

Imagerie et nanosciences dans l'étude des cellules nerveuses

Imagerie et nanosciences dans l'étude des cellules nerveuses

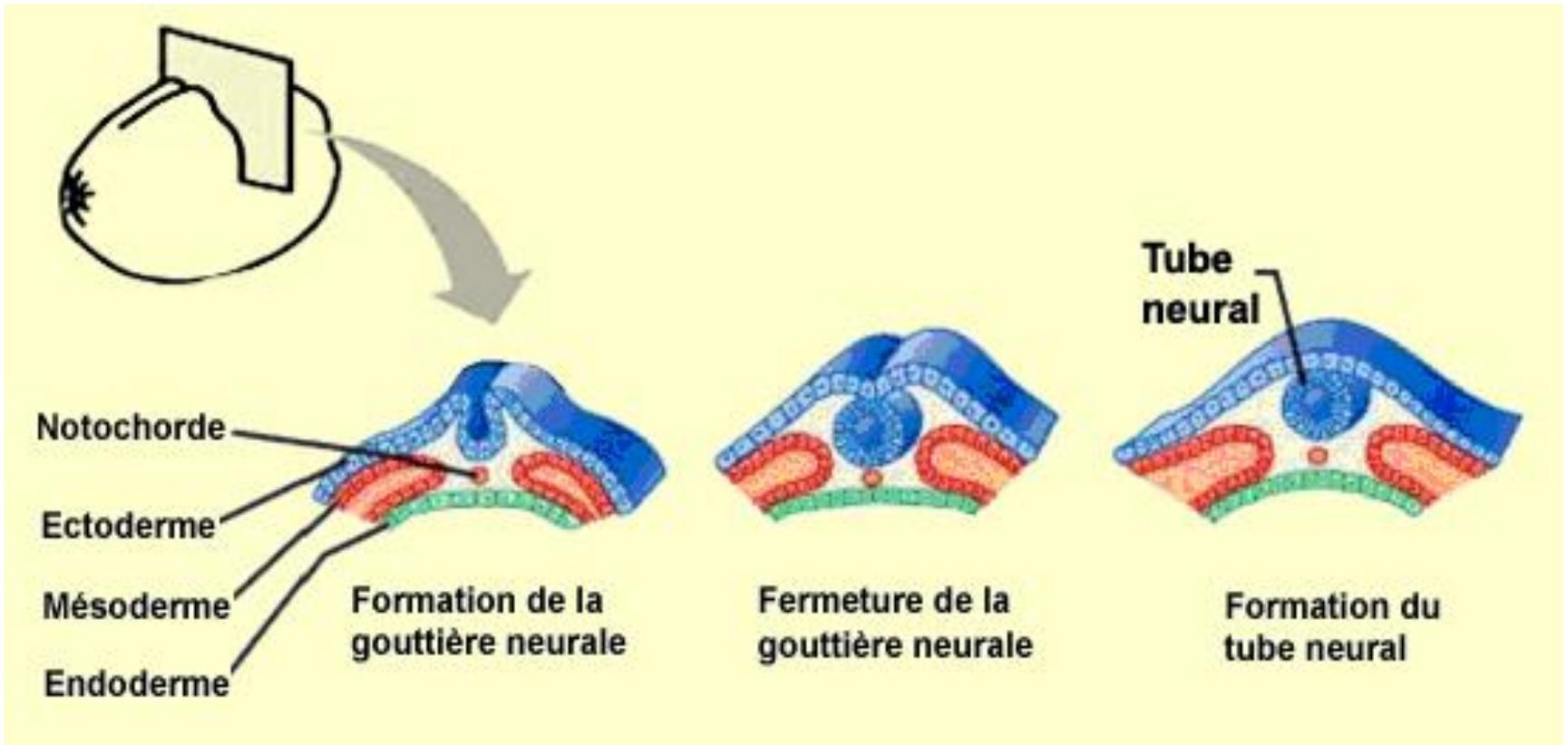
- Introduction
- 1/ Principes de croissance active des neurones
- 2/ Barriere de diffusion du segment initiale de l'axone
- Conclusion

