

Cytosquelette

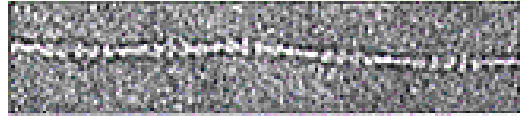
Oliver Nüsse

Université Paris-Saclay, Faculté des Sciences, Orsay
oliver.nusse@universite-paris-saclay.fr

UE « Dynamique Cellulaire » Licence Biologie, L3, 2024/2025

Les trois types de filament du cytosquelette

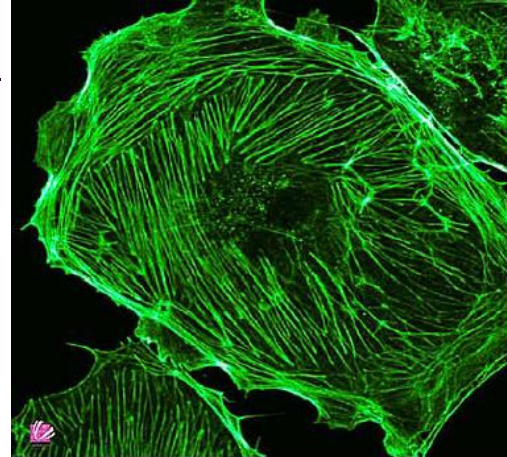
ACTIN FILAMENTS



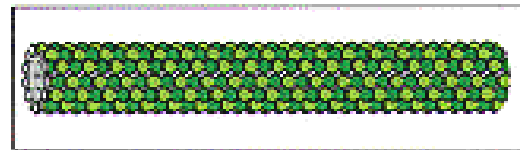
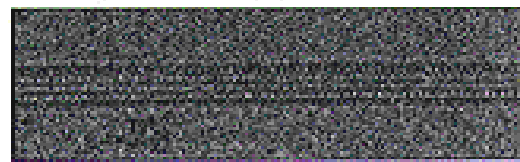
25 nm



25 µm



Filaments d'actine

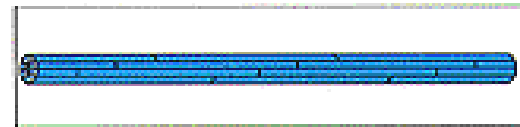
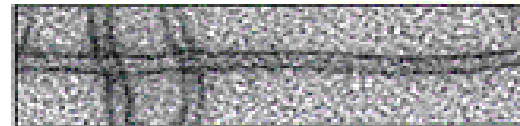
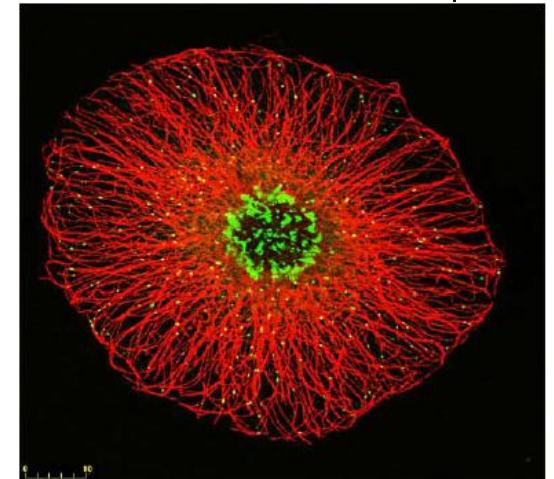


