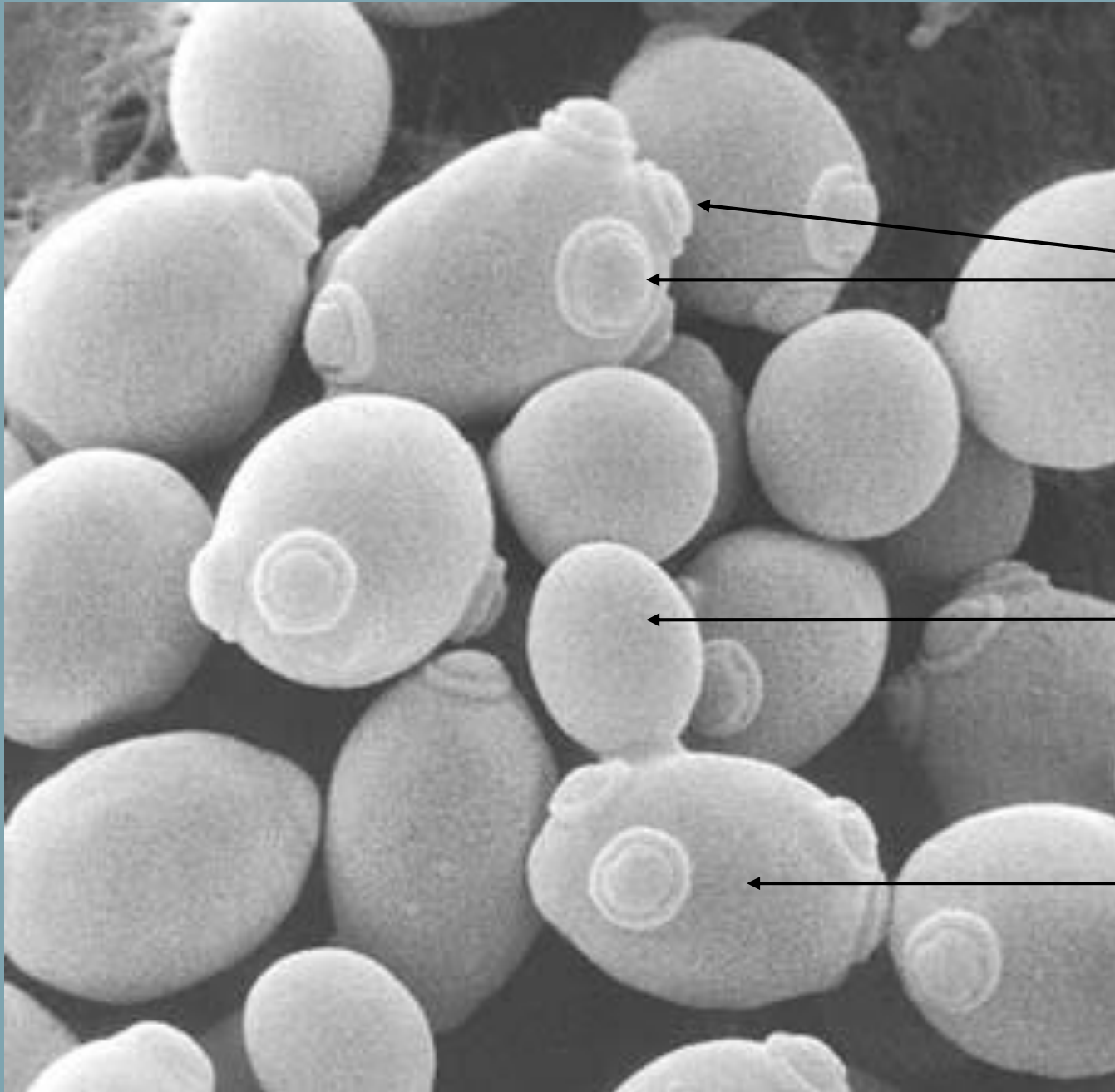
La voie CWI (Cell Wall Integrity)

La voie de la Calcineurine

Le “Morphogenesis Checkpoint”

Un cas particulier : la protéine Knr4

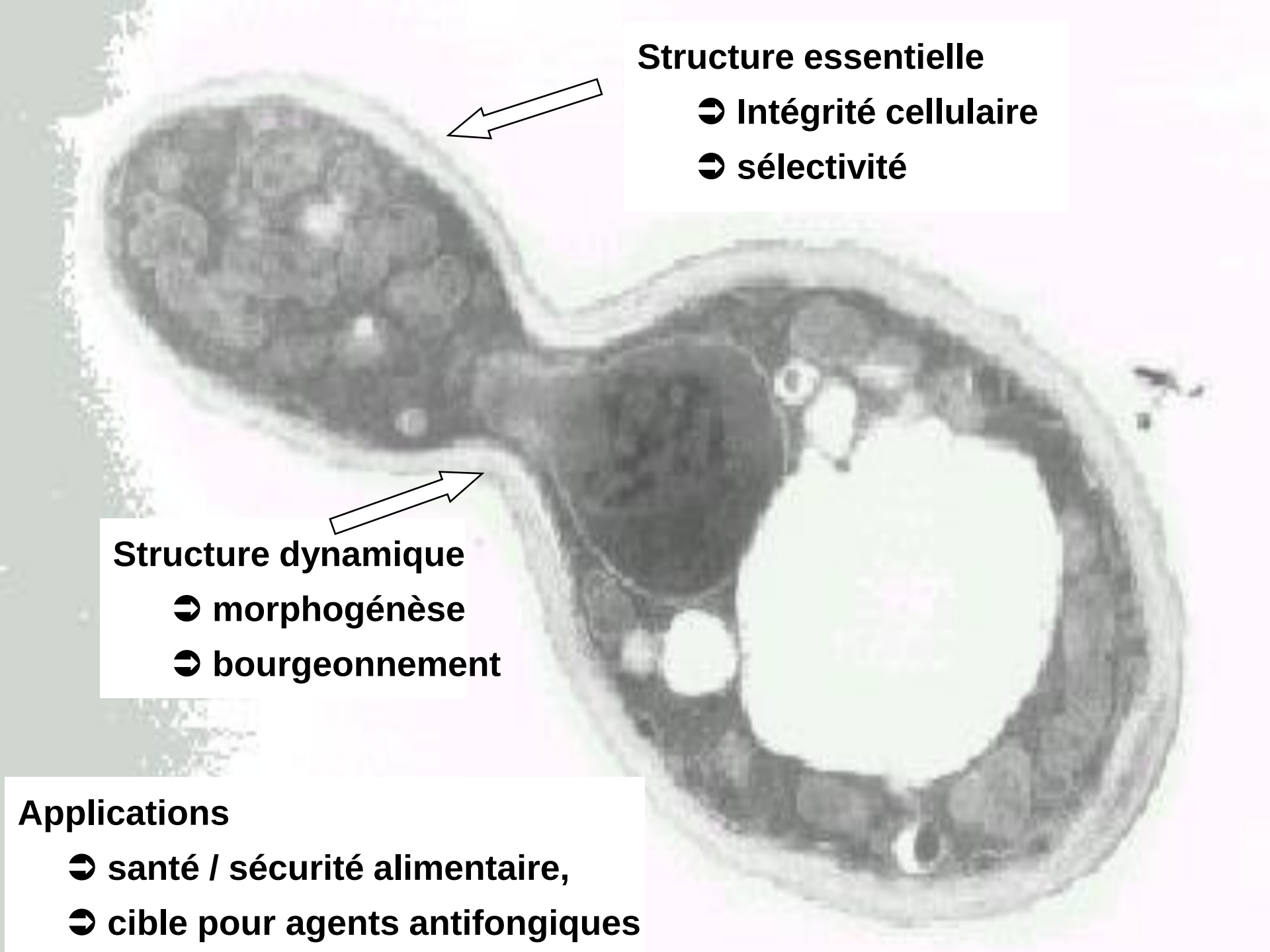
Vue Intégrative



**Cicatrices de
bourgeonnement**

Cellule fille

Cellule mère

An electron micrograph showing a cell with a large, irregularly shaped body and a smaller, rounded bud-like structure attached to its side. The cell contains various internal organelles, including a large, clear, circular structure that appears to be a vacuole or a large nucleus. The cell membrane is clearly visible, separating the internal contents from the external environment. Two arrows point to specific features: one points to the cell membrane of the main body, and the other points to the neck of the bud.

Structure essentielle

- ➔ Intégrité cellulaire
- ➔ sélectivité

Structure dynamique

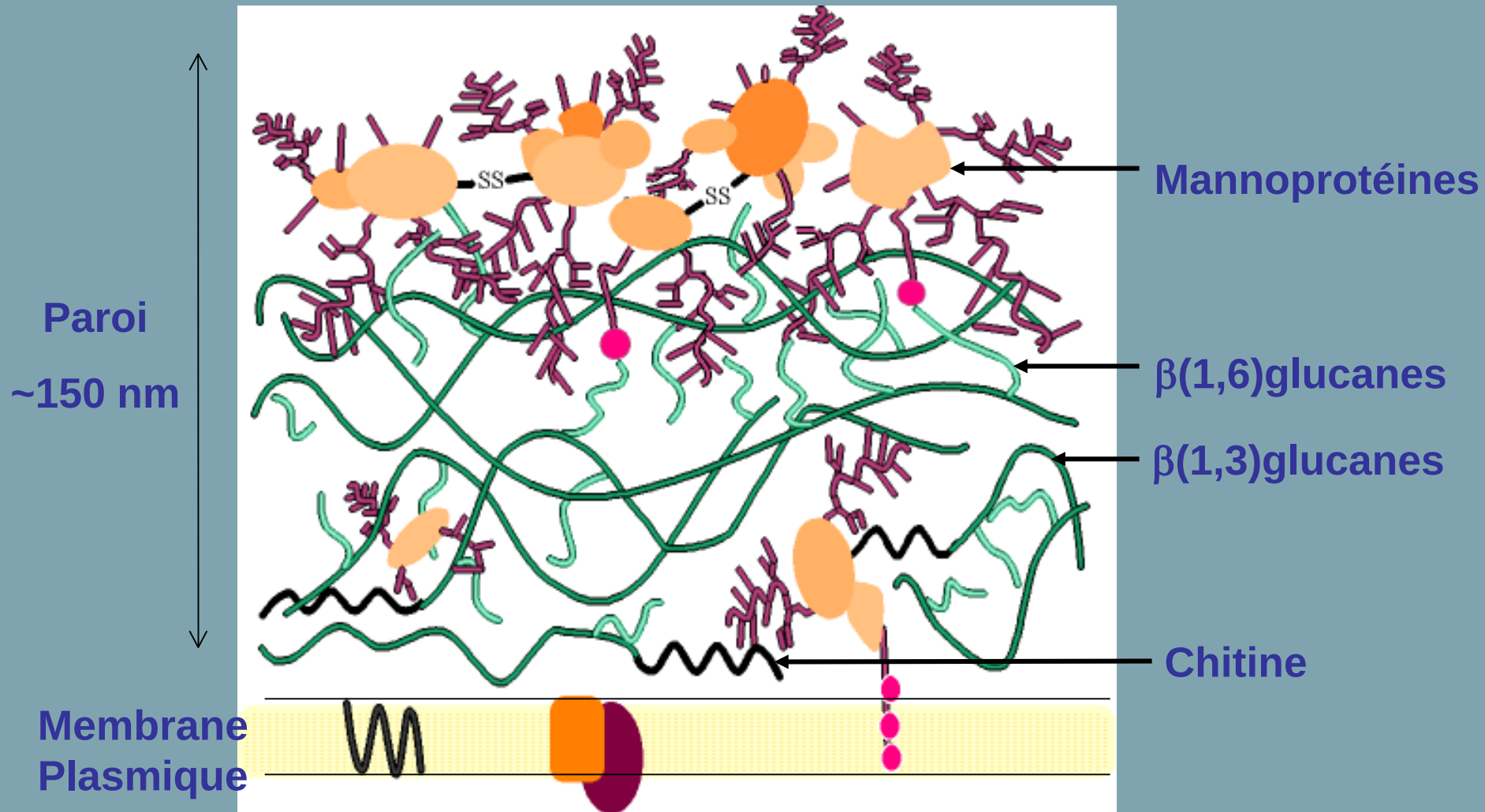
- ➔ morphogénèse
- ➔ bourgeonnement

Applications

- ➔ santé / sécurité alimentaire,
- ➔ cible pour agents antifongiques

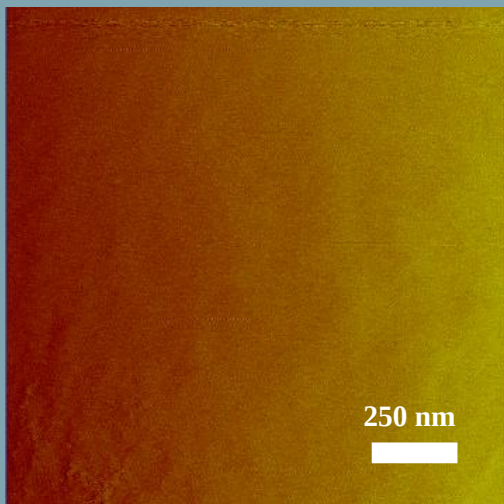
Architecture de la paroi de *S. cerevisiae* :