Mise en place du Systeme nerveux

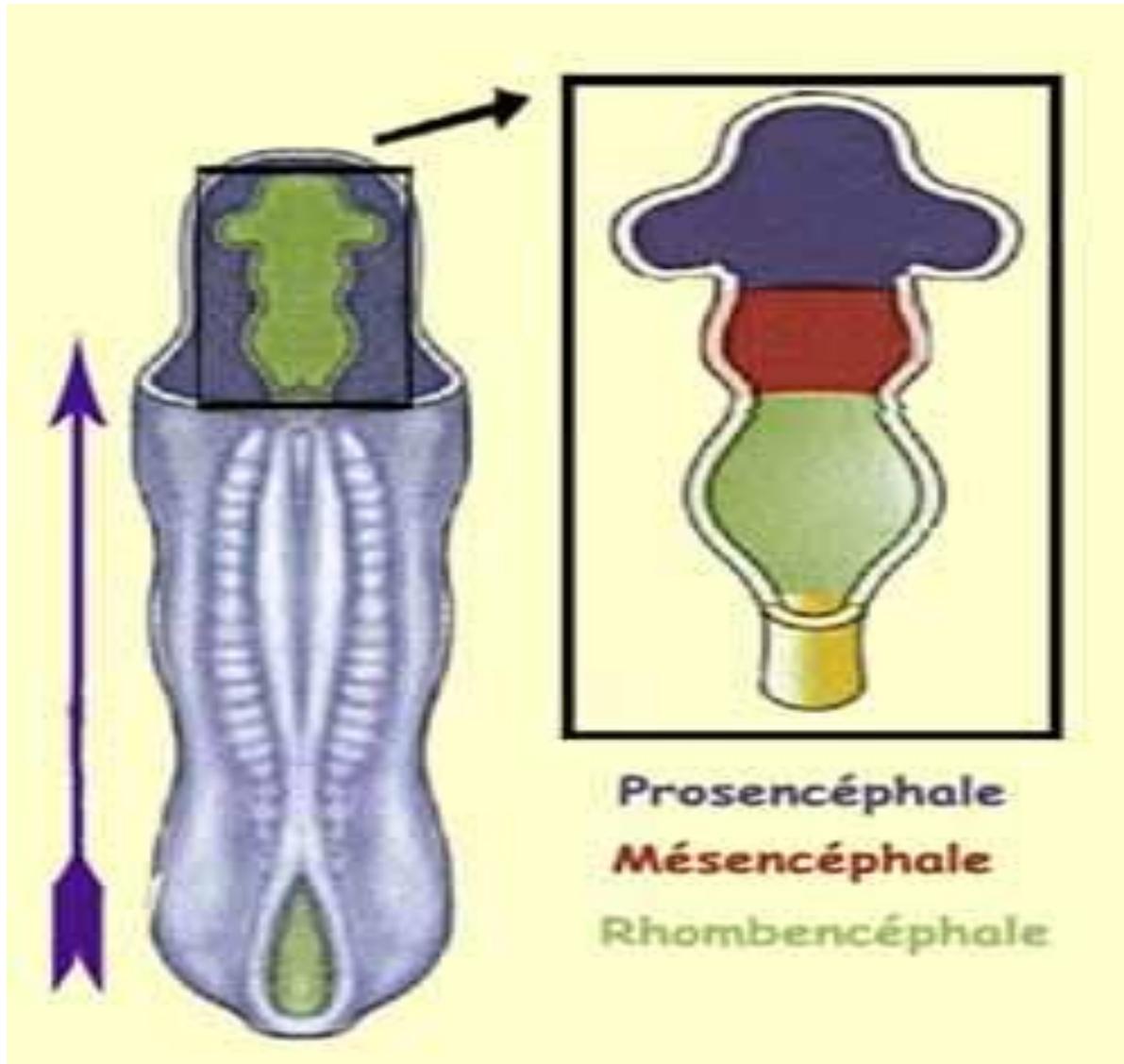


Embryon pendant la Gastrulation :
Semaine 3

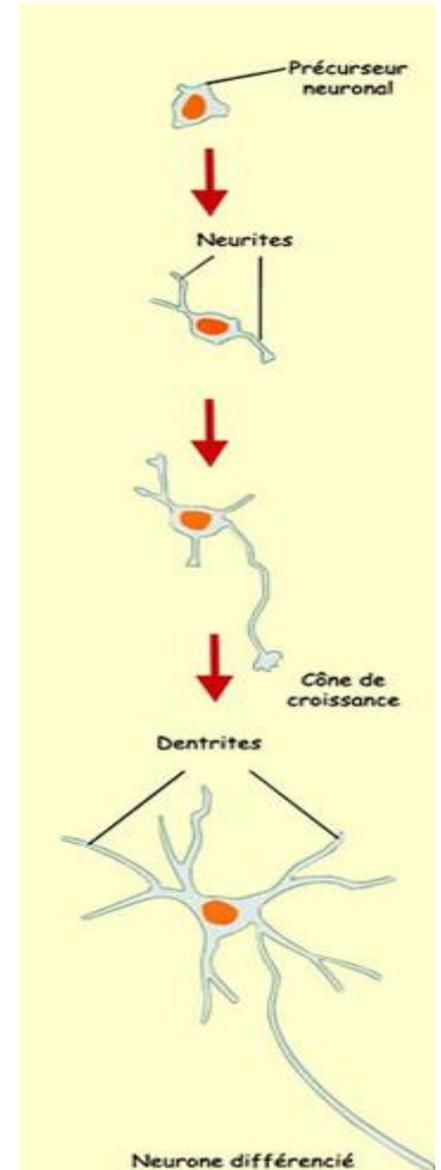
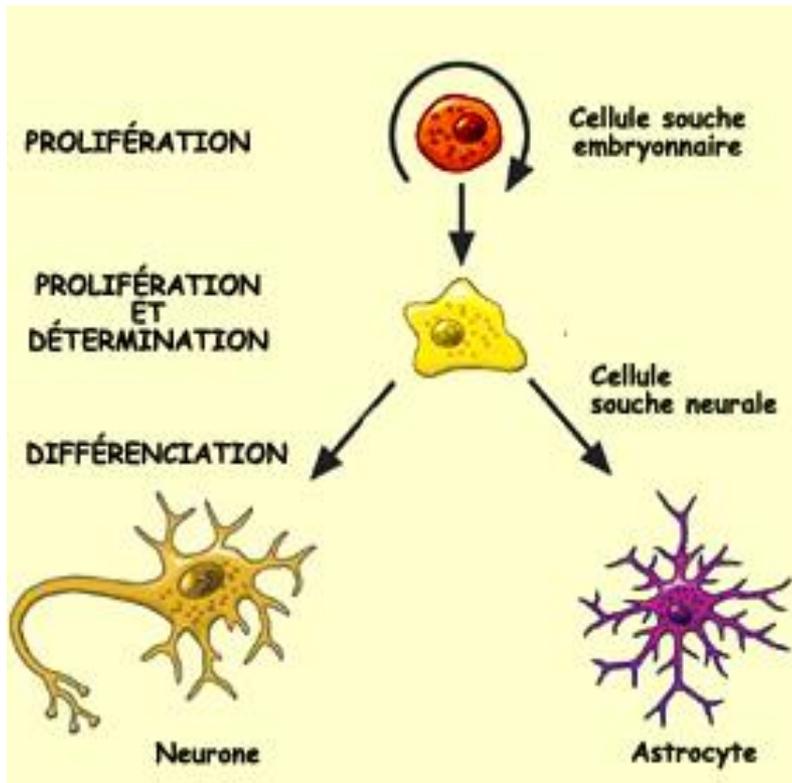
Formation du tube neurale



Formation de l'encéphale



Naissance et différenciation



Naissance et différenciation

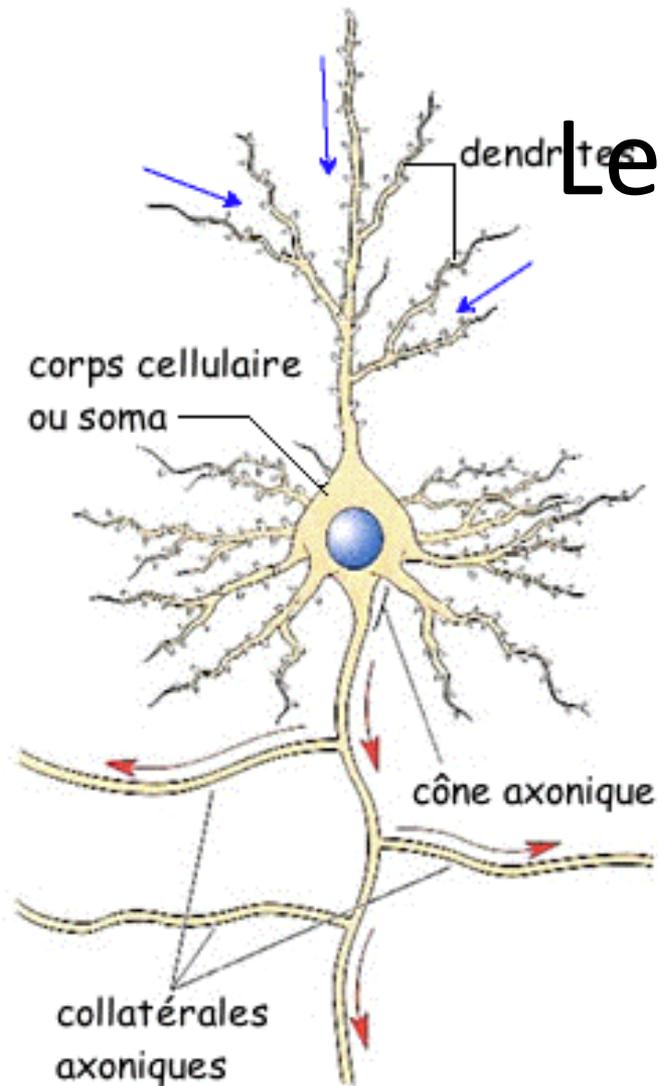
- 7 semaines
- (fin de



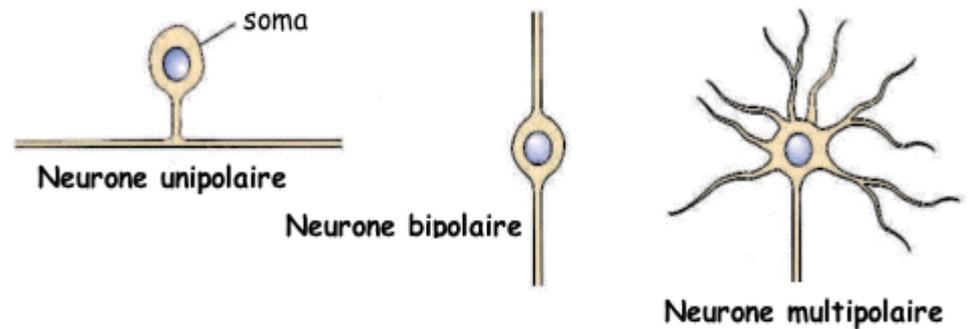
- 12 semaines
- (il entend, il rêve)