25 nm



25 µm

Microtubules

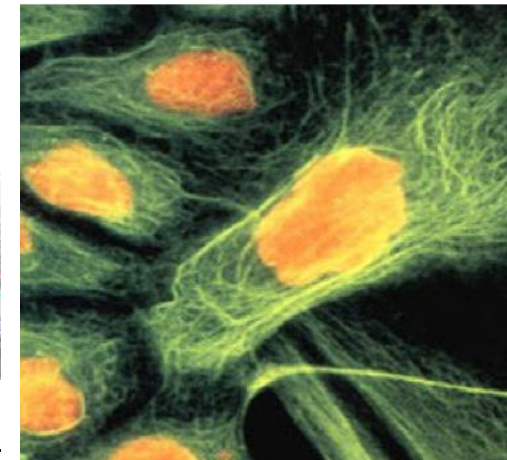


25 nm



25 µm

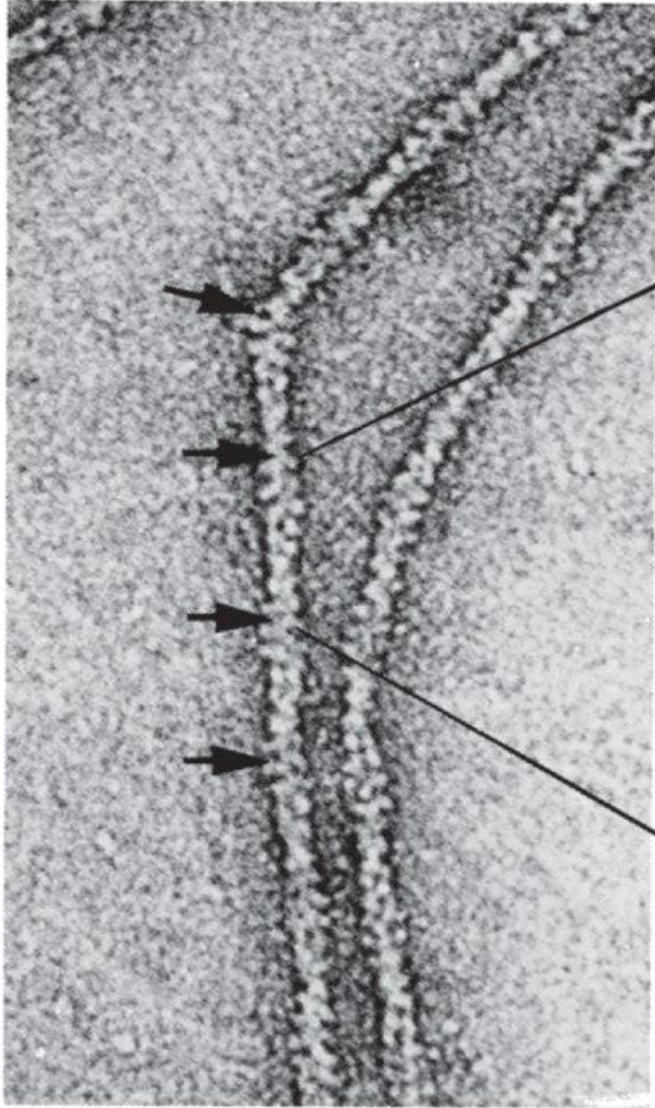
Filaments intermédiaires



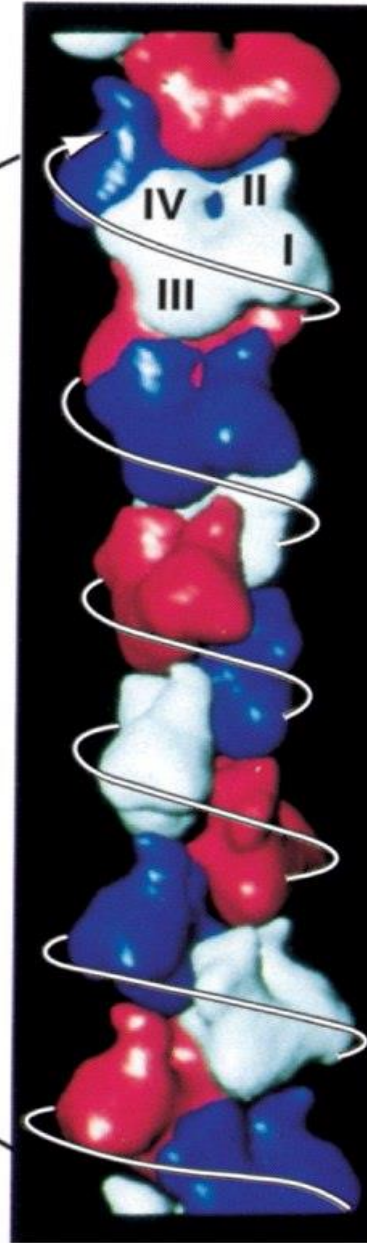
Les filaments du cytosquelette sont des polymères de protéines