(Milieu Extérieur)

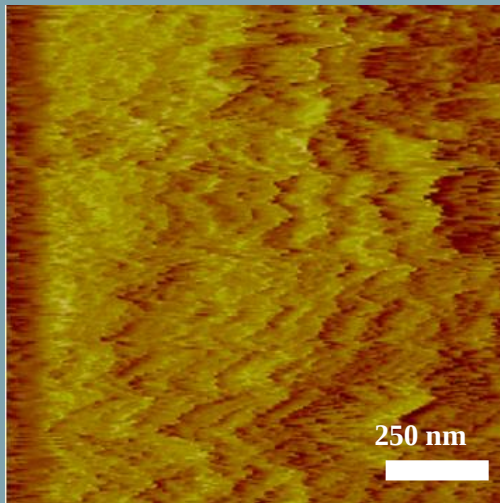


Apparence et propriétés nano-mécaniques de la paroi : étude par AFM.

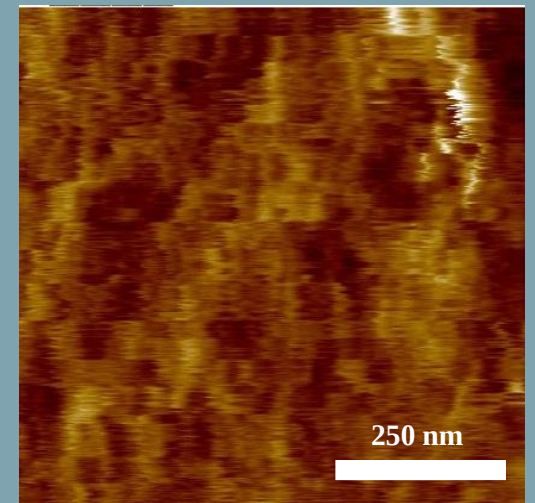
Souche contrôle



mnn9 (mutant affecté dans la synthèse des mannanes)



fks1 (mutant affecté dans la synthèse des β -glucanes)



Elasticité $\longrightarrow$

Rugosité $\nearrow$

Elasticité $\searrow$

Rugosité $\nearrow$

Introduction

La paroi chez *S. cerevisiae* : morphologie, rôles, architecture.

Les acteurs de la Morphogenèse :

Cytosquelette : actine, septines.

Le polarisome

Signalisation cellulaire en réponse aux stress

Le Mécanisme de compensation

La voie CWI (Cell Wall Integrity)

La voie de la Calcineurine

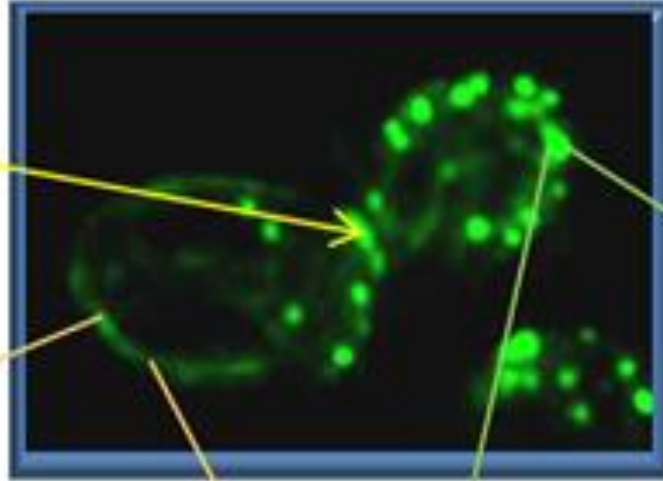
Le “Morphogenesis Checkpoint”