Le neurone en dessin

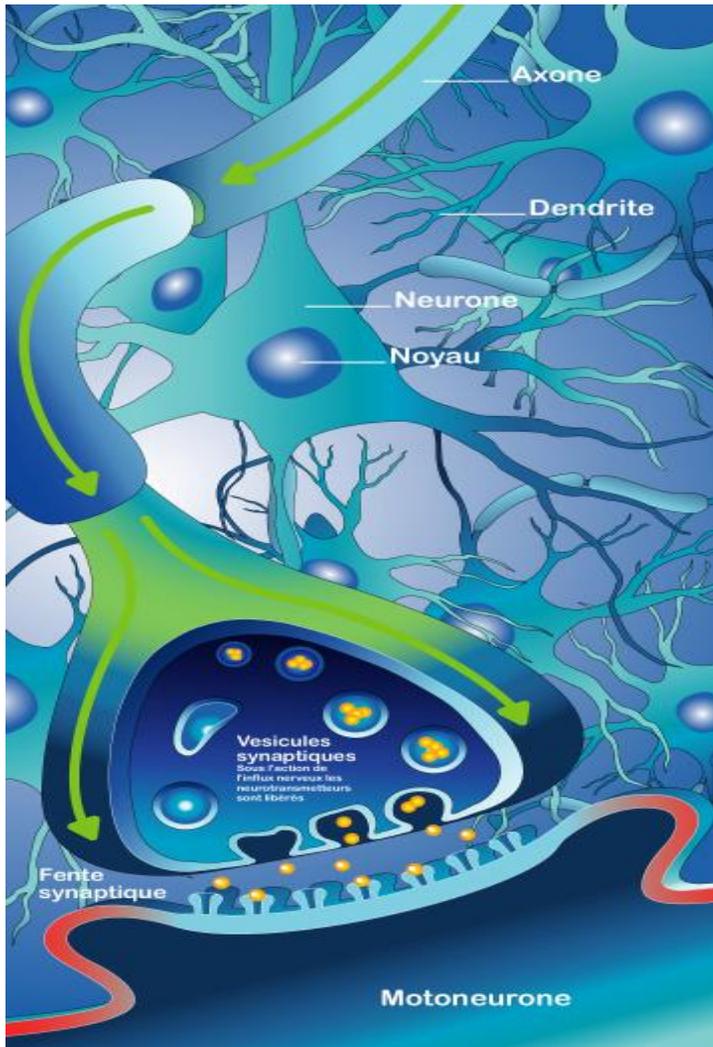


LES PROLONGEMENTS CYTOPLASMIQUES DU NEURONE



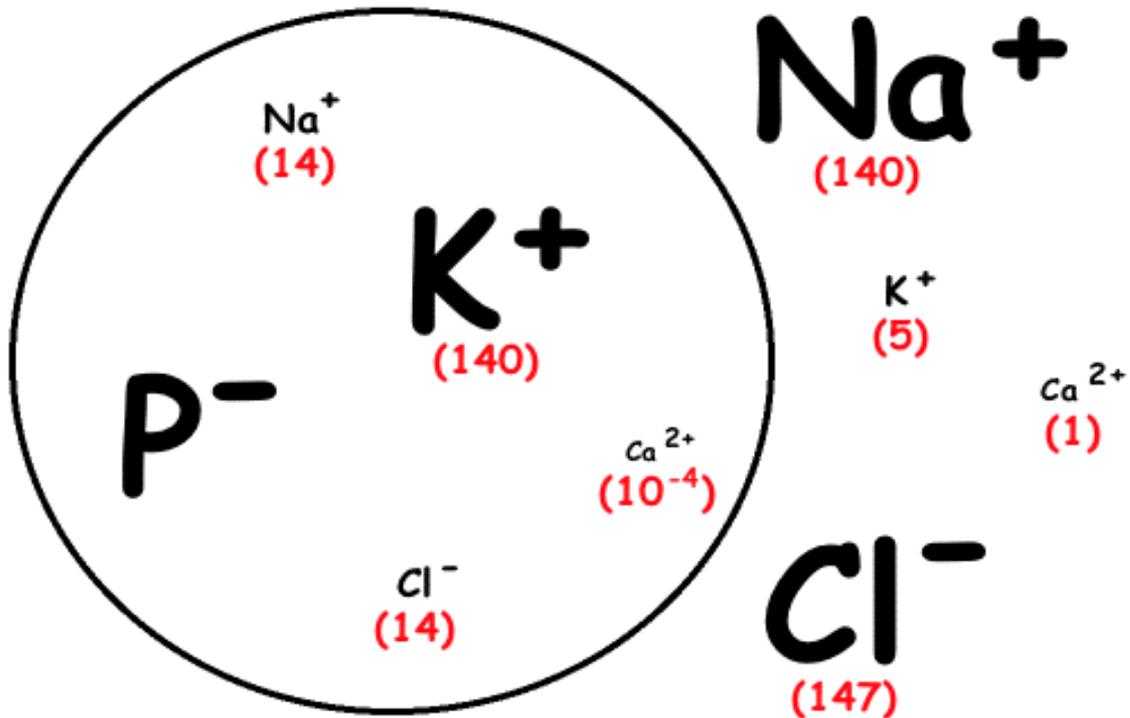
CLASSIFICATION DES NEURONES SUR LA BASE DU NOMBRE DE LEURS PROLONGEMENTS CYTOPLASMIQUES

Plasticité cérébrale



- Pendant l'enfance
- Apprentissage
- Mémoire
- Retrouver des fonctions manquantes (lésions)
- Les neurones sont créés par l'hippocampe
- Mais meurent si non stimulés
- => Exercice cognitif