Actine et tubuline

- **Polymérisation et dépolymérisation**
- **Équilibre instable**
- **Polarité des filaments (extrémité + et -)**
- **Monomères mobiles par diffusion**
- **Polymères souvent attachés**
- **Régulation de la vitesse de polymérisation**



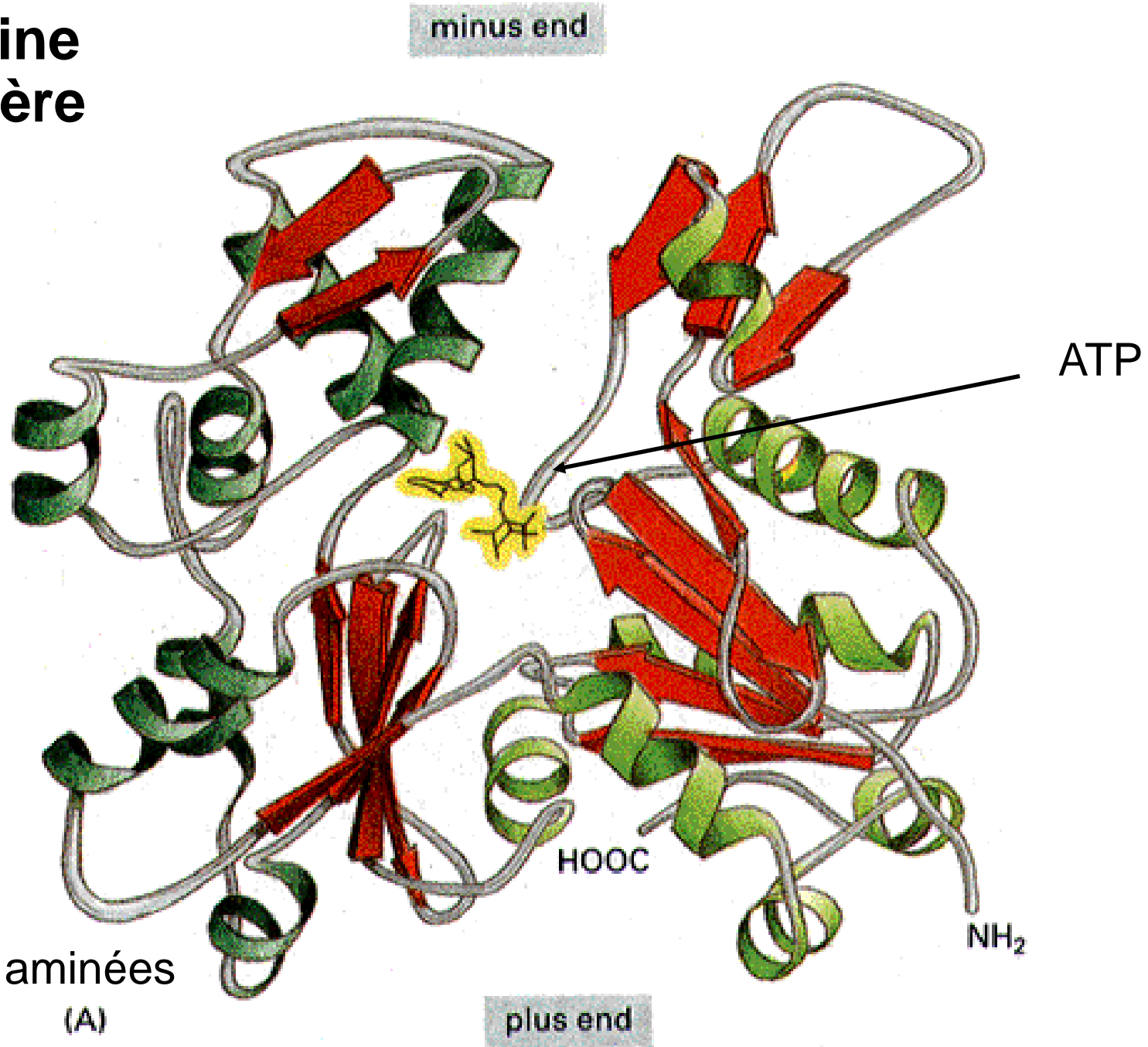
(-) end



**F-Actine =
filament
d'actine**

(+) end

G – Actine monomère

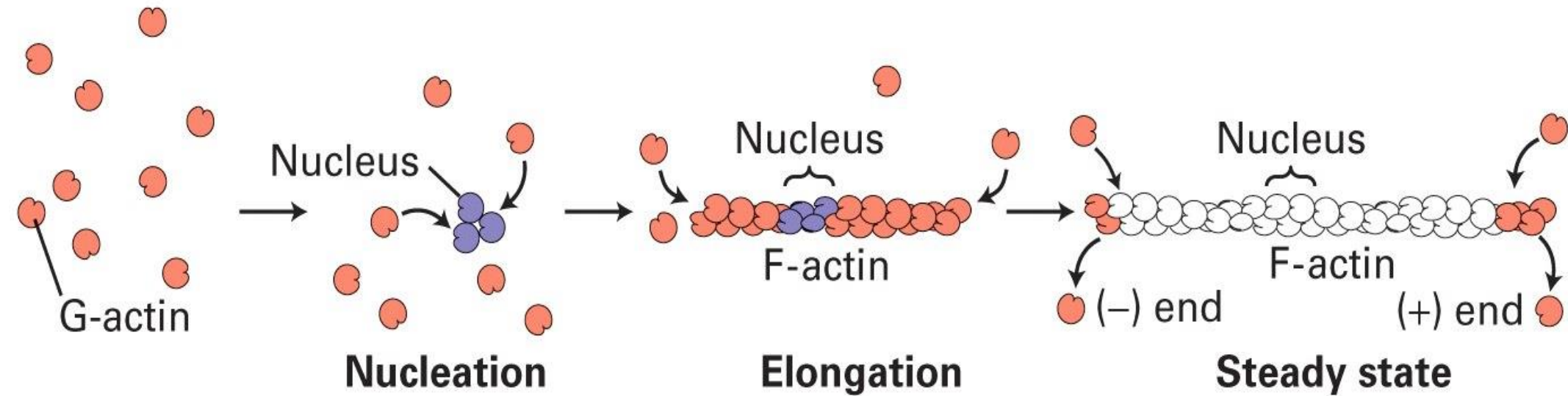


375 acides aminées
42 kDa

(A)