Un cas particulier : la protéine Knr4

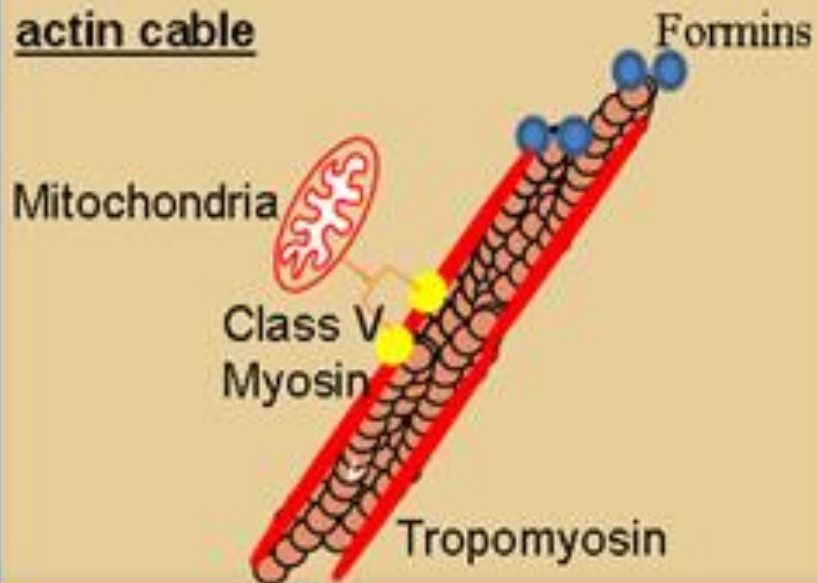
Vue Intégrative

Cytoskeleton : l'actine

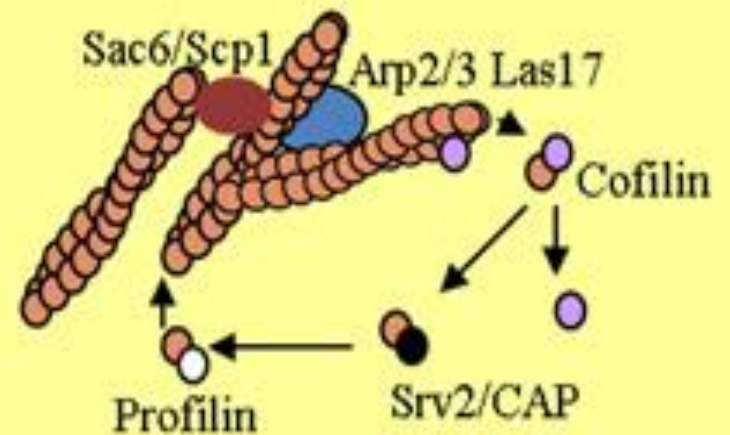
Contractile ring

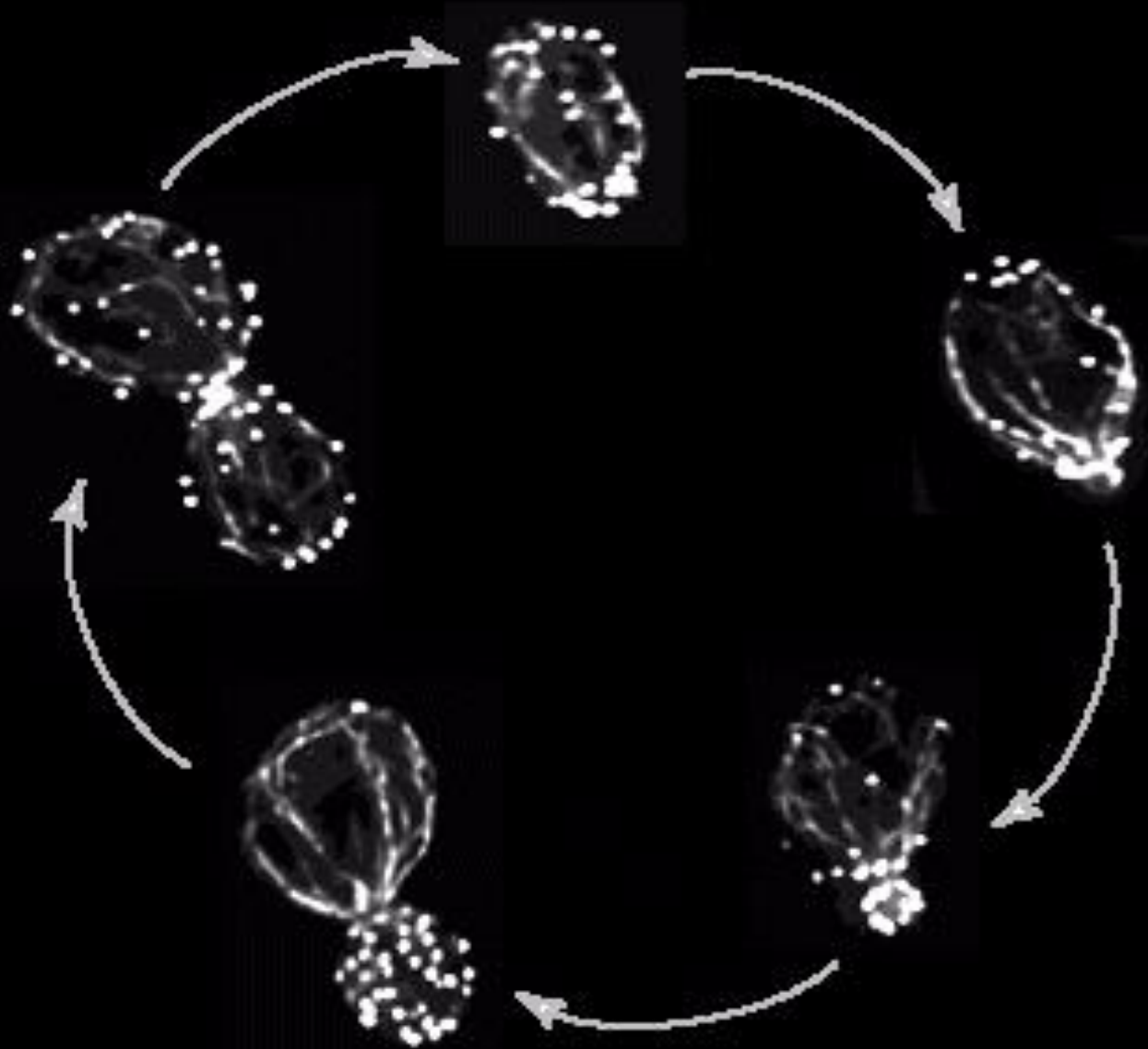


actin cable



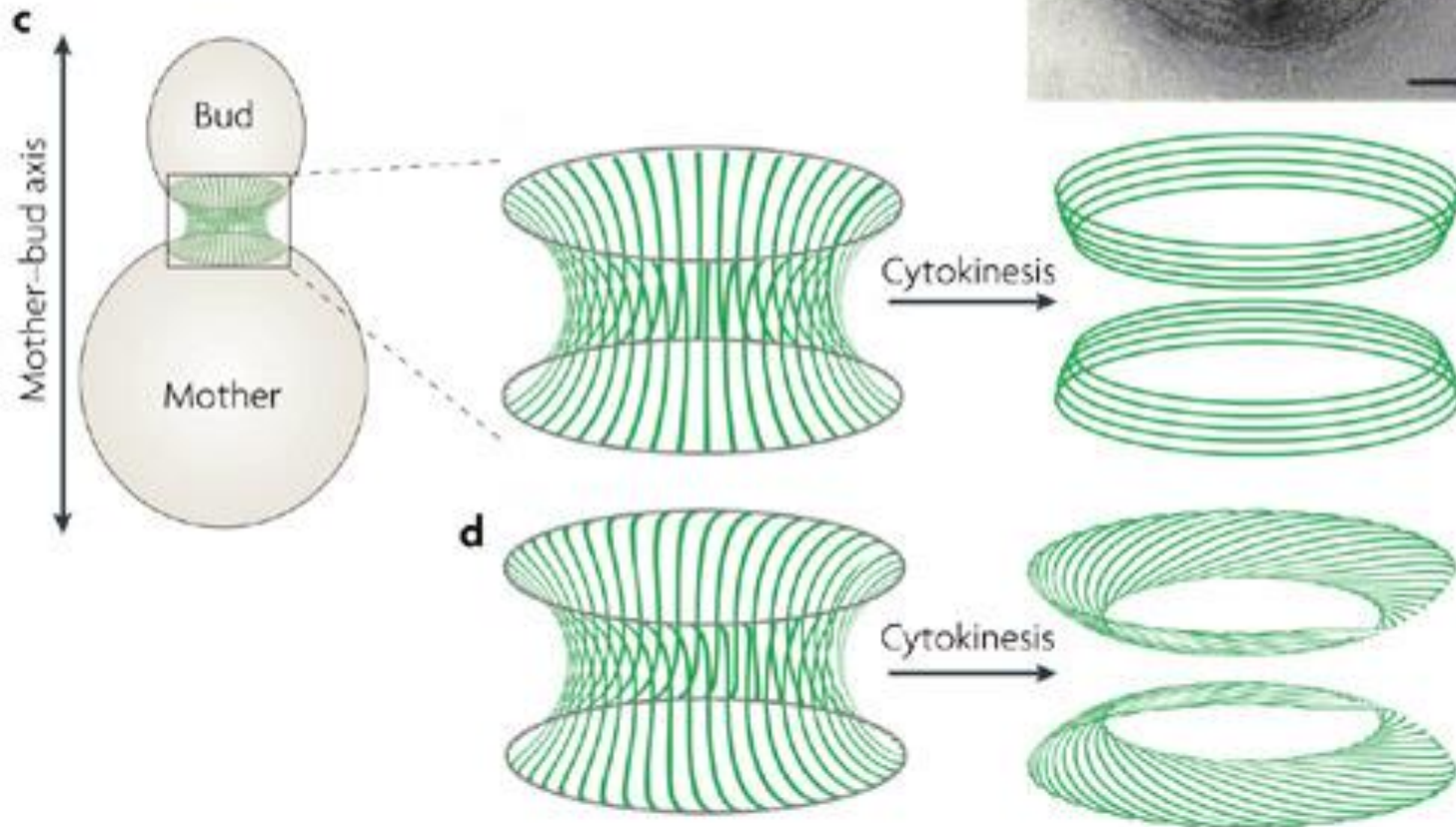
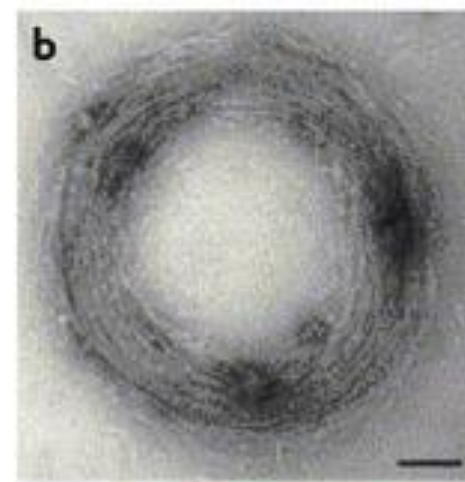
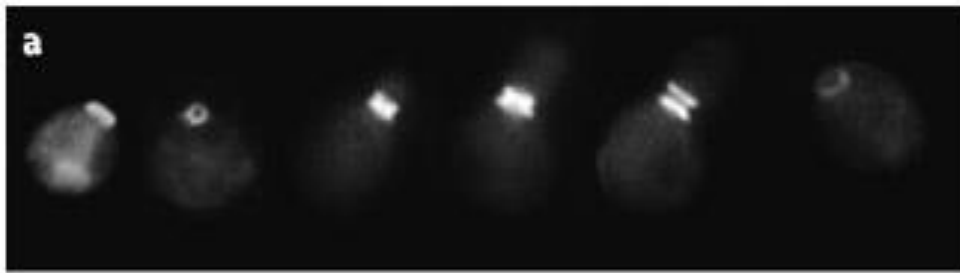
actin patch





(D. Amberg lab)

Cytosquelette : les septines



5 protéines,
Cdc3, Cdc10,
Cdc11, Cdc12,
Shs1

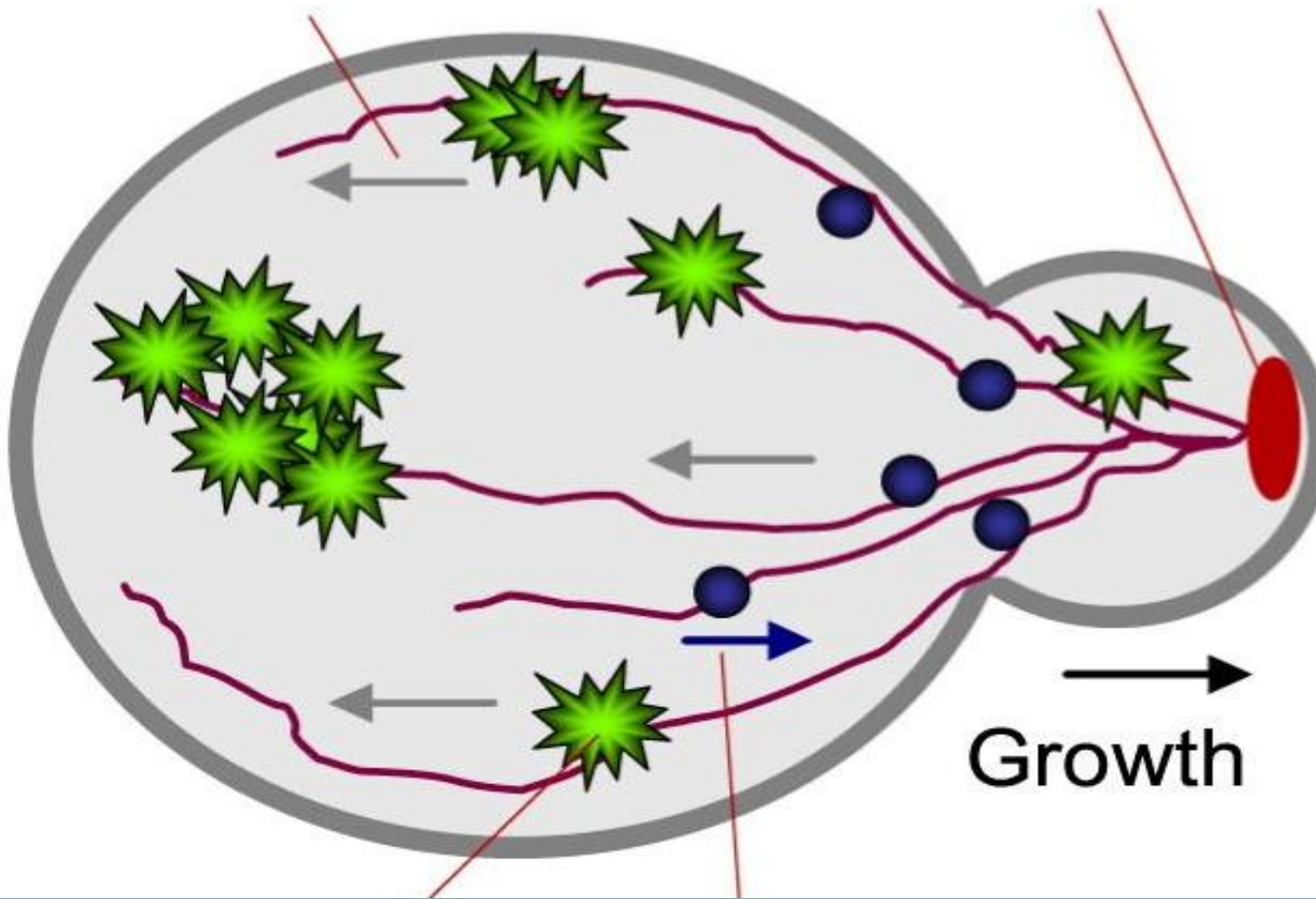
Weirich *et al.*,
Nat Rev Mol Cell Biol.
2008 Jun;9(6):478-89.

Le Polarisome :

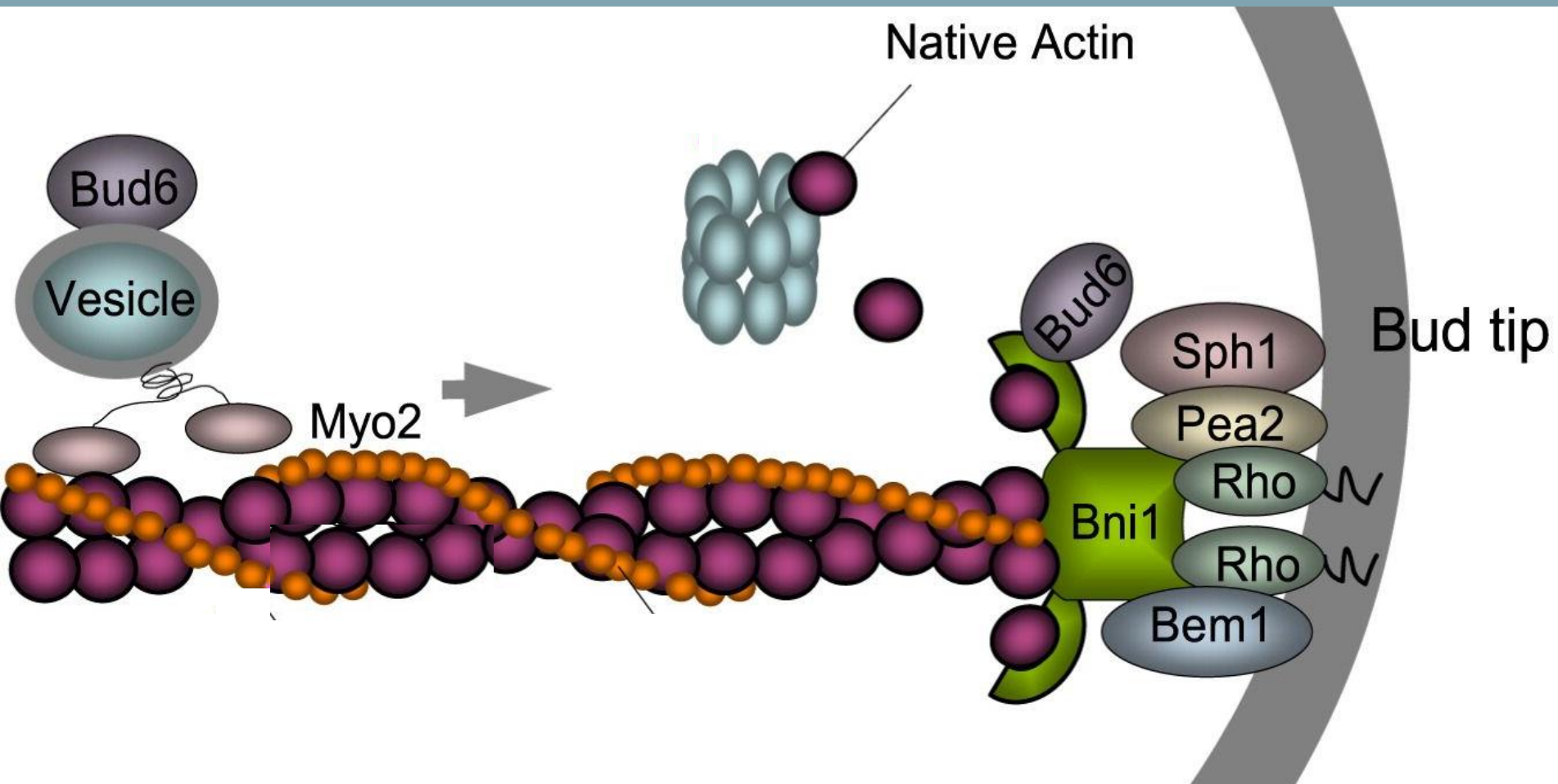
Cable flow

Polarisome

4 protéines :
Spa2, Pea2,
Bud6 et Bni1



Le Polarisome :



Introduction

La paroi chez *S. cerevisiae* : morphologie, rôles, architecture.