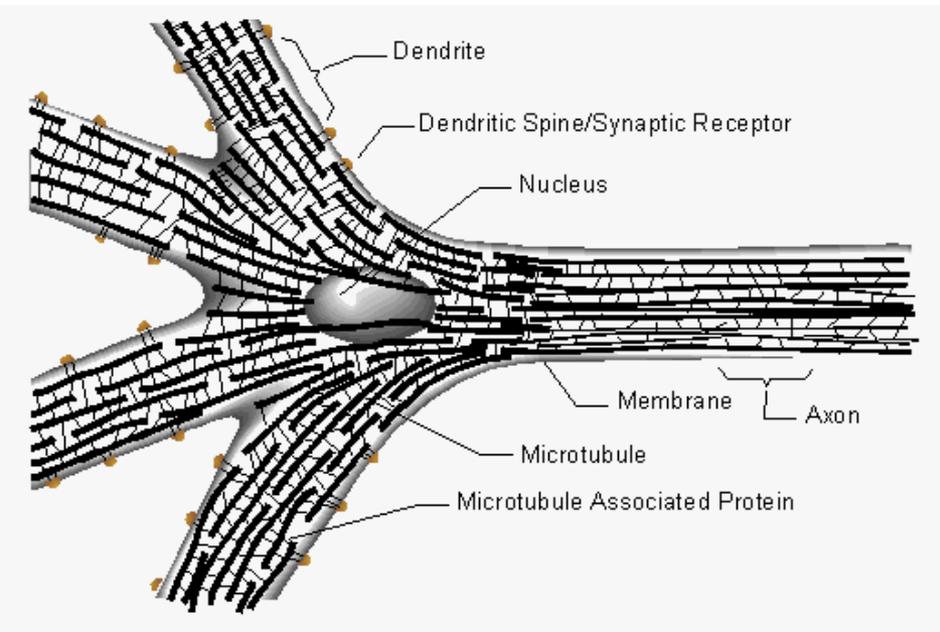
Le neurone au repos



DISTRIBUTION IONIQUE DE PART ET D'AUTRE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE (en mmole.L⁻¹)

- Electroneutralité
- Equilibre Osmotique
- Pompe à sodium
- => polarisation

Microtubules

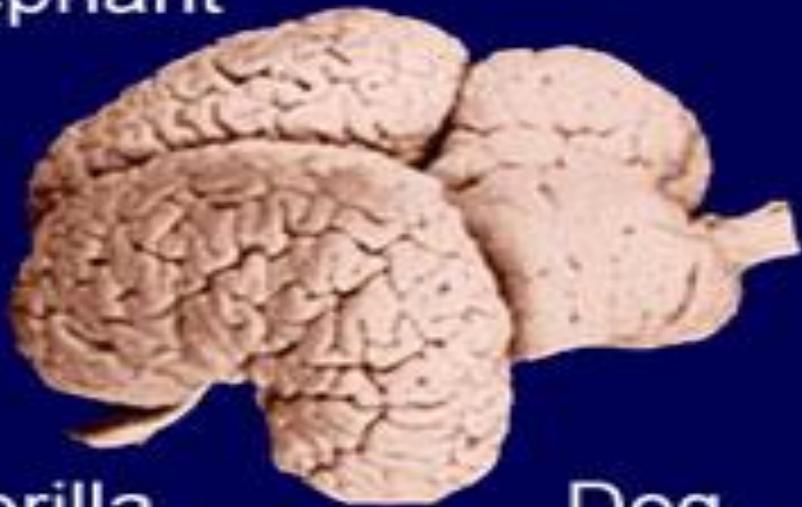
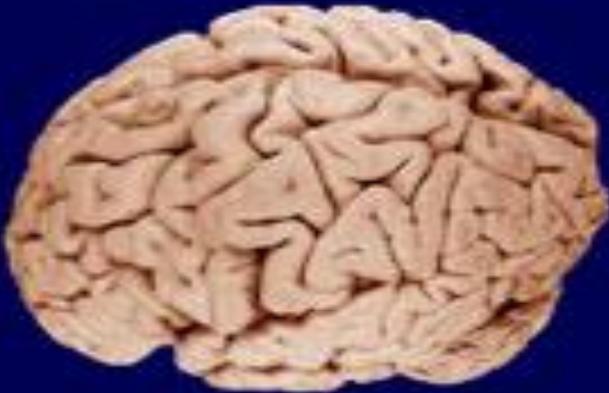


* Les kinésines transportent vers l'extrémité positive (+), on parle de transport antérograde.

* Les dynéines transportent vers l'extrémité négative (-), il s'agit d'un transport rétrograde.

Human

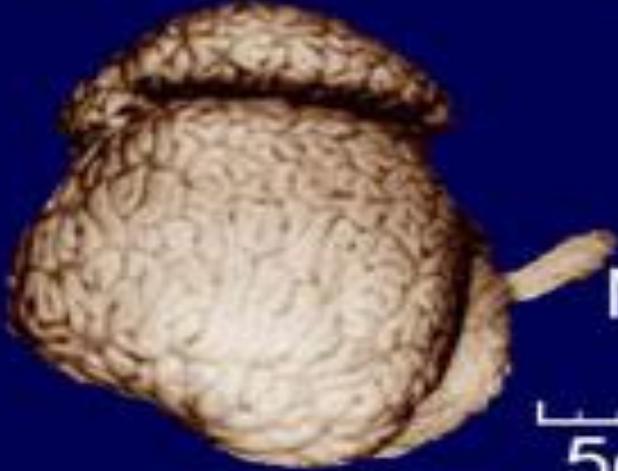
Elephant



Dolphin

Gorilla

Dog



Cat

Macaque



5cm



Mouse

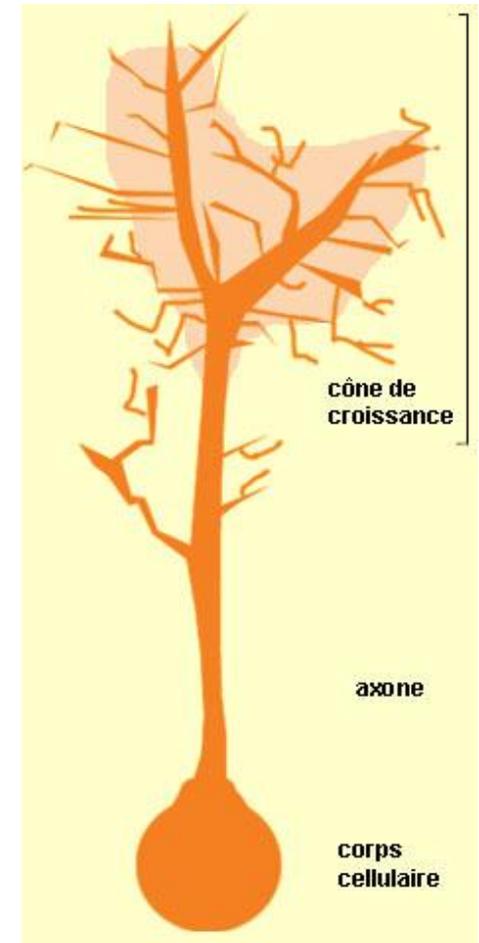


Les mécanisme de la croissance de l'axone

Cône de croissance sensible à de petites variations de concentration de chemo-attracteur.

Dans l'axone et le cône: cytosquelette constitué de microtubule qui s'alignent.

Mécanisme: permet aux neurones d'atteindre leurs cellules cibles



Distribution asymétrique des GABA-récepteurs en présence d'un gradient de GABA.

La sensibilité des cônes de croissance.

