



Emmanuel Farge

Chef d'équipe

emmanuel.farge@curie.fr

Tél : +33 1 56 24 67 60

**Le groupe « Mécanique et Génétique du Développement Embryonnaire et Tumoral » étudie le rôle des contraintes et déformations mécaniques des structures biologiques à l'échelle macroscopique cellulaire et multi-cellulaire, dans la régulation et la génération de processus biologiques actifs microscopiques à l'échelle moléculaire, incluant l'activation de moteurs moléculaires ou l'expression génique, *in vivo*. Le groupe se focalise sur le couplage entre contraintes mécaniques et signalisation biochimique en biologie du développement embryonnaire et tumoral.**

Nos travaux vont de la modulation mécanique de l'endocytose de protéines de signalisation comme processus sous-jacent de mécanotransduction régulateur de la trans-différentiation cellulaire (2002), à son rôle comme signal mécanique d'activation de l'invagination du mésoderme dans l'embryon de *Drosophila* (2009, 2017).

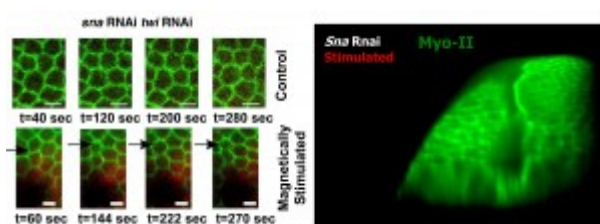
Ils sont aussi basés sur notre découverte de la mécano-sensibilité de la voie  $\beta$ -caténine, impliquée dans l'induction mécanique de la différenciation précoce de l'endoderme antérieur de l'embryon de *Drosophila* (2003-2008), comme dans la possible origine évolutive de l'émergence du mésoderme dans le dernier ancêtre commun des bilatériens (2013), un processus réactivé de façon anormale comme signal tumorigène dans les cellules saines comprimées par la pression de croissance tumorale, *in vivo* (2015).

De nos recherches les plus récentes à nos premières recherches :

**La gastrulation est activée mécanotransductionnellement par de faibles fluctuations de forme cellulaires embryonnaires.**

La gastrulation consiste en la formation de larges domaines de tissus qui internalisent l'embryon précoce souvent sous forme de tubes, et qui vont constituer les organes internes de l'animal adulte, tels que le tube digestif, ou encore le cœur, les muscles ou les reins et les poumons pour les organismes les plus complexes. Dans l'embryon de *Drosophile*, le premier de ces tubes, le mésoderme, donnera naissance à tous les organes internes de l'organisme adulte, excepté le tube digestif. Il se forme grâce à la stabilisation apicale (à la surface cellulaire extérieur de l'embryon) du moteur moléculaire Myo-II, ayant pour fonction de contracter la surface externe du tissu, et par là même d'induire la courbure du tissu vers l'intérieur pour former le tube de tissu interne mésodermale. Cette contraction se fait en deux temps. Dans un premier temps, les cellules contractent de façon erratique et instable, du fait de l'arrivée erratique et instable de spots de Myo-II sur les apex cellulaires. Puis, elles se contractent de façon stable et coordonnée, du fait de la stabilisation des spots de Myo-II qui arrivent progressivement sur les apex cellulaires.

Nous avons montré que les contraintes mécaniques développées par les fluctuations de forme cellulaires activent la stabilisation apicale de la Myo-II, donc déclenchent le processus actif d'invagination du mésoderme (*Mitrossilis et al, Nature Communications 2017*).



**Figure 1 : Mimer magnétiquement les pulsations cellulaires dans un embryon défective rétablit l'invagination du mésoderme. A gauche** - les pulsations magnétiquement induites (en bas) dans le tissu mutant qui ne pulse pas (en haut) provoquent **A droite** - l'invagination active du mésoderme dans un mutant qui est bien connu pour ne pas invaginer.