Les acteurs de la Morphogenèse :

Cytosquelette : actine, septines.

Le polarisome

Signalisation cellulaire en réponse aux stress

Le Mécanisme de compensation

La voie CWI (Cell Wall Integrity)

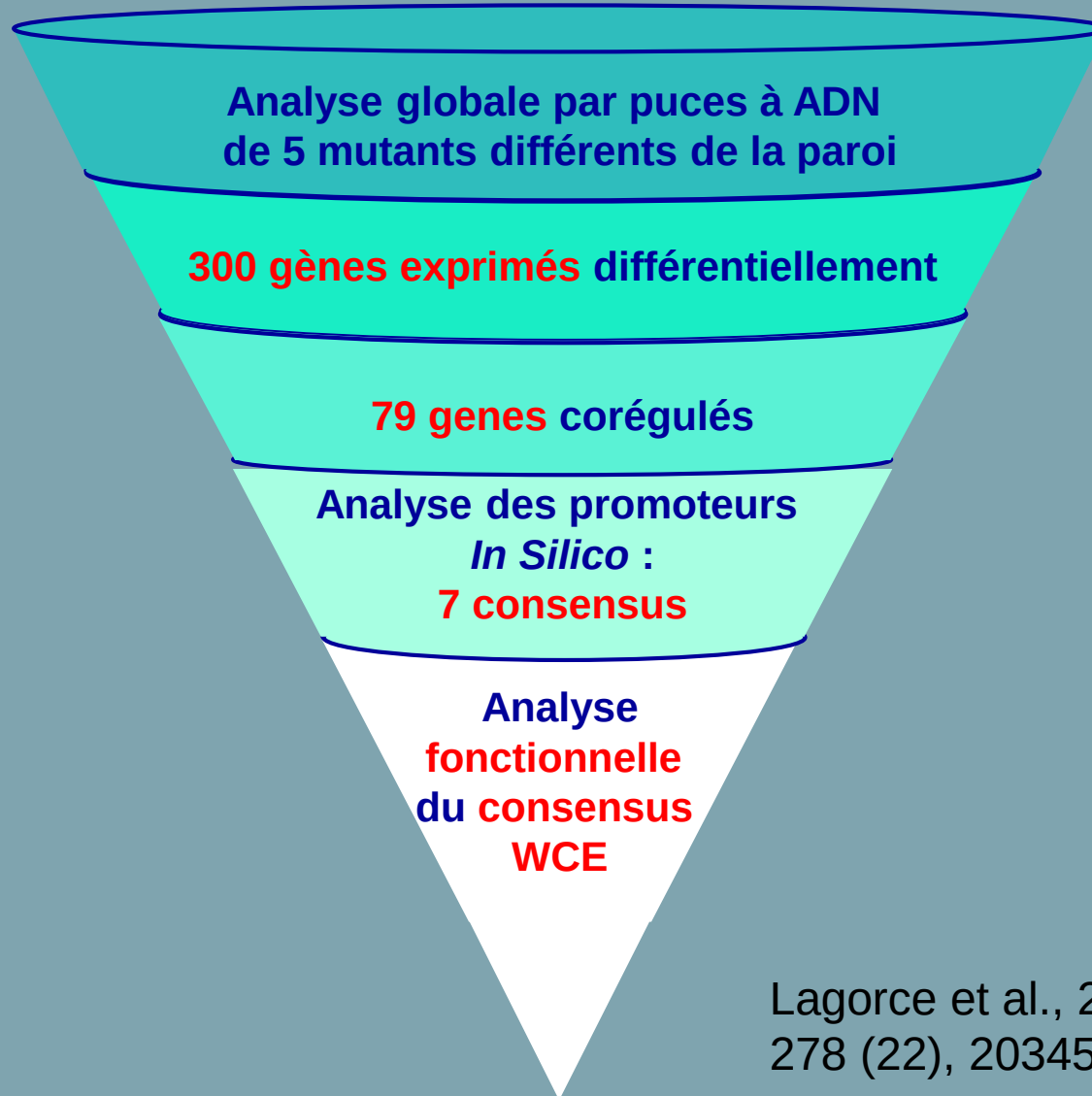
La voie de la Calcineurine

Le “Morphogenesis Checkpoint”

Un cas particulier : la protéine Knr4

Vue Intégrative

Le Mécanisme de compensation : Une réponse génomique globale au stress pariétal



Lagorce et al., 2003, *J Biol Chem.*
278 (22), 20345-20357

Analyse des promoteurs des 79 gènes co-régulés:



	Séquences	Distribution	Fonction
RLM1	NTAWWWWTAG	39/79	Synthèse Pariétale
STRE	CCCCT	45/79	Réponse au Stress
HSE	GAANNTCC	75/79	Réponse au Stress
GCR1	RGCTTCCWC	28/79	Métabolisme Central
PHO4	NNNCACGTKNGN	17/79	Métabolisme <i>P</i>
SCB	CACGAAA	28/79	Cycle Cellulaire
WCE/CDRE	AGCCTC	30/79	Réponse au Calcium

K=G / T

M=A / C

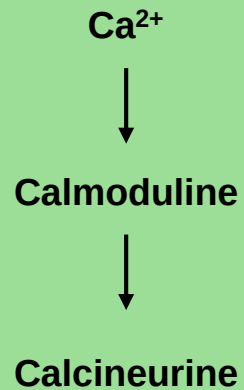
N=A, T, G ou C

R=A / G

W=A / T

Voies de signalisation impliquées dans la réponse aux différents stress :

Réponse au Ca^{2+}

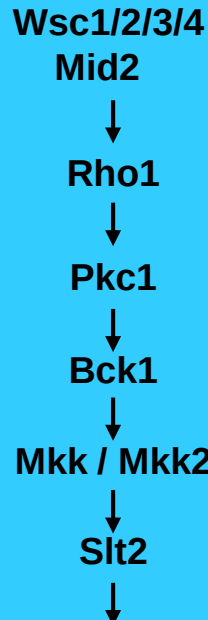


Crz1

WCE/CDRE

Cascades de MAPK

Cell Wall Integrity Hypo-osmolarité

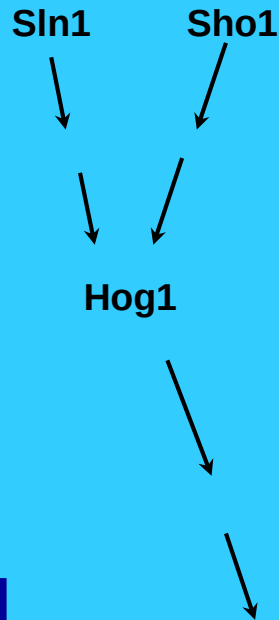


Rlm1 / SBF

Rlm1 binding sites

SCB sites

Hyper-osmolarité

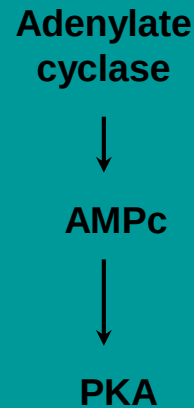


Msn2/Msn4

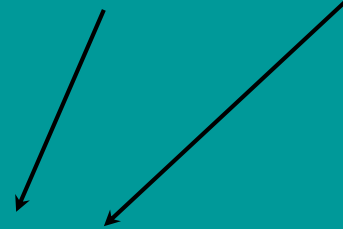
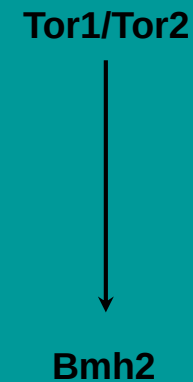
STRE