Analyse de l'imagerie reposant sur l'utilisation des boîtes quantiques

Objectifs de l'étude

- I. Mise en évidence d'une redistribution asymétrique des récepteurs à GABA dans les cône de croissance
- II. Mise en évidence des spécificités du mécanisme
- III. Modèle d'amplification du gradient de GABA dans les cône de croissance

1^{ère} expérience réalisée:

- Cône de croissance en présence d'un gradient en concentration de GABA.
- Utilisation des boîtes quantiques pour marquer et tracer les récepteurs à GABA.

Résultat:

- Cône de croissance se tourne vers le gradient de concentration (20 min)
- GABA_r dans le cône s'accumule du côté du gradient (10 min)

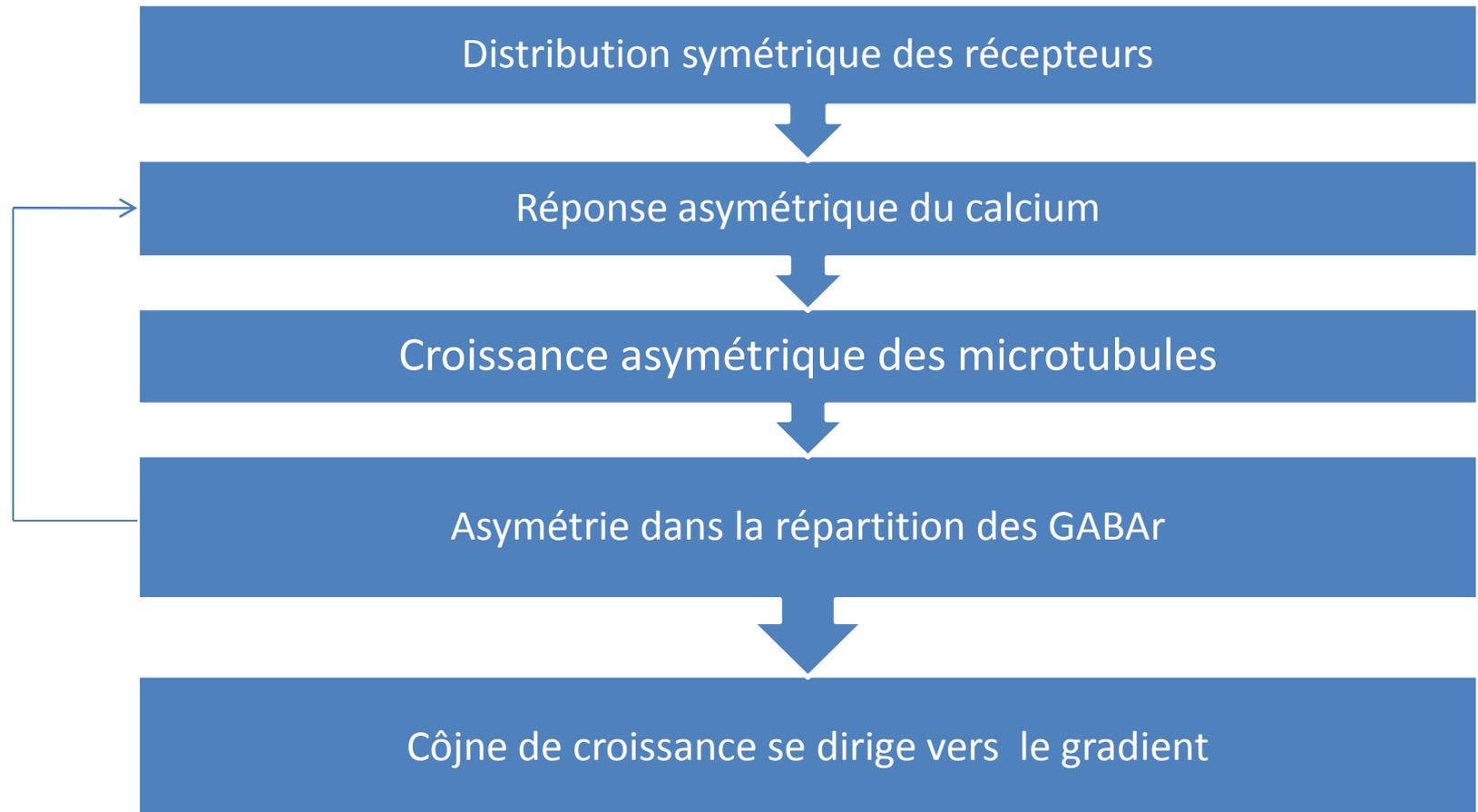
II. Mise en évidence des spécificités du mécanisme

- Pas d'asymétries pour les molécules à la surface -> mouvement vient d'un flux dans la membrane
- Pas d'asymétrie si le calcium ou les MT ont été désactivés.
- GABA_r : -réponse positive pour gradient d'un chemo-attracteur et d'un bain de GABA
 - pas de réponse lorsque les GABA_r sont désactivés

- Etude des mouvements des GABA_AR:
 - pas de gradient: alternance entre des mouvements de diffusion et des mouvements dirigés (vitesse= vitesse d'élongation des microtubules)
 - pas de mouvements dirigés lorsque les microtubule sont inactifs
 - >GABA_AR se lie aux microtubules

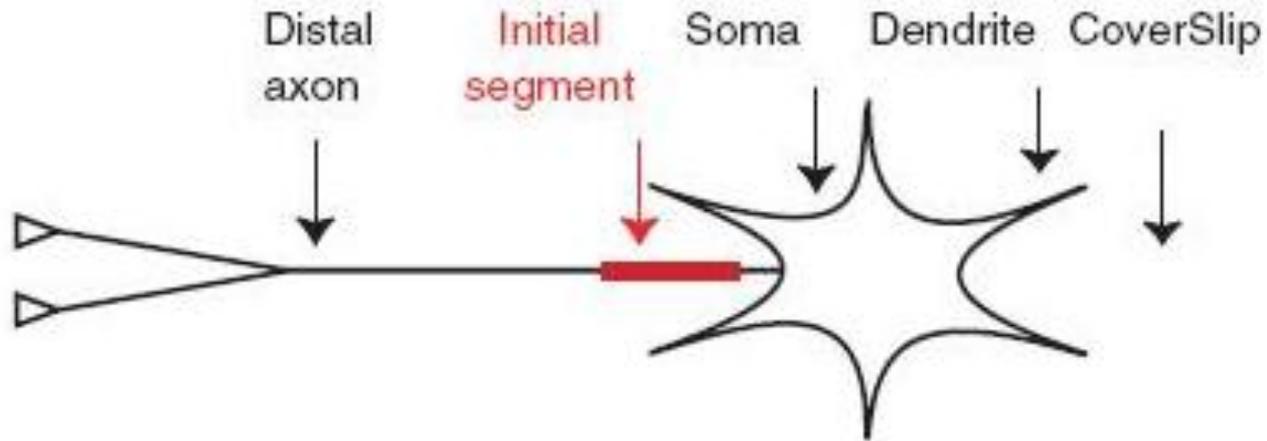
- Présence du gradient: même alternance entre mouvement brownien et mouvement dirigé.
Accumulation des GABA_R du côté du gradient.
- Méthode de mesure du ratio de fluorescence:
concentration de calcium
deux vagues d'augmentation de l'asymétrie
t=5min et t=11min

III. Modèle d'amplification du gradient de GABA dans les cône de croissance



Accumulation of anchored proteins forms membrane diffusion barriers during neuronal polarization

Chieko Nakada¹, Kenneth Ritchie^{1,2}, Yuichi Oba³, Mitsuhiro Nakamura^{3,5}, Yoko Hotta¹, Ryota Iino^{1,6}, Rinshi S. Kasai², Kazuhiko Yamaguchi⁴, Takahiro Fujiwara¹ and Akihiro Kusumi^{1,2,7}



Différentes partie d'un neurone

- Des protéines membranaires différentes dans le domaine somatodentritique et l'axone.
- Pas de mélange
- Pourquoi ?