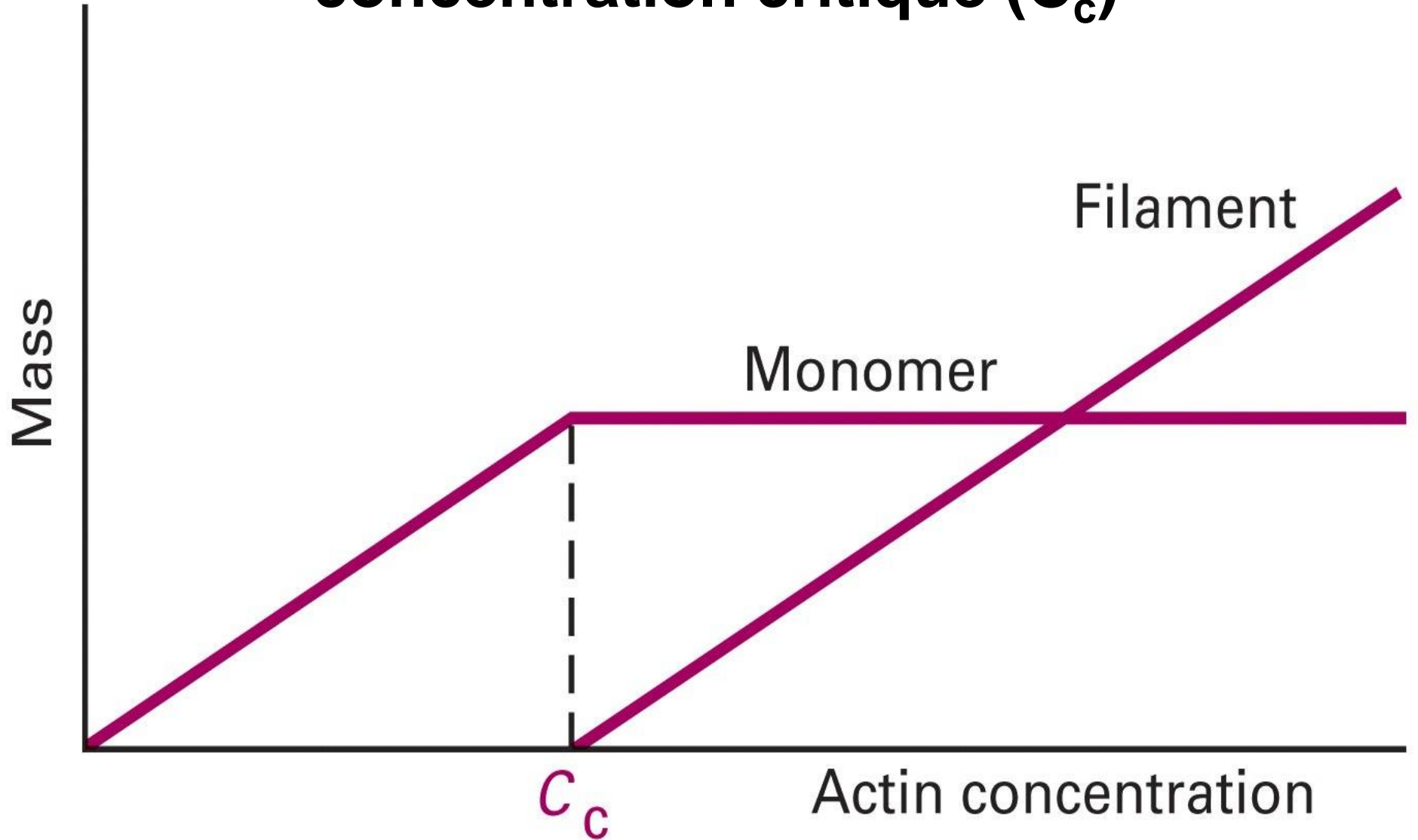
plus end

Polymérisation et nucléation



tapis roulant
ou
treadmilling

Les monomères d'actine polymérisent si leur concentration dépasse la concentration critique (C_c)