Pour ce faire, nous avons utilisé un mutant dont les cellules du mésoderme ne fluctuent plus, et ne montre de fait plus d'activation de l'invagination du mésoderme. Nous y avons mimé les fluctuations de forme des apex cellulaires dont l'amplitude est de l'ordre de 500 nanomètres seulement, par voie magnétique. En effet, nous avons injecté dans les cellules du mésoderme des liposomes magnétiques et avons approché à quelques petits microns un réseau de micro-aimants dont la taille individuelle, de 10 microns, est de l'ordre de la taille des cellules individuelles. Le champ magnétique local de ces micro-aimants ayant la particularité d'être modulable dans le temps, nous avons fait osciller les champs magnétiques micrométriques locaux, de telle sorte que les apex des cellules se mettent à pulser, exactement comme dans l'embryon non muté (Figure 1-gauche). En réponse à cette stimulation mécanique, nous avons observé la stabilisation apicale de la Myo-II et le déclenchement de l'invagination du mésoderme (Figure 1-droite). Cette stimulation se fait par l'activation mécanique de réactions biochimiques, que nous avons identifié comme étant l'activation de la voie de signalisation Fog.

Qui plus est, nous avons montré, par voie magnétique encore, que les déformations

mécaniques, cette fois provoquées par l'invagination du mésoderme sur les cellules de l'endoderme du pôle postérieur de l'embryon (futur tube gastrique postérieur de l'embryon), y déclenchent la stabilisation apicale de la Myo-II et initient la formation du tube gastrique.

**Les contraintes mécaniques de la gastrulation provoquent l'ouverture du site Y654 de la bêta-caténine, site majeur d'interaction avec la E-cadhérine,** initiant sa phosphorylation par Src42A puis l'activation de la voie de transduction menant à l'expression des gènes cibles de bêta-caténine, comme *twist*.

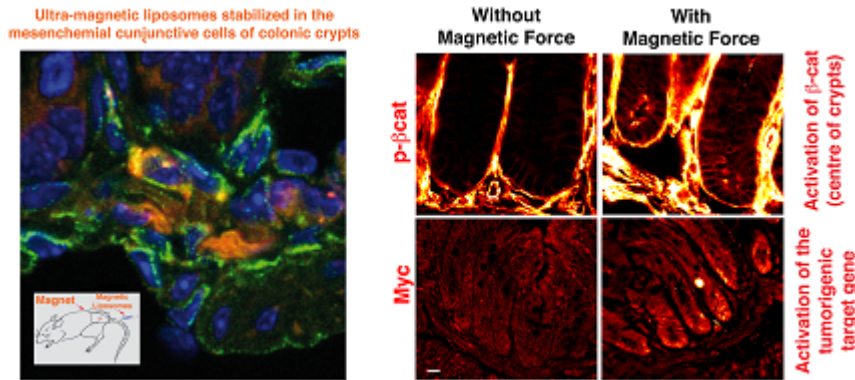


**Figure 2. a** Simulation du complexe *b-cat-E-cad* sous contrainte mécanique de 6pN. **b** Application d'une contrainte mécanique mimant l'initiation de l'invagination du mésoderme par voie magnétique sur un embryon déficient en gastrulation (*sna- twi-*) et observation de la dilatation de 1nm autour du site Y654 *b-cat* par transfert de fluorescence entre les alpha-hélices de *b-cat* et *E-cad* connectées par le site. **c** Augmentation de l'accessibilité au site Y654 sous les contraintes de l'invagination par l'anticorps Y654- $\beta$ -*cat*.

Les simulations prédisent en effet que sous l'effet d'une force de 6pN, les deux alpha-hélices connectées par l'interaction Y654-*b-cat* et D665-*E-cad* se dilatent de 1nm, et que le site Y654 a 15% de chance de s'ouvrir (Fig.2a). Une telle dilatation été confirmée quantitativement expérimentalement en FLIM en réponse à l'invagination du mésoderme (non montré) ou aux contraintes mécaniques associées, mimées par voie magnétique dans des embryons déficients en gastrulation (Fig. 2b). Le site Y654 se trouve alors en effet rendu plus accessible à son anticorps spécifique sous contrainte, de l'ordre de 20% (Fig. 2c) – et ce encore plus, de façon cohérente, en absence de Src42A responsable de sa phosphorylation sous contrainte mécanique et de son relargage dans le cytosol pour transcription. Ceci favorise son relargage des jonctions (non montré) (Röper et al, *e-LIFE* 2018), et stimule le maintien de l'expression du gène *twist* au cours de l'invagination du mésoderme (voir partie « Evo-Devo » et « Biologie du Développement » ci-dessous, Desprat et al, *Dev. Cell.* 2008, Brunet, Bouclet et al, *Nature Communications* 2013).