Réponse Globale au Stress

Voie AMPc/PKA



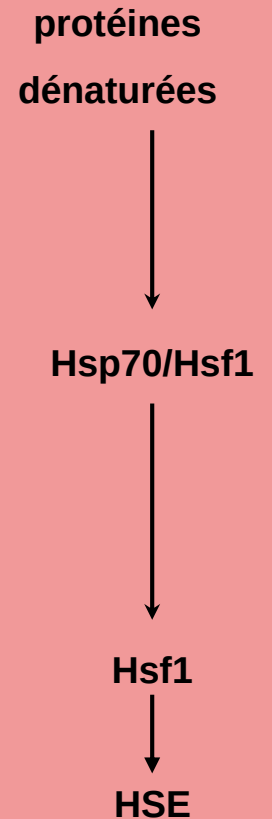
Voie TOR



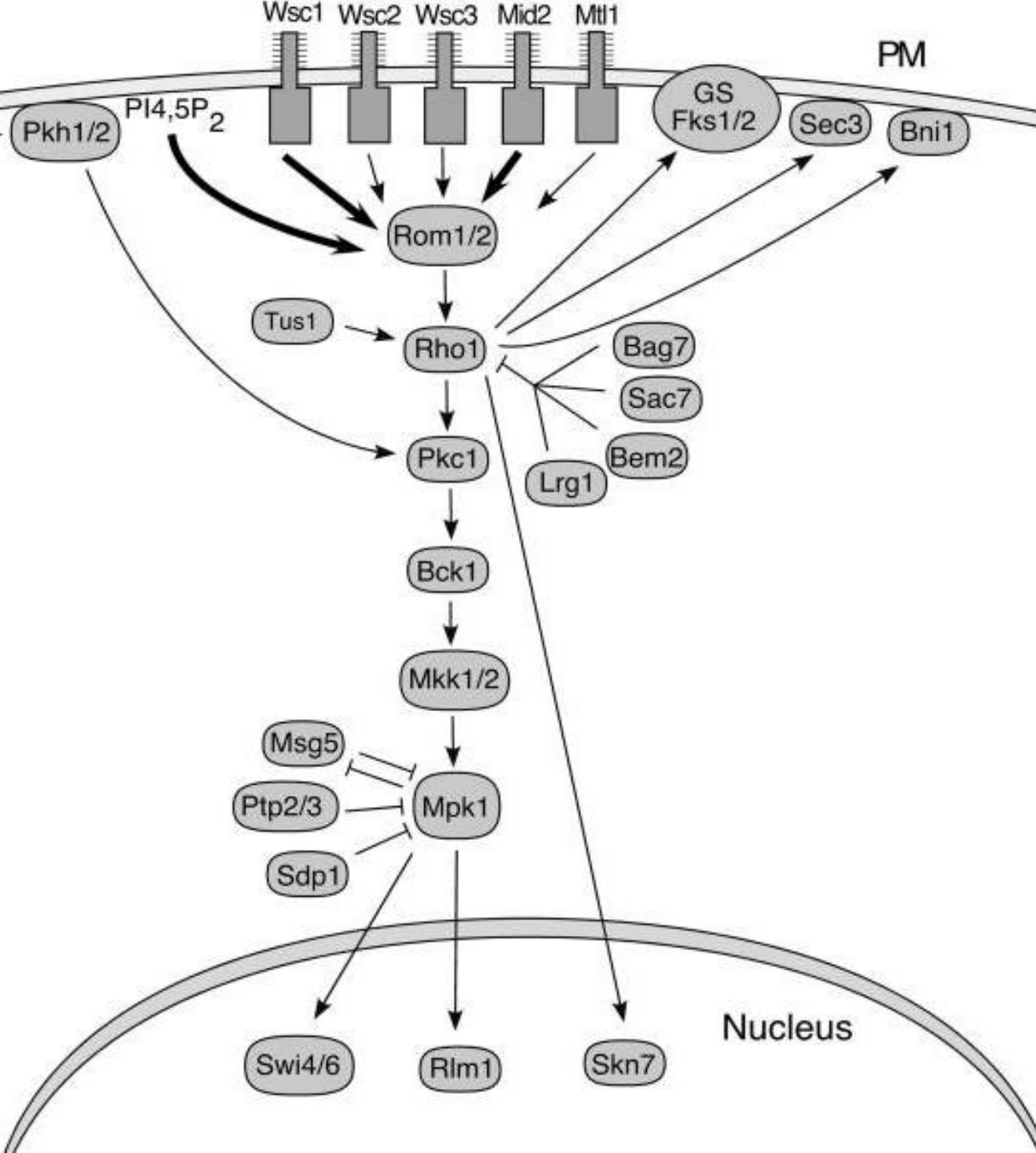
Msn2/Msn4

STRE

Choc Thermique

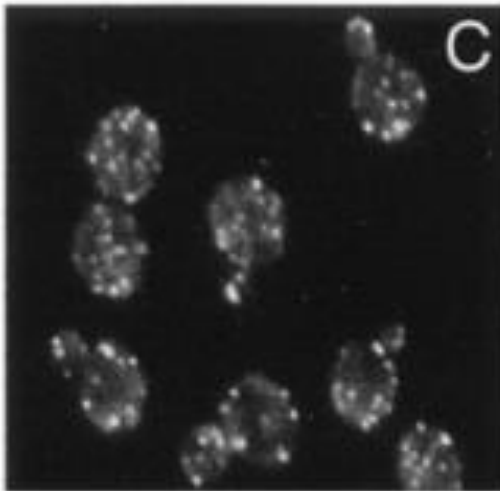
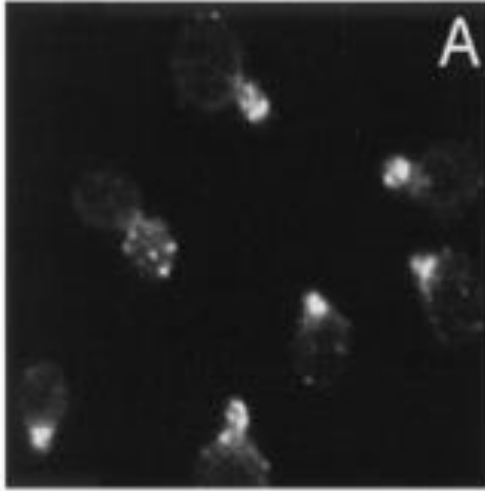


La voie CWI (Cell Wall Integrity)

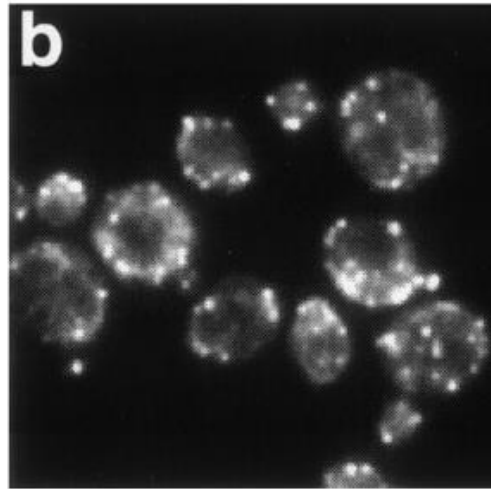
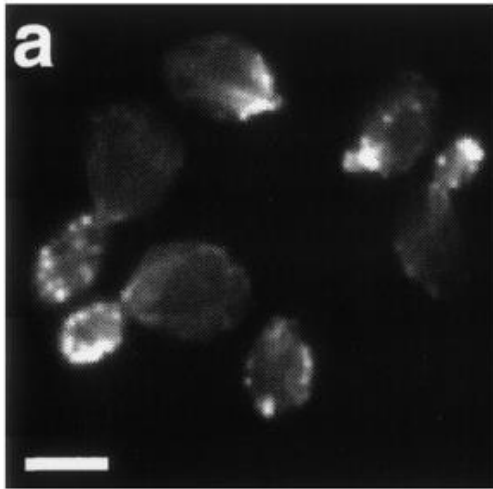


(Levin D., Microbiol Mol Biol Rev. 2005; 69(2): 262–291)

Dépolarisation transitoire de l'actine en réponse au stress

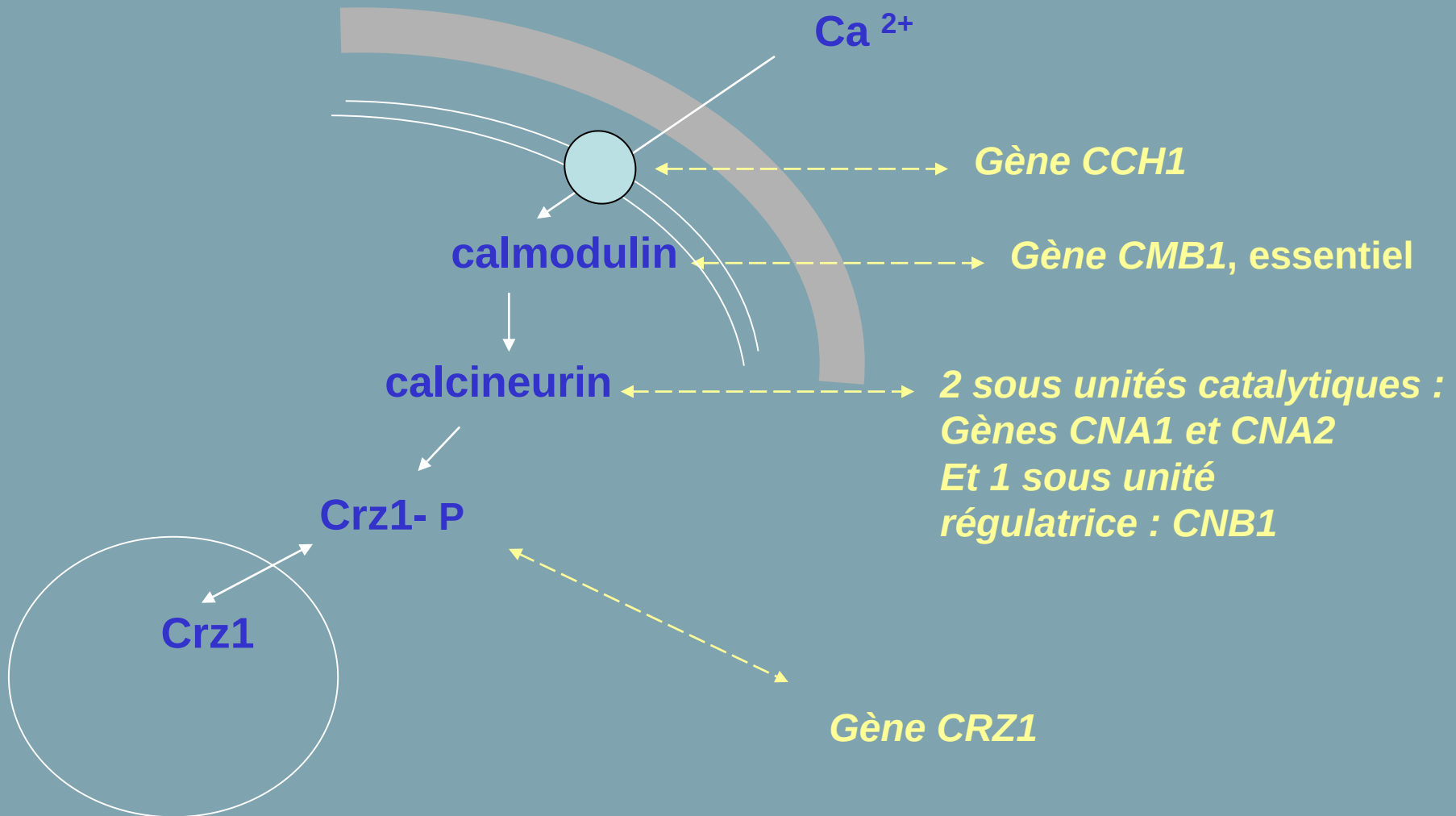


Choc Thermique
(Delley and Hall.,
J Cell Biol. 1999 October 4; 147(1): 163–174.)



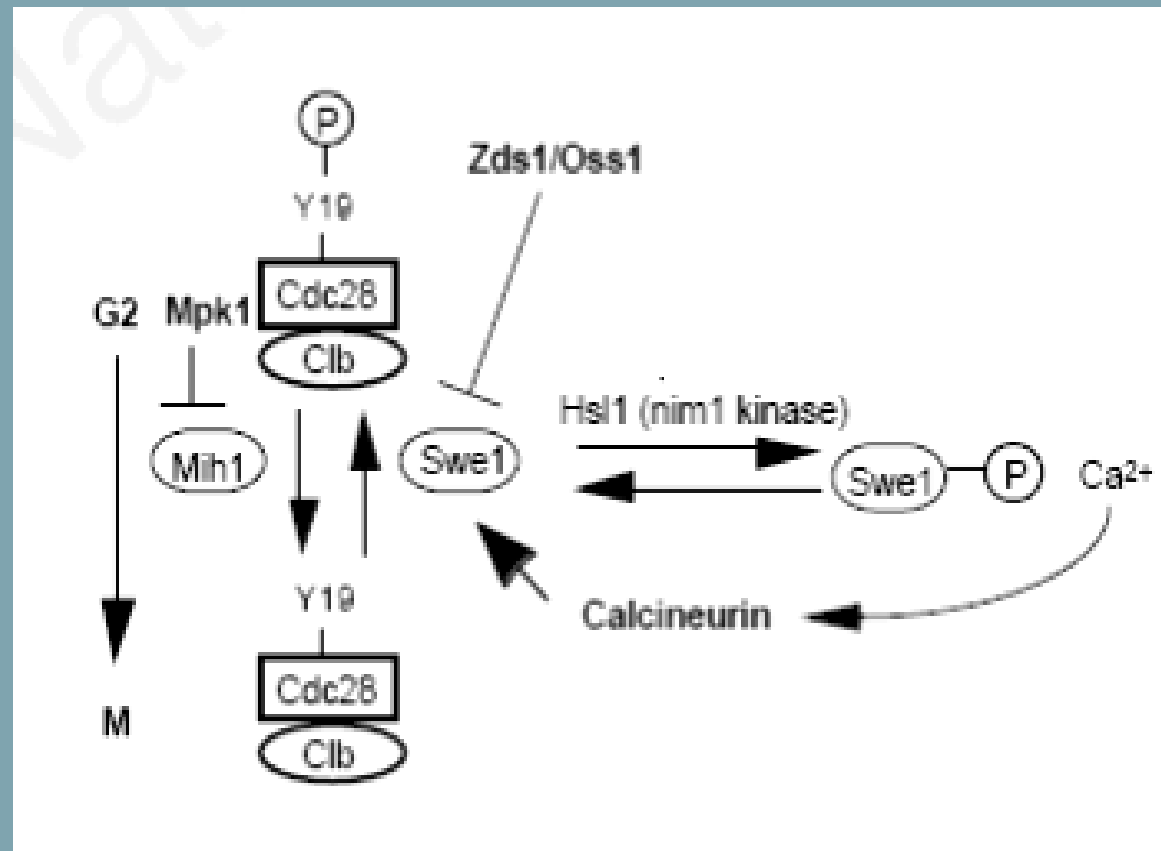
Chute brutale du taux de glucose
dans le milieu.
(Uesono Y., et al.,
MBoC, 15 (4), 1544-1556, 2004)

Voie de signalisation du Calcium :