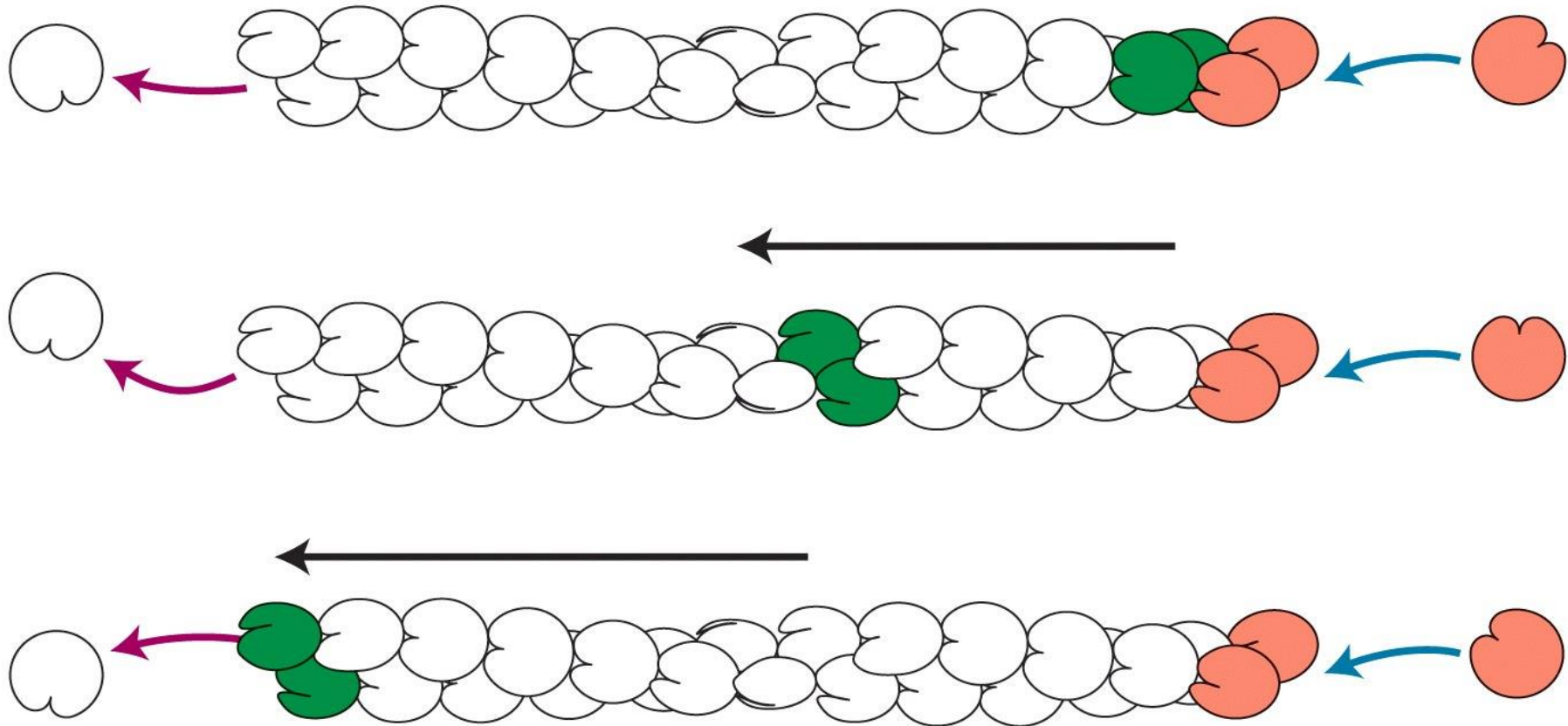


La croissance asymétrique des filaments due à la différence de C_c des extrémités