**Tumorigenèse : induction mécanique de la tumorigenèse dans les cellules saines comprimées, en réponse aux contraintes mécaniques développées par la croissance tumorale *in vivo*.**

Nous avons trouvé l'induction mécanique de l'activation de la  $\beta$ -caténine et de l'expression des oncogènes sous contrôle, dans l'initiation de la tumorigenèse à la fois dans le colon pré-tumoral et le colon normal de souris, en réponse à la pression de croissance tumorale *in vivo* (M-E Fernandez-Sanchez, S. Barbier et al, *Nature* 2015, – Figure 3).

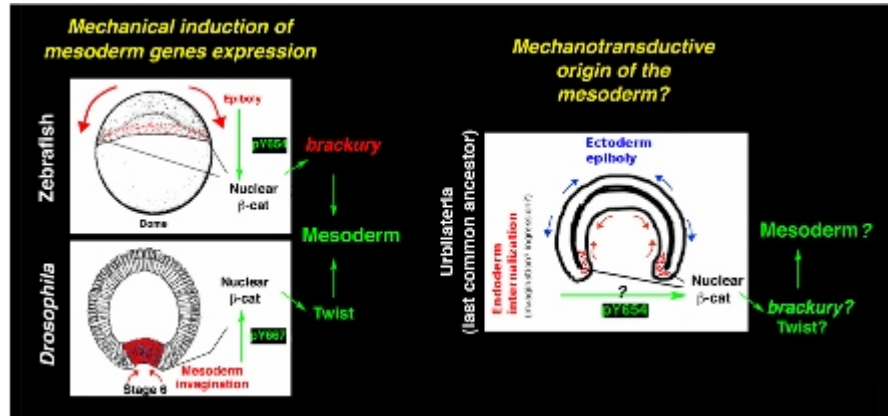


**Figure 3. Induction mécanique de la voie tumorale  $\beta$ -caténine dans les cellules épithéliales saines comprimées par la pression de croissance tumorale, in vivo. A gauche-** Insertion de liposomes ultra-magnétiques dans les cellules du tissu conjonctif des cryptes du colon (en orange), soumises à un gradient de champ magnétique, permettant de mimer la pression de croissance tumorale de 1kPa durant quelques semaines à quelques mois. **A droite-** Activation mécanique résultante, de la phosphorylation du site Y654 de la  $\beta$ -caténine (au centre des cryptes), menant à son relargage des jonctions au cytoplasme puis au noyau, puis à l'expression des oncogènes cibles comme c-Myc.

Pour ce faire, nous avons mimé la pression de croissance tumorale de 1kPa en incluant des liposomes ultra-magnétiques dans les cellules mésenchymales du tissu conjonctif des cryptes du colon, auxquels nous avons appliqué un gradient de champ magnétique par insertion d'un aimant cylindrique millimétrique en sous-cutané face au colon. Cette contrainte a mené à l'activation de la phosphorylation du site Y654 d'un pool de  $\beta$ -caténine inducteur de son relargage des jonctions vers le cytoplasme. Elle a de plus mené à la phosphorylation du site Ser9 de la GSK3b permettant la translocation de la  $\beta$ -caténine cytoplasmique dans le noyau, puis à l'expression des gènes cibles tumoraux tels que c-Myc. Le même résultat a été observé dans les cellules des cryptes non tumorales comprimées par les cryptes tumorales hyper-prolifératives (exprimant Notch), dans un modèle de souris récapitulant le processus de progression tumorale.

**Evo-Devo : une origine évolutive mécano-transductionnelle à l'émergence du mésoderme dans le dernier ancêtre commun des animaux complexes, les bilatériens.**

Nous avons trouvé que l'activation mécanique de la voie bêta-caténine, induite de façon anormale dans le processus de développement tumoral, est une propriété ancestrale, probablement à l'origine de l'émergence de patterns de différenciation embryonnaires chez les organismes anciens, tels que l'émergence du mésoderme chez le dernier ancêtre commun des bilatériens. Nous avons en effet trouvé la conservation de l'induction mécanique de l'expression des gènes de différenciation précoce du mésoderme par le tout premier mouvement morphogénétique de l'embryogenèse, dans le poisson zèbre (vertébré) et dans la *Drosophila* (arthropode). Cette induction mécanique est initiée par l'activation mécanique de la phosphorylation du site Y654 de la bêta-caténine inhibant son interaction avec la E-cadhérine, menant à son relargage dans le cytoplasme et le noyau, puis à l'expression des gènes cibles *brackury* and *twist*, premiers gènes de différenciation précoce du mésoderme (Figure 4).