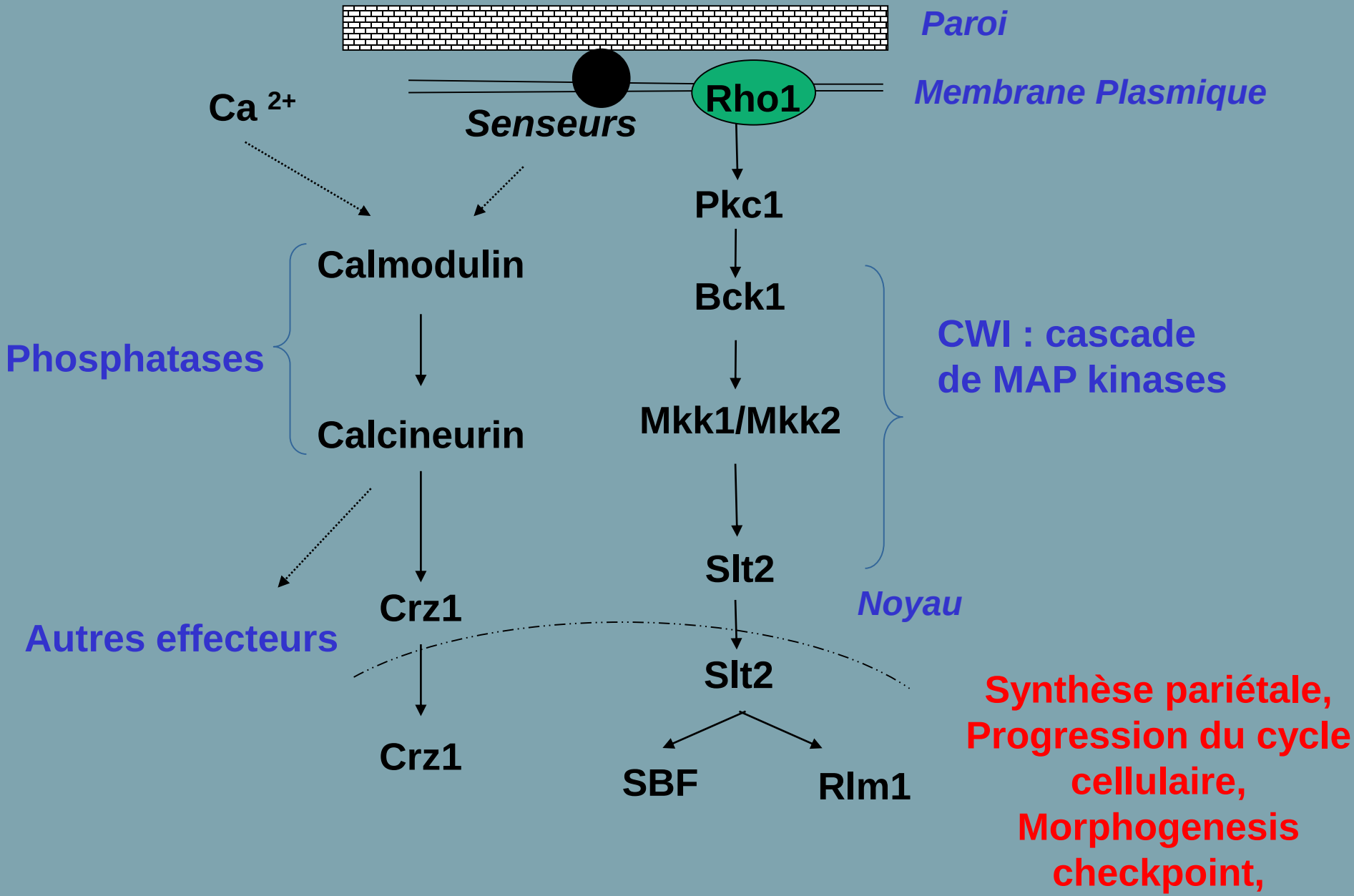


Une fonction commune des voies CWI et calcineurine, essentielle en cas de stress pariétal : le « Morphogenesis checkpoint »

En cas de défaut de synthèse pariétale ou dépolérisation de l'actine, ce checkpoint maintient les cellules en G2 jusqu'à ce qu'elles s'adaptent et puissent bourgeonner correctement.



Minuzuma et al., 1998, Nature 392
Corrected by Harrison *et al*, 2001,
Nature Cell Biol, 3, 417-420.



Introduction

La paroi chez *S. cerevisiae* : morphologie, rôles, architecture.

Les acteurs de la Morphogenèse :

Cytosquelette : actine, septines.

Le polarisome

Signalisation cellulaire en réponse aux stress

Le Mécanisme de compensation

La voie CWI (Cell Wall Integrity)

La voie de la Calcineurine

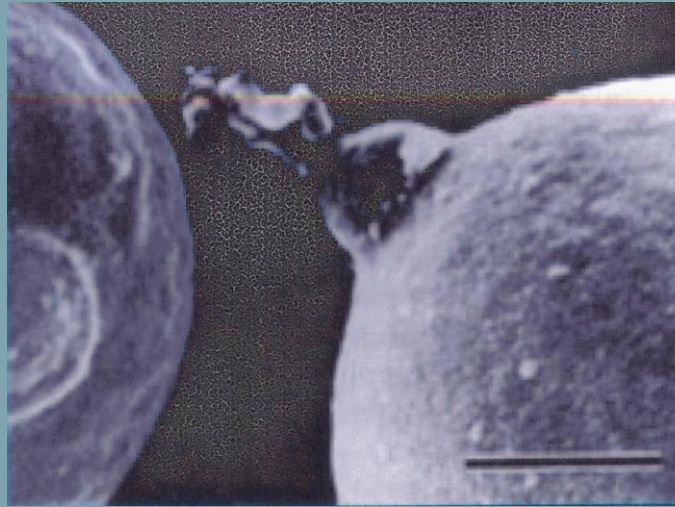
Le “Morphogenesis Checkpoint”

Un cas particulier : la protéine Knr4

Vue Intégrative

Historique du gène *KNR4*

1994 : Complémentation des mutants résistants à la killer toxine K9 de *Hansenula mrakii* (Hong et al., Mol Cell Biol. 2, 1017)

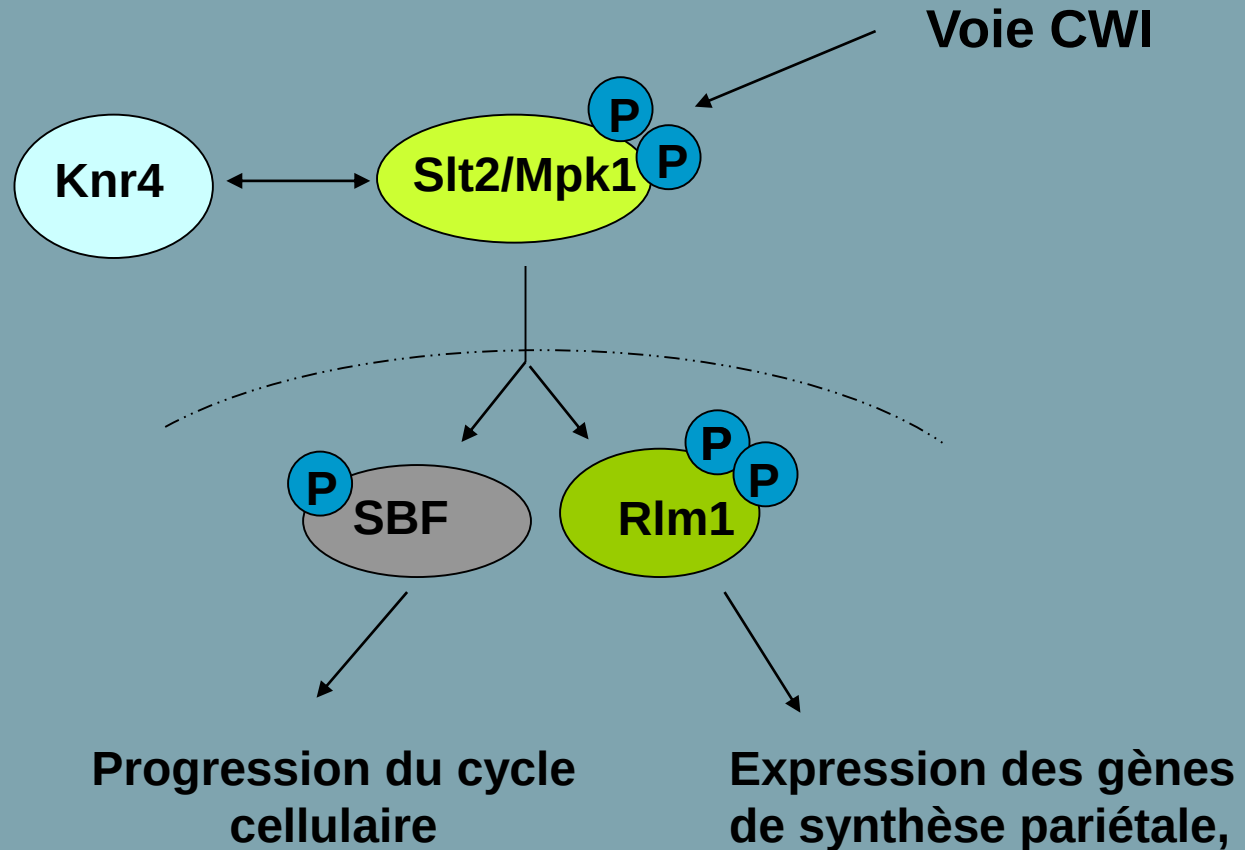


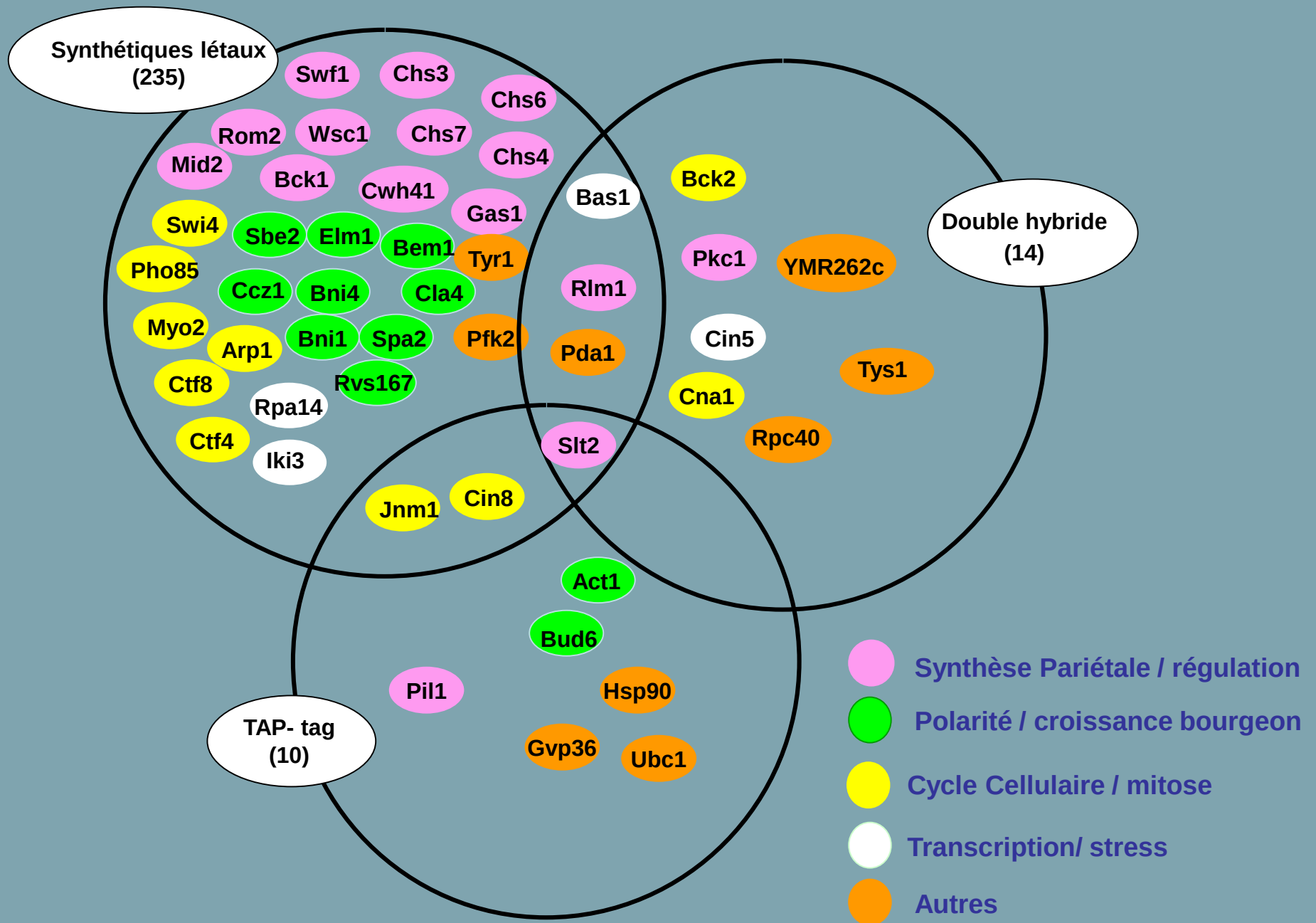
Activité lytique de la toxine killer K9 de *H. mrakii*
(Photo : Komiyama et al. 1996
J. Biochem, 119, 731-736)