$$C_c^- > \text{G-actin concentration} > C_c^+$$

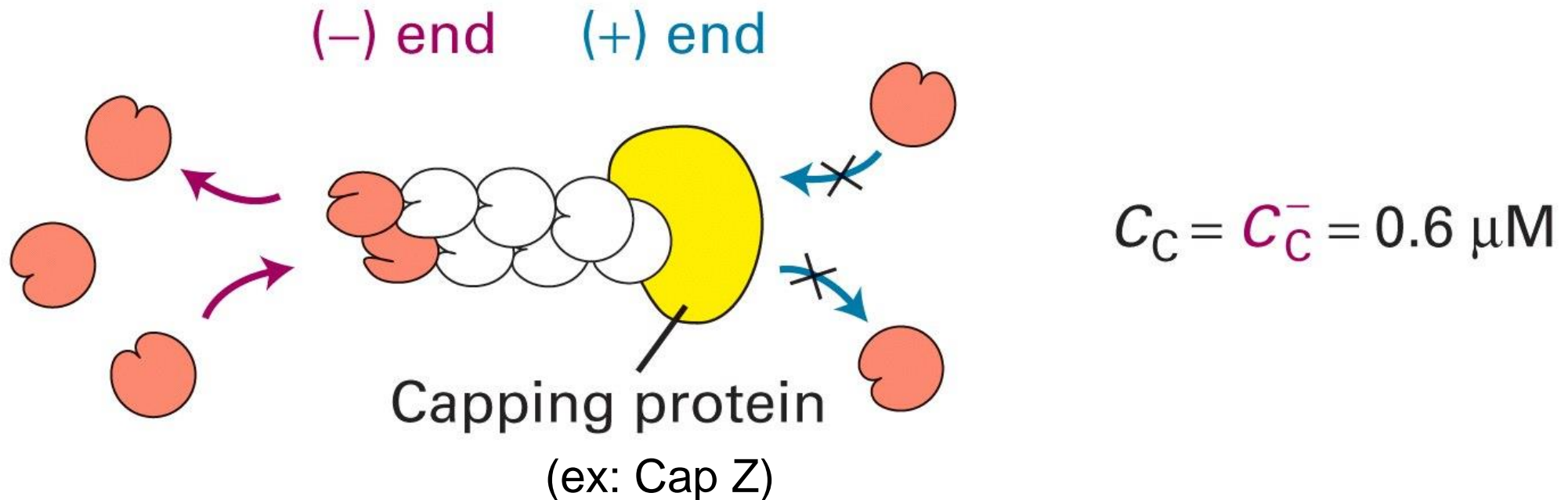
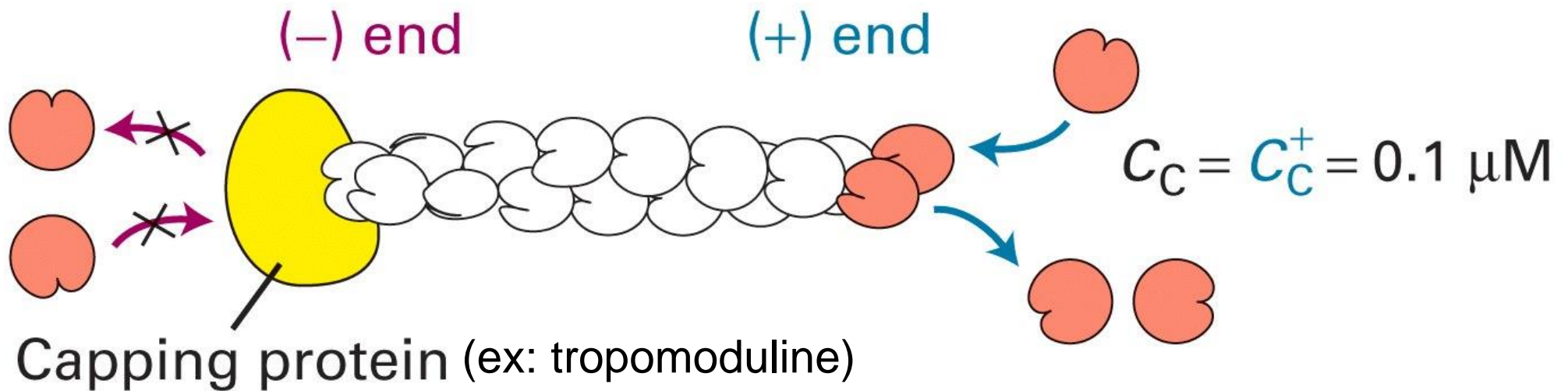
(-)