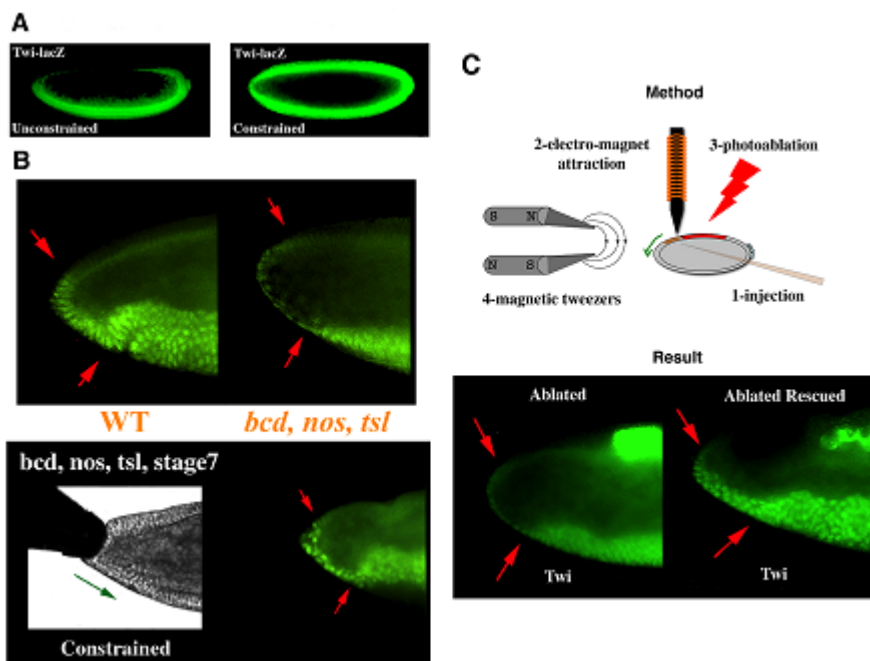


**Figure 4. Conservation de l'induction mécanique de l'expression des gènes de différenciation précoce du mésoderme : une origine mécano-transductionnelle à l'émergence du mésoderme dans le dernier ancêtre commun des bilatériens ?** **A gauche-** Induction mécanique de l'expression des tous premiers gènes de différenciation du mésoderme, *brackury*, dans le poisson zèbre, et *Twist*, dans l'embryon de *Drosophila*, induite de façon conservée par l'activation de la phosphorylation du site conservé Y654 de la beta-catenin (Y667 chez la drosophile), menant à son relargage des jonction et à sa translocation nucléaire en réponse au tout premier mouvement morphogénétique de l'embryogenèse, dans les deux espèces. **A droite-** Proposition de l'émergence mécano-transductionnelle du mésoderme en réponse au tout premier mouvement morphogénétique de l'ancêtre commun du vertébré poisson zèbre et de l'arthropode *Drosophila*, i.e dans le dernier ancêtre commun des bilatériens, il y a 570 millions d'années.

Or, l'origine évolutive de l'émergence du mésoderme reste aujourd'hui une question ouverte importante de l'Evo-Devo. Nos résultats suggèrent que la phosphorylation du site Y654 de la

béta-caténine en réponse au tout premier mouvement morphogénétique de l'embryogenèse soit à l'origine de l'émergence du mésoderme dans l'ancêtre commun des bilatériens, in y a 570 millions d'années (Boucllet, Brunet et al, Nature Comm. 2013).

**Biologie du développement: couplage mécano-génétique et mécano-protéique réciproque dans la régulation du développement embryonnaire à la gastrulation.**