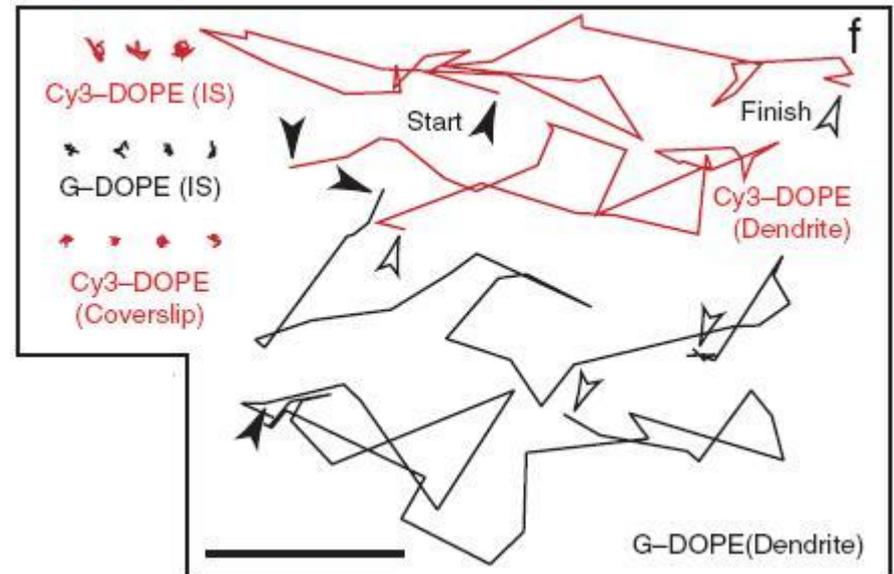
Objectifs

- I. Montrer l'existence d'une barrière de diffusion dans la membrane de l'IS (segment initial de l'axone)
- II. Comprendre à quel stade du développement cellulaire elle se forme
- III. Comprendre son fonctionnement

I Existence d'une Barrière de Diffusion

- Molécule de phospholipide rendue fluorescente (Cy3-DOPE) introduite dans la membrane

Trajectoires de molécules de DOPE dans différentes zones d'un neurone de 11 jours

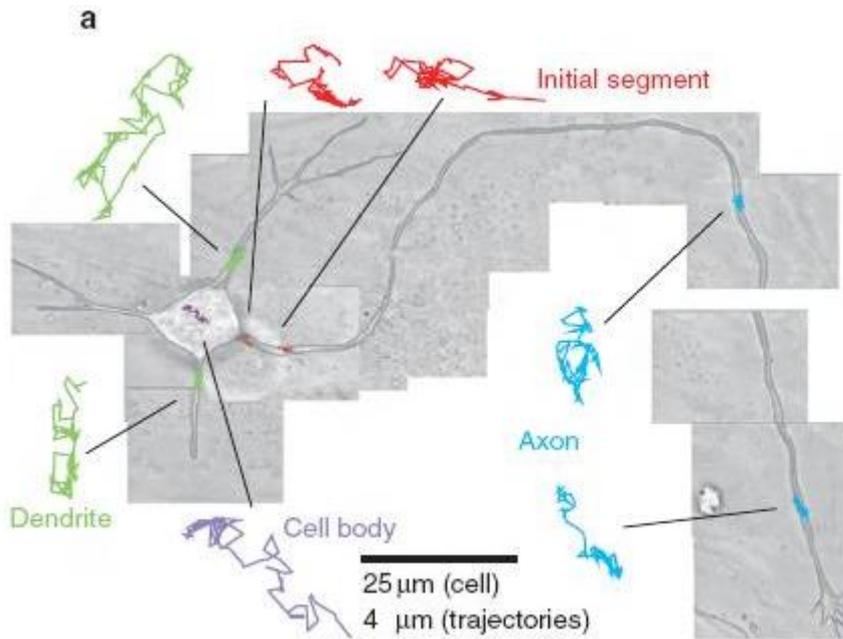


=>Trajectoire restreinte dans l'IS membrane par rapport au reste de la cellule

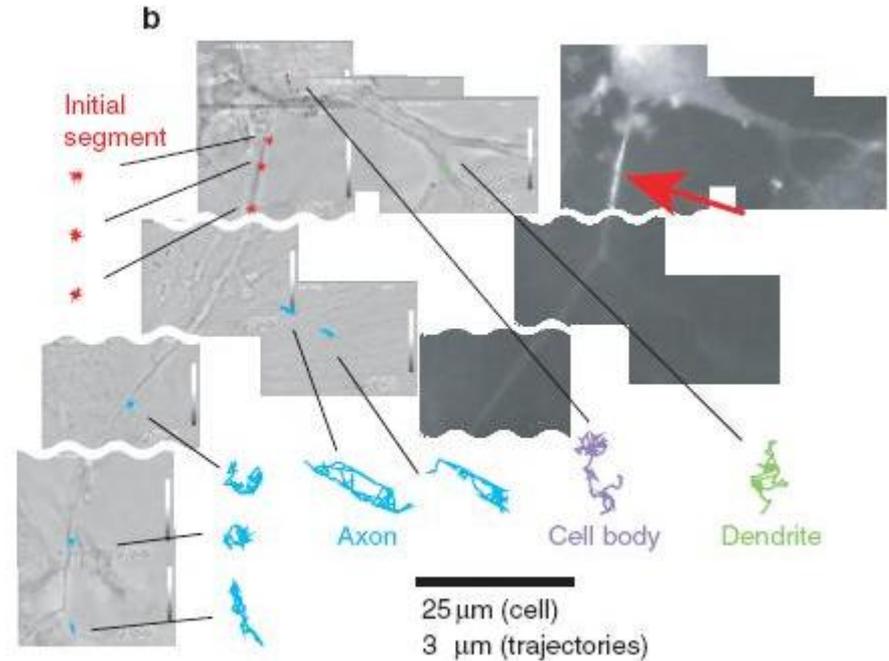
- Coefficients de diffusion D dans une cellule âgée de 10 jours :
 - $3,3 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ dans la membrane de l'IS.
 - $0,2 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ dans d'autres zones de la cellule
- => Diffusion supprimée dans la membrane de l'IS à ce stade du développement cellulaire