1999 : Complémentation des mutants hyper-sensibles au Calcofluor white
(Martin et al., Microbiology, 145, 249)

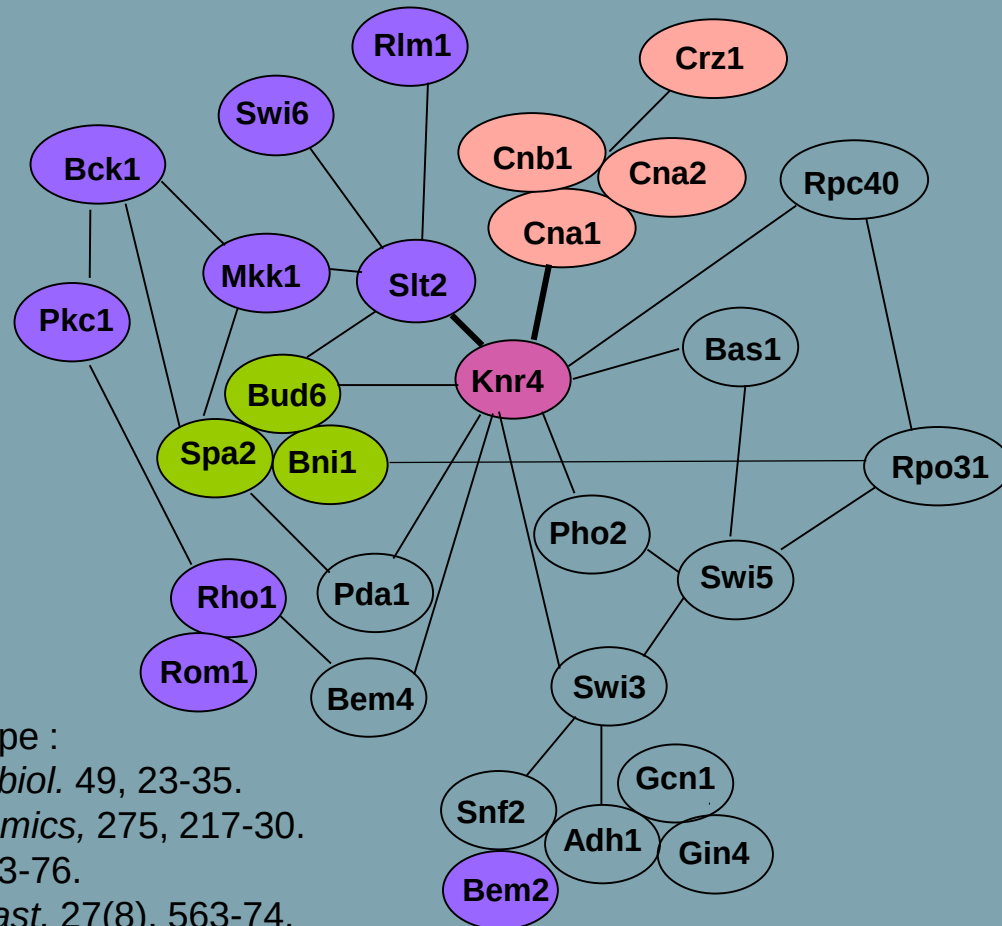
- *KNR4* spécifique des champignons
- Le mutant *knr4Δ* est viable, mais ts et hypersensible à de nombreux stress.
 - 235 partenaires synthétiques létaux
 - 27 interactions physiques identifiées
- Knr4 localisée au niveau des sites de croissance polarisée

Knr4 : nouvel élément dans le maintien de l'intégrité cellulaire





Réseau d'interactions physiques autour de Knr4 :



Données issues de notre équipe :

Martin-Yken et al., 2003, *Mol. Microbiol.* 49, 23-35.

Basmaji et al., 2006, *Mol Gen. Genomics*, 275, 217-30.

Durand et al., 2008, *Yeast*, 25(8):563-76.

Dagkessamanskaia et al., 2010, *Yeast*, 27(8), 563-74.

Et d'études globales :

Ito T. et al., 2001 *PNAS U S A.*; 98, 4277-8.

Goehring AS. et al., 2003 *Mol Biol Cell.* 14, 1501-16.

Tong, A. H., et al., 2001, *Science* 294, 2364-8.

Uetz, P. et al., 2000. *Nature* 403, 623-627.

Caractéristiques structurales de Knr4 :

Deux domaines désordonnés, avec des propriétés très différentes.

(l'essentiel de la fonction biologique)

1

80

340

505

**N-term:
Non-structuré**

Structuré et globulaire

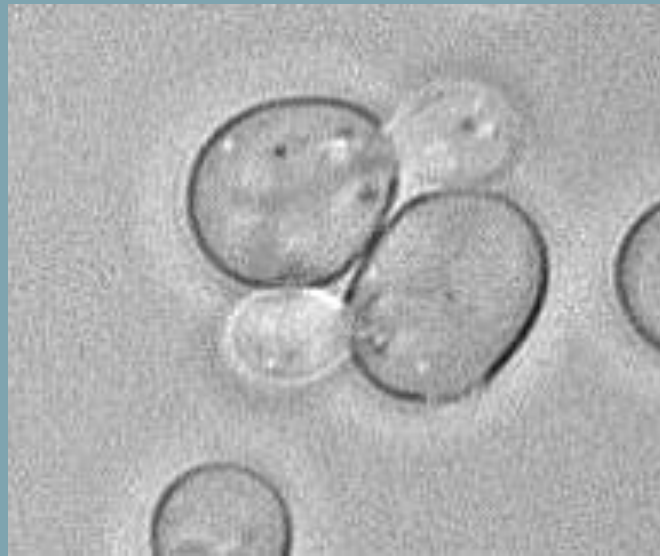
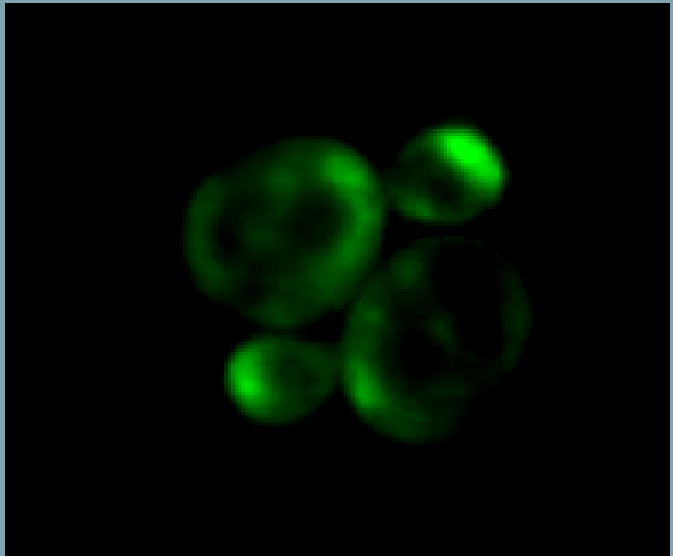
C-term: non structuré

- Bypass voie CWI
- Interaction avec la calcineurine,
(et activité de la calcineurine)
- Localisation de la protéine

**Inhibition des interactions
(séquences PEST).**

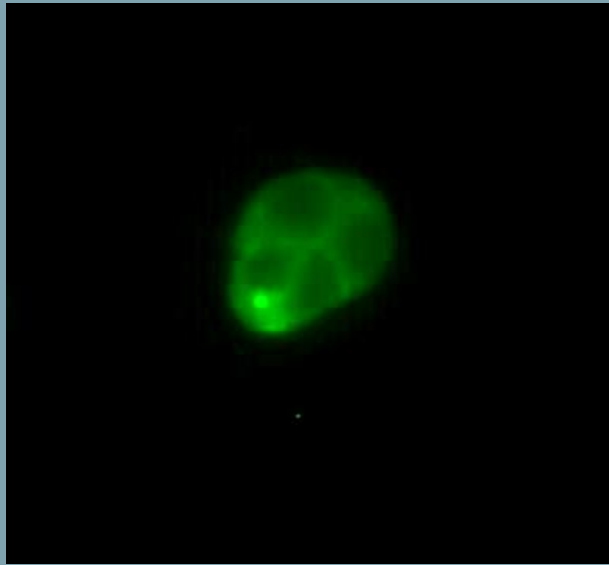
Dagkessamanskaia et al., 2010, *Protein Sci*, 19(7):1376-85.
Durand et al., 2008, *Yeast*, 25(8):563-76.

Localisation cellulaire de Knr4 au cours du bourgeonnement :

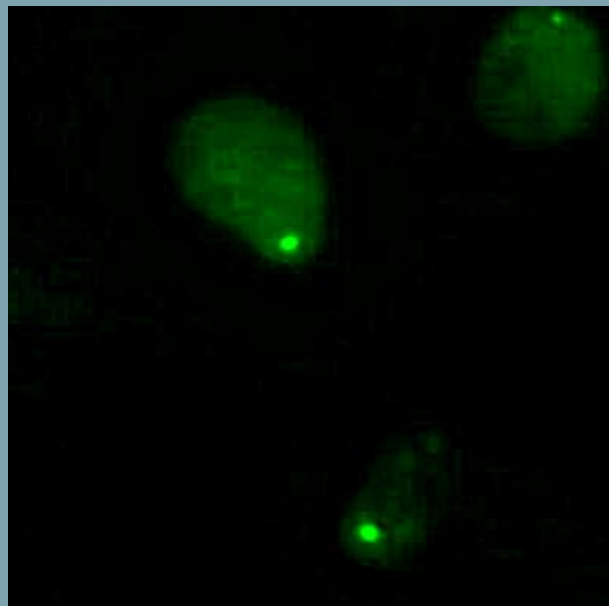


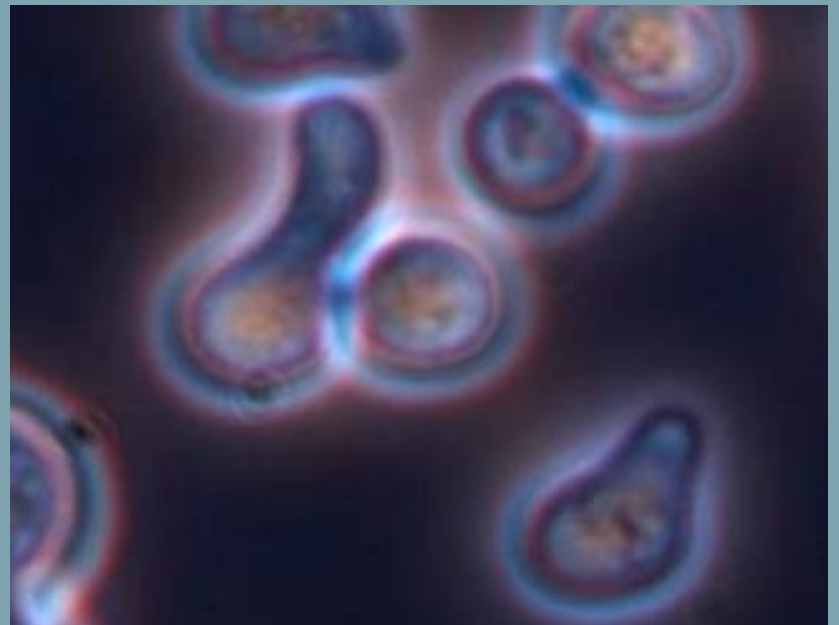
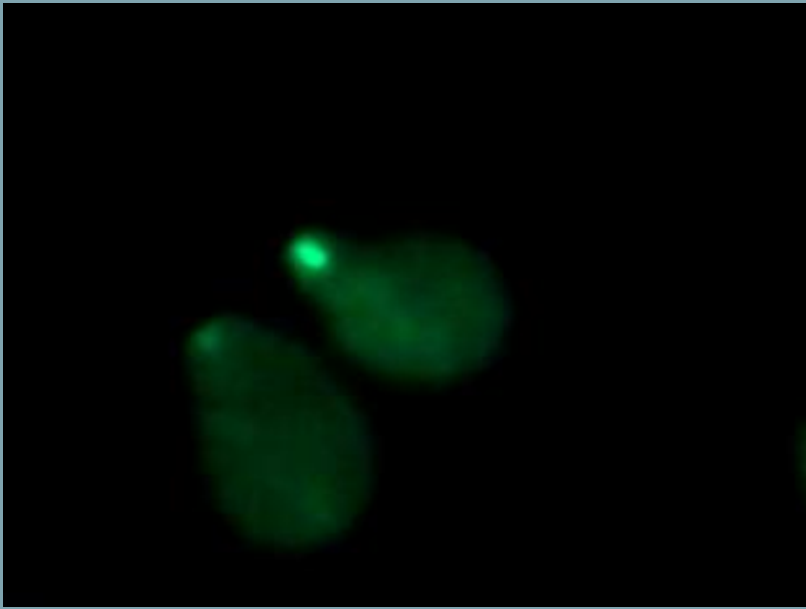
Dagkessamanskaia *et al.*,
2010, *Yeast*, 27(8), 563-74.