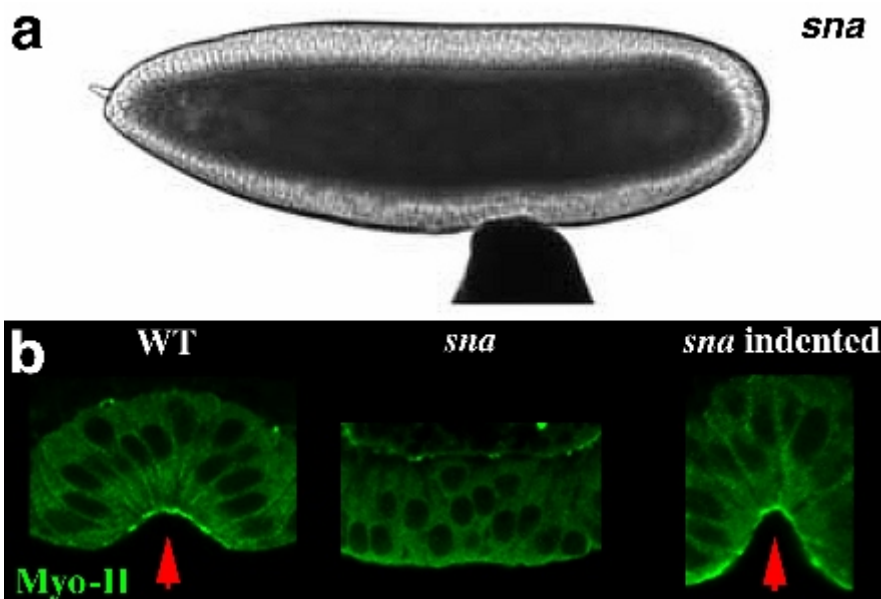
**Figure 5. Induction mécanique de Twist dans la détermination de l'endoderme antérieur précoce, en réponse au mouvement morphogénétique de convergence extension de la gastrulation dans l'embryon de Drosophile.** **A** Induction mécanique ectopique de l'expression de Twist-lacZ en réponse à la déformation uni-axiale globale de 10% de l'axe dorso-ventral de l'embryon de Drosophile. **B** Rétablissement de l'expression de Twist par indentation des cellules de l'endoderme antérieur dans un embryon mutant de *bcd, nos, tsl* déficient en convergence extension et compression de ces cellules. **C**- En haut- Schéma de l'expérience d'injection de nano-particules magnétiques pour rétablir la compression des cellules de l'endoderme antérieur, dans un embryon sauvage ablaté déficient en compression. En bas- Réactivation de l'expression de Twist dans les cellules de l'endoderme antérieur comprimée par la pince acoustique, dans l'embryon ablaté déficient en compression et expression de Twist dans ces cellules. Le fort niveau d'expression de Twist rétabli est requis et vital pour la différenciation de l'intestin antérieur de la larve de Drosophile (Desprat et al, Dev Cell, 2008).

Le développement embryonnaire consiste en la coordination de processus multi-cellulaires de différenciation cellulaire, et de morphogenèse biomécanique. Ces dernières décennies, le rôle du moteur moléculaire Myosine-II dans l'activation des processus de morphogenèse biomécanique a été caractérisé comme étroitement régulé par l'expression des gènes du développement de différenciation.

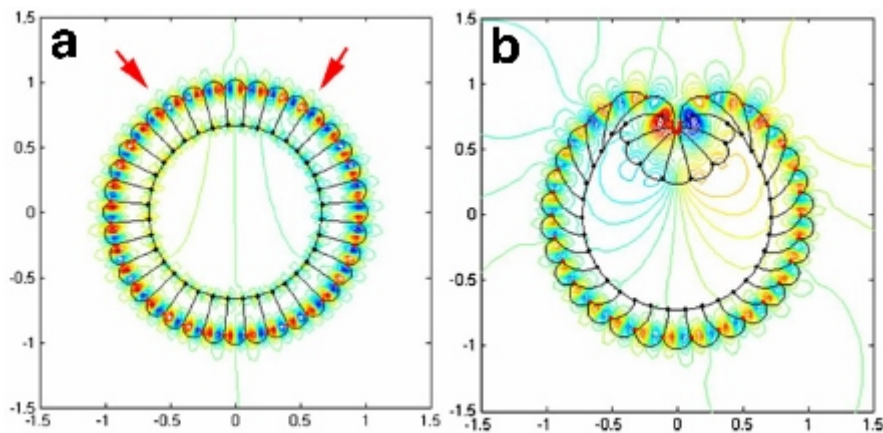
Nous avons révélé l'existence d'une régulation inverse, de l'activation de l'expression du gène de différenciation Twist (Figure 5) et de la relocalisation active de la Myosin-II (Figure 5), par les contraintes mécaniques développées par les mouvements morphogénétiques de la gastrulation. Cette régulation est générée par les processus de mécano-transduction impliquant l'activation mécanique de la beta-caténine et de la voie de

signalisation Fog (associé à l'inhibition mécanique de l'endocytose de Fog, voir paragraphe suivant), respectivement.