II Développement Cellulaire et Barrière de Diffusion

- *Trajectoire de molécules de DOPE dans différentes zones de la cellule*

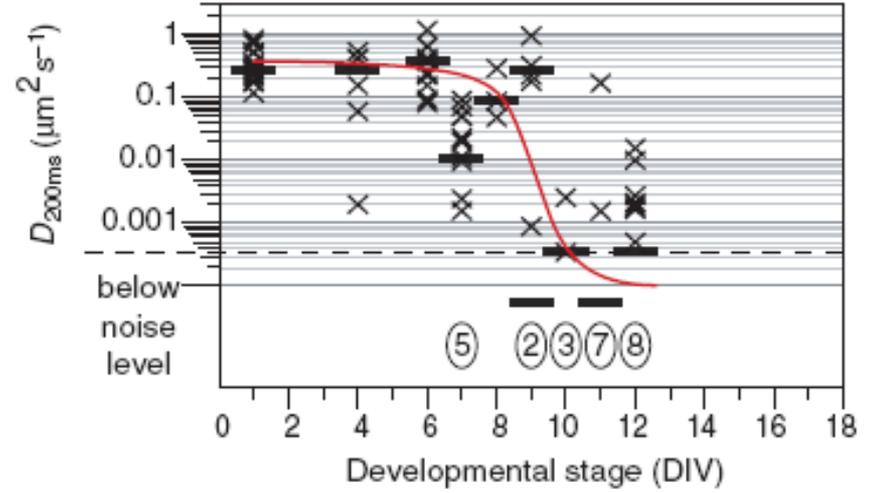
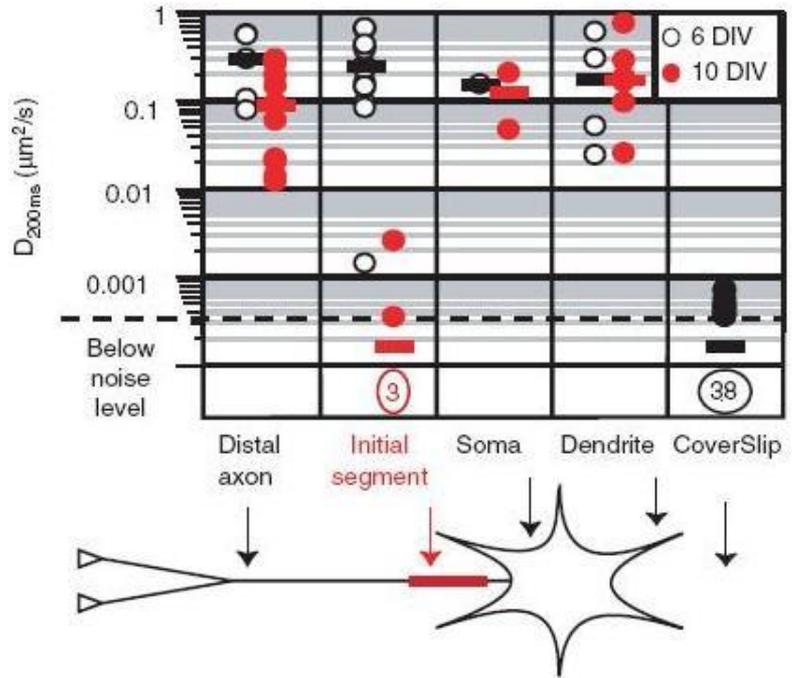


Neurone âgé de 1 jour



Neurone âgé de 10 jours

c



Valeurs des coefficients de diffusion dans différentes zones de neurones âgés de 6 et 10 jours
IS : $D \rightarrow D/800$
Autres zones : $D \rightarrow D/2$ ou $D/3$

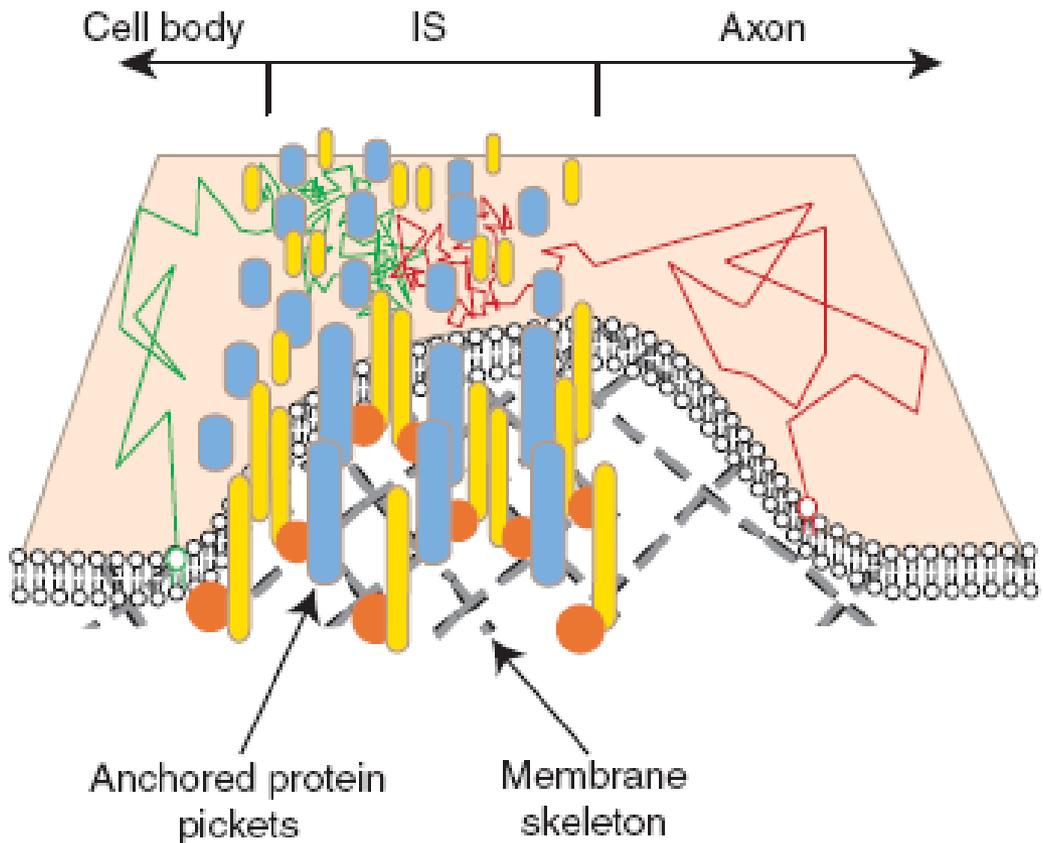
Evolution du coefficient de diffusion de la membrane de l'IS au cours du développement cellulaire

=> Barrière de diffusion formée entre le sixième et le dixième jour du développement cellulaire

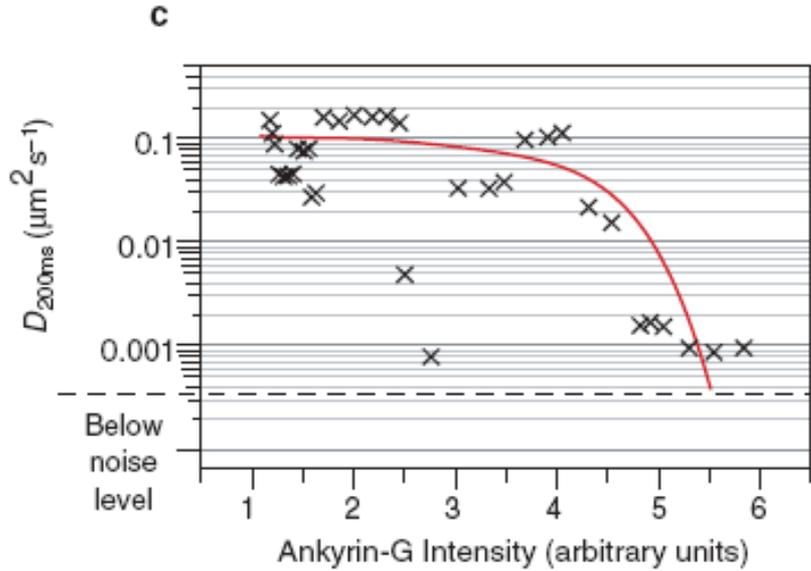
III Mécanismes de la barrière de diffusion