Localisation cellulaire de Knr4 lors de la formation des “shmoos”:

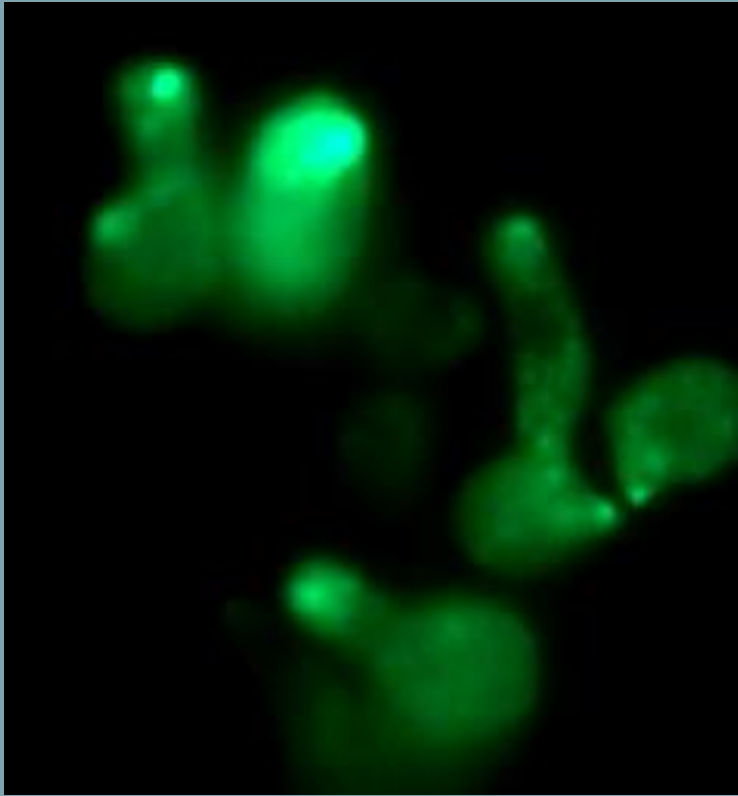


Cellules haploïdes
de type sexuel **a**,
exposées à la
phéromone α ,
1heure.



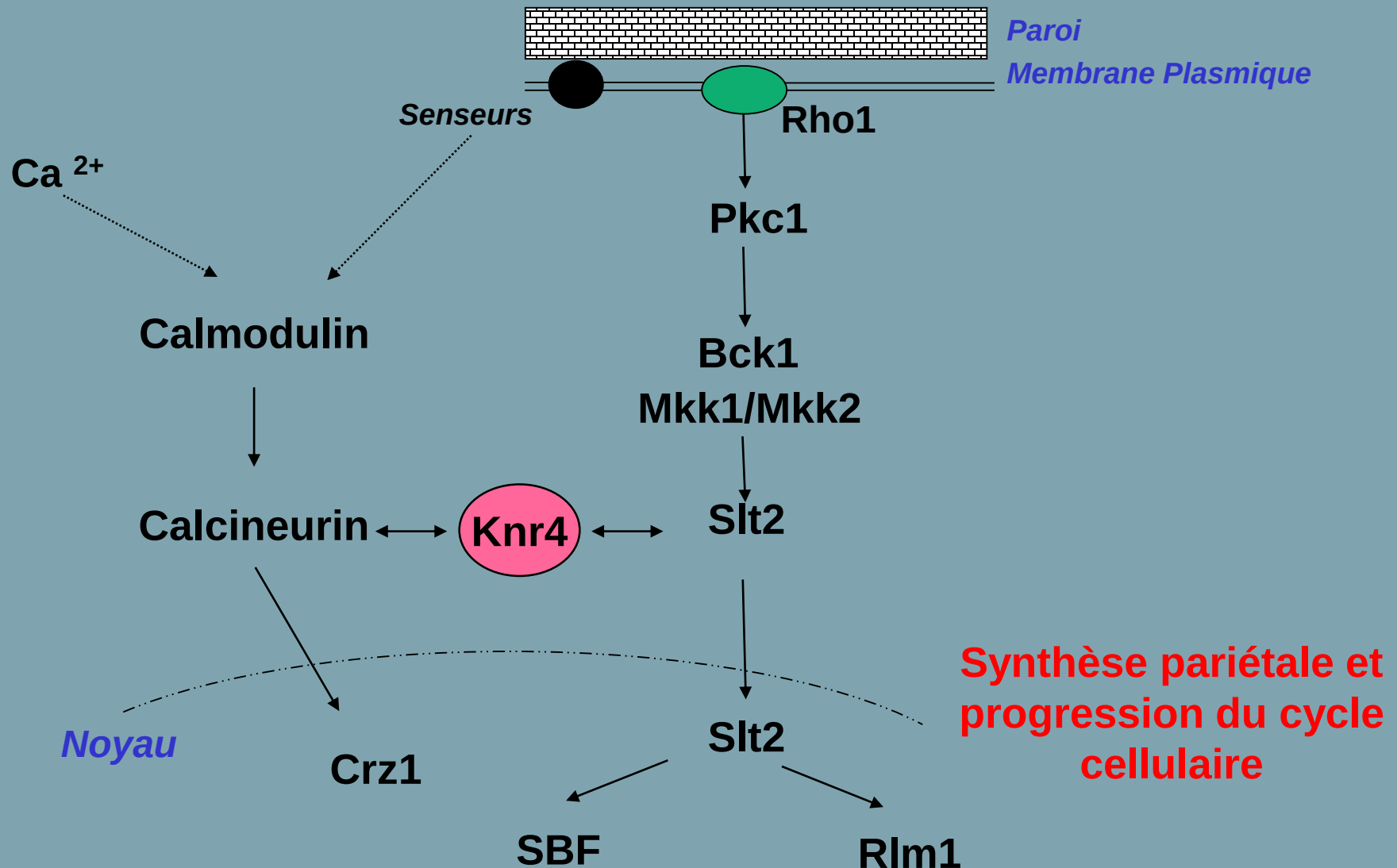


Phéromone α , 2 heures



Phéromone α , 3 heures...

Knr4 coordonne les deux voies majeures de signalisation cellulaire du stress pariétal



Introduction

La paroi chez *S. cerevisiae* : morphologie, rôles, architecture.

Les acteurs de la Morphogenèse :

Cytosquelette : actine, septines.

Le polarisome

Signalisation cellulaire en réponse aux stress

Le Mécanisme de compensation

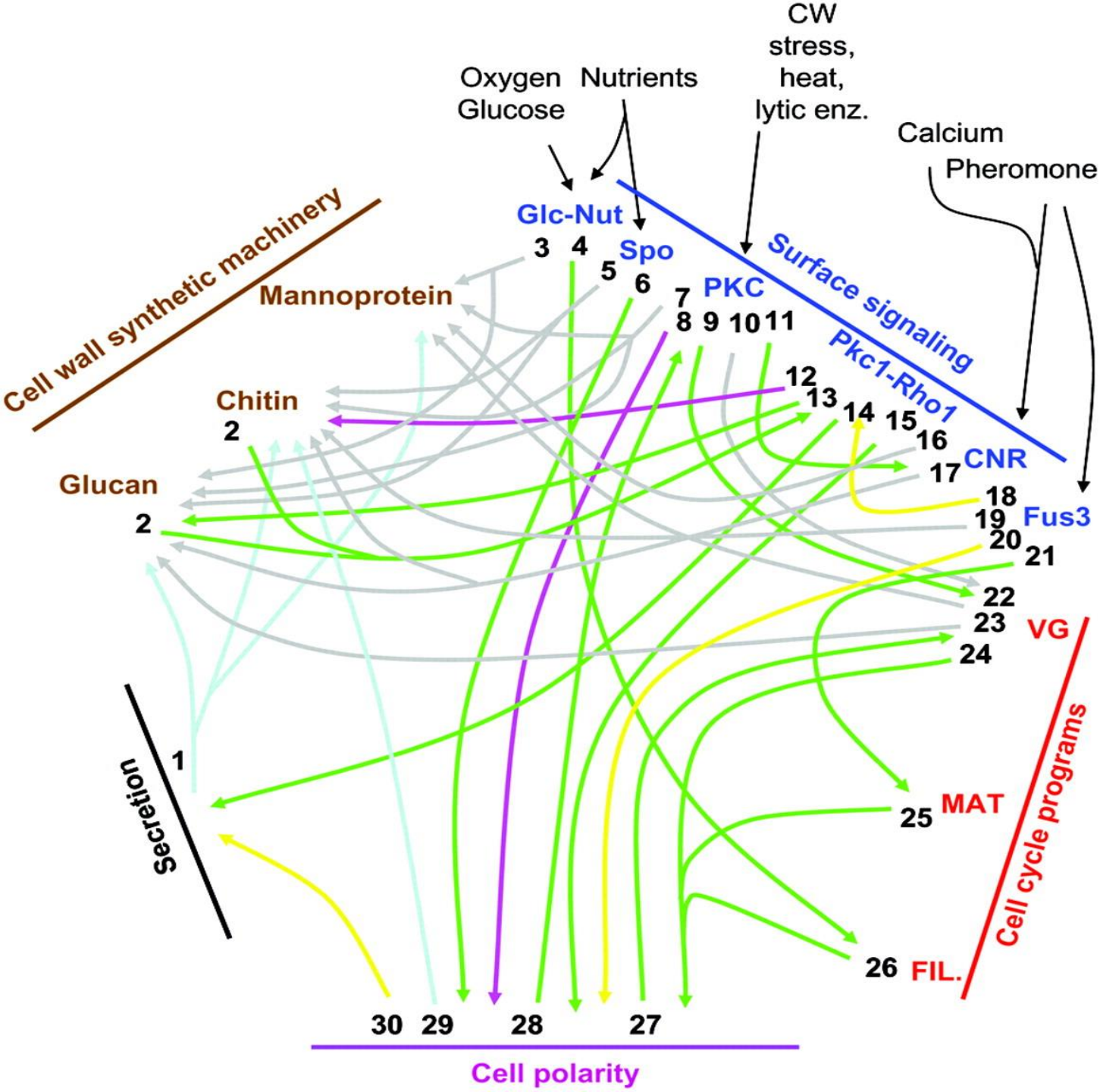
La voie CWI (Cell Wall Integrity)

La voie de la Calcineurine

Le “Morphogenesis Checkpoint”

Un cas particulier : la protéine Knr4

Vue Intégrative



(Lesage and Bussey, 2006, Microbiology and Molecular Biology Reviews 70 (2) 317.)



Merci de votre attention...

***Merci au Pr. J-M. François,
à A. Dagkessamanskaia,
et à N. Dallies, B. Aguilar-Uscanga, A. Lagorce, F. Basmaji, F.
Durand et K. El Azzouzi.***