Nous avons utilisé les outils expérimentaux (outils biophysiques et génétiques de modulation des mouvements morphogénétiques) (Figure 5,6), comme les outils théoriques (simulations intégrant les connaissances génétiques de la régulation de la morphogenèse) (Figure 7), pour découpler les paramètres de contrôle génétiques et mécaniques, dans la régulation de l'expression de Twist et de la localisation active de la Myosine-II. En particulier, nous avons mis en place une méthode de pinces magnétiques pour évaluer et contrôler les forces physiologiques impliquées dans la morphogenèse, afin de mimer les mouvements morphogénétiques endogènes de l'embryogenèse de l'intérieur du tissu embryonnaire vivant (Figure 5). *Farge, Curr. Biol., 2003; Desprat et al, Dev Cell, 2008; Pouille et al Phys. Biol. 2008; Ahmadi, Pouille et al, Science Signalling, 2009.*



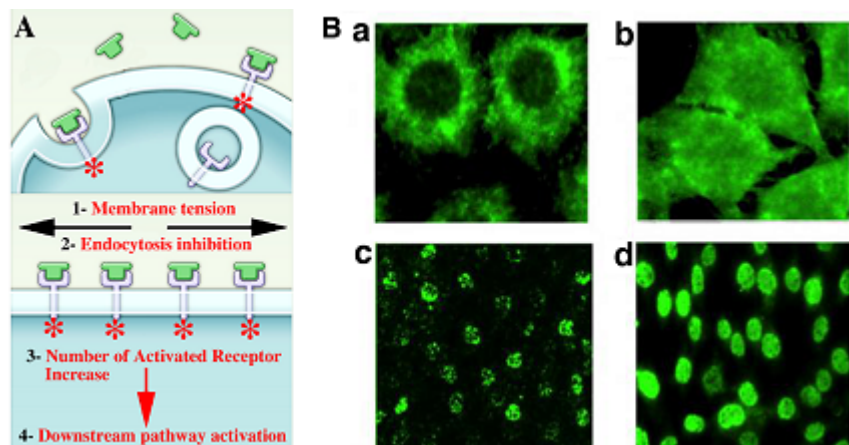
**Figure 6. Activation mécanique de l'invagination du mésoderme dans les mutants de snail déficients en invagination. a-** Indentation d'un mutant de snail 5 minutes après la fin de la cellularisation. **b-** Réactivation à la fois de la stabilisation apicale de la Myo-II et de l'invagination du mésoderme, par indentation douce (de 5 microns) du mésoderme d'embryons mutants de sna.



**Figure 7. Simulation hydrodynamique de la gastrulation de l'embryon en réponse à la constriction apicale des cellules du mésoderme.** **a-** Avant la gastrulation (les flèches rouges délimitent le mésoderme), **b-** Invagination en réponse à la constriction apicale dans le mésoderme, régulée par l'élasticité de la membrane et du cortex cellulaire, et par les flux hydrodynamiques intra et extra;

**Endocytose: force motrice de l'endocytose et modulation mécanique de l'endocytose comme processus mécanotransductionnel de transdifférentiation cellulaire.**

Historiquement, la première thématique étudiée dans le groupe a été celle des propriétés motrices des membranes biologiques relevant de la physique de la matière molle dans la vésicularisation des membranes initiant le processus d'endocytose de la membrane plasmique (Rauch et al, *Bioph. J*, 2000), ainsi que le rôle de l'inhibition mécaniquement induite de l'endocytose de signaux morphogènes dans l'induction mécanique de la transdifférentiation cellulaire (Figure 8, Rauch et al, *Am. J. Cell Phys*, 2002)



**Figure 8. Trans-différentiation cellulaire mécaniquement induite par l'inhibition de l'endocytose de protéines signales provoquées par la tension membranaire et l'aplatissement de la membrane plasmique.** **A-** La tension membranaire aplatit les membranes, menant ainsi à l'inhibition de l'endocytose de protéines signales sécrétées. Dans le cas où l'endocytose est requise pour inhiber l'activation du signal, le blocage mécanique de l'endocytose amplifie, voire déclenche, le signal. **B-** C'est le cas pour l'inhibition de l'endocytose de BMP2 (a,b), qui mène à l'accroissement, voir au déclenchement, de la trans-différentiation myoblaste-ostéoblaste, révélée, entre autres, par l'expression de JunB (c,d).