(+)

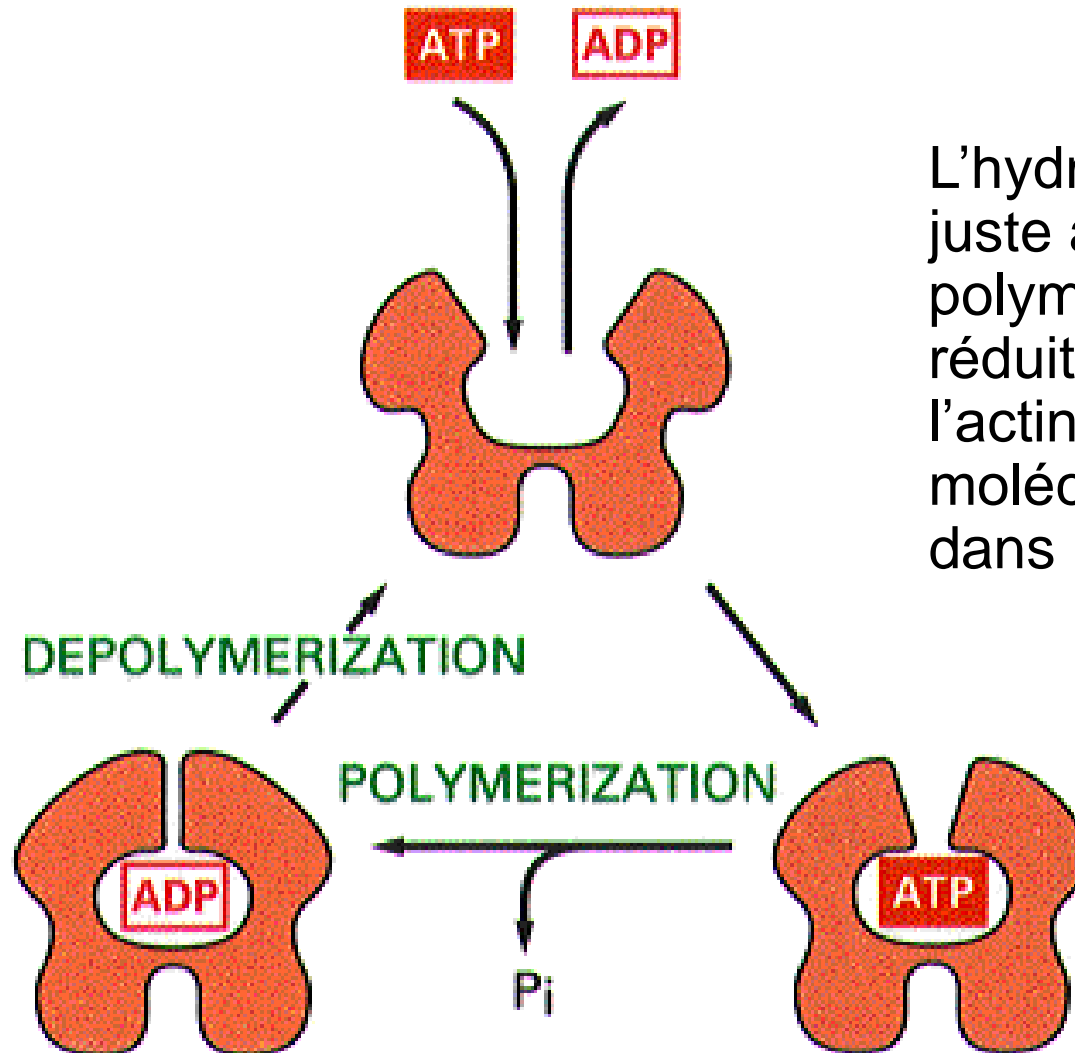


Phénomène de « tapis roulant » ou « treadmilling »

Le coiffage (capping) et la C_c des extrémités