« Membrane-skeleton-anchored protein picket model » :

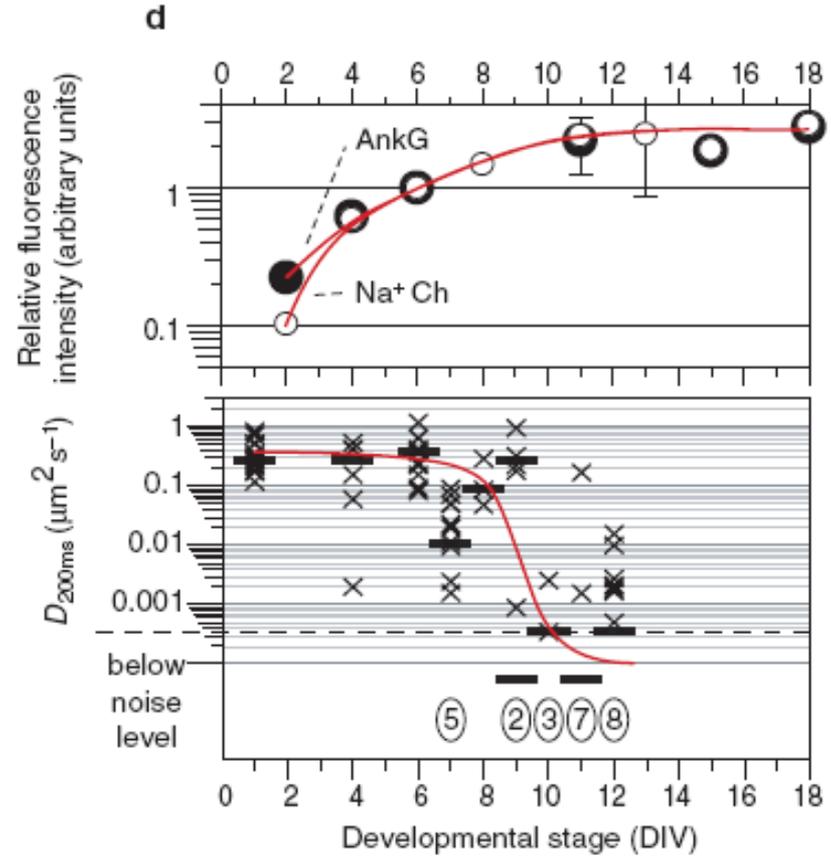
Différentes protéines transmembranaires ancrées au squelette de la membrane agissent comme des rangées de piquets s'opposant à la diffusion libre des phospholipides.



Principaux composants du squelette de la membrane : actin et ankyrin-G



Evolution du coefficient de diffusion avec la concentration d'Ankyrin-G



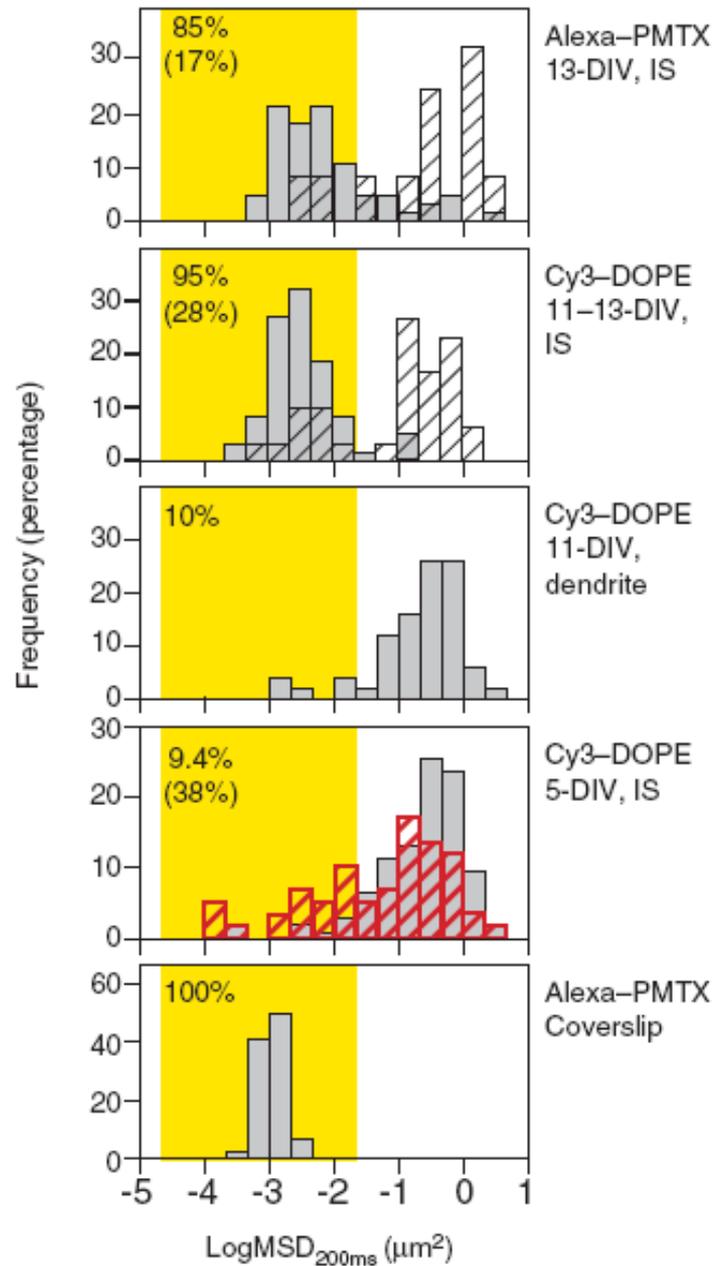
Evolutions du coefficient de diffusion de la membrane de l'IS et des concentrations en Ankyrin-G et en canaux sodium au cours du développement cellulaire

- Dépolymérisation partielle de la f-actin (treizième jour)
=> diminution de la proportion de molécules immobiles (canaux sodium et DOPE)
 - Stabilisation (cinquième jour)
=> effet inverse
- => Squelette de la membrane à l'origine d'une barrière de diffusion dans la membrane de l'IS

Percentage immobile

( : 1.7 μ M LatA, 2–5 min)

( : 0.5 μ M Jasplakinolide, 6–8 min)



*Proportions de molécules
immobiles*

- Un rôle essentiel dans le fonctionnement du cerveau
- Un phénomène qui apparaît dans d'autres types de cellules