## Publications clés

Année de publication  
: 2018

---

Röper Jens-Christian,  
Mitrossilis Démosthène,  
Stirnemann Guillaume,  
Waharte François, Brito  
Isabel, Fernandez-  
Sanchez Maria-Elena,  
Baaden Marc, Salamero  
Jean, Farge Emmanuel  
(2018 Jul 19)

**The major  $\beta$ -  
catenin/E-cadherin  
junctional binding  
site is a primary  
molecular  
mechano-  
transducer of  
differentiation in  
vivo**

eLIFE : 7:e33381. DOI:  
[https://doi.org/10.7554/  
eLife.33381](https://doi.org/10.7554/eLife.33381) : DOI : DOI:  
[https://doi.org/10.7554/  
eLife.33381](https://doi.org/10.7554/eLife.33381)

Brodors-Bondon  
Florence, Nguyen Ho-  
Bouloires Thanh,  
Fernandez-Sanchez  
Maria Elena-Farge  
Emmanuel (2018 May  
17)

**Mechanotransducti**



**on in tumor  
progression: The  
dark side of the  
force.**

*Journal of Cell Biology* :  
217(5):1571-1587 : [DOI](#)

:  
[10.1083/jcb.201701039](https://doi.org/10.1083/jcb.201701039)

**Année de publication  
: 2017**

---

Démosthène Mitrossilis,  
Jens-Christian Röper,  
Damien Le Roy,  
Benjamin Driquez,  
Aude Michel, Christine  
Ménager, Gorky Shaw,  
Simon Le Denmat,  
Laurent Ranno, Frédéric  
Dumas-Bouchiat, Nora  
M Dempsey, Emmanuel  
Farge (2017 Jan 24)

**Mechanotransducti  
ve cascade of Myo-  
II-dependent  
mesoderm and  
endoderm  
invaginations in  
embryo  
gastrulation.**

*Nature communications*  
: 13883 : [DOI](#) :

[10.1038/ncomms13883](https://doi.org/10.1038/ncomms13883)

**Année de publication  
: 2015**

---

Maria-Elena Fernandez-  
Sanchez, Thibaut  
Brunet, Jens-Christian  
Röper, Emmanuel



Farge (2015 Sep 24)

**Mechanotransduction's impact on animal development, evolution, and tumorigenesis.**

*Annual review of cell and developmental biology* : 373-97 : DOI : [10.1146/annurev-cellbio-102314-112441](https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-102314-112441)

María Elena Fernández-Sánchez, Sandrine Barbier, Joanne Whitehead, Gaëlle Béalle, Aude Michel, Heldmuth Latorre-Ossa, Colette Rey, Laura Fouassier, Audrey Claperon, Laura Brullé, Elodie Girard, Nicolas Servant, Thomas Rio-Frio, Hélène Marie, Sylviane Lesieur, Chantal Housset, Jean-Luc Gennisson, Mickaël Tanter, Christine Ménager, Silvia Fre, Sylvie Robine, Emmanuel Farge (2015 Jul 2)

**Mechanical induction of the tumorigenic  $\beta$ -catenin pathway by tumour growth pressure.**

*Nature* : 92-5 : DOI :



# Mécanique et génétique du développement embryonnaire et tumoral

**UMR168 - Laboratoire Physico-Chimie Curie**

[10.1038/nature14329](https://doi.org/10.1038/nature14329)

**Année de publication  
: 2013**

---

Thibaut Brunet, Adrien Bouclet, Padra Ahmadi, Démosthène Mitrossilis, Benjamin Driquez, Anne-Christine Brunet, Laurent Henry, Fanny Serman, Gaëlle Béalle, Christine Ménager, Frédéric Dumas-Bouchiat, Dominique Givord, Constantin Yanicostas, Damien LeRoy, Nora M Dempsey, Anne Plessis, Emmanuel Farge (2013 Jun 21)

**Evolutionary conservation of early mesoderm specification by mechanotransduction in Bilateria.**

*Nature communications*

: 2821 : [DOI :](https://doi.org/10.1038/ncomms3821)

[10.1038/ncomms3821](https://doi.org/10.1038/ncomms3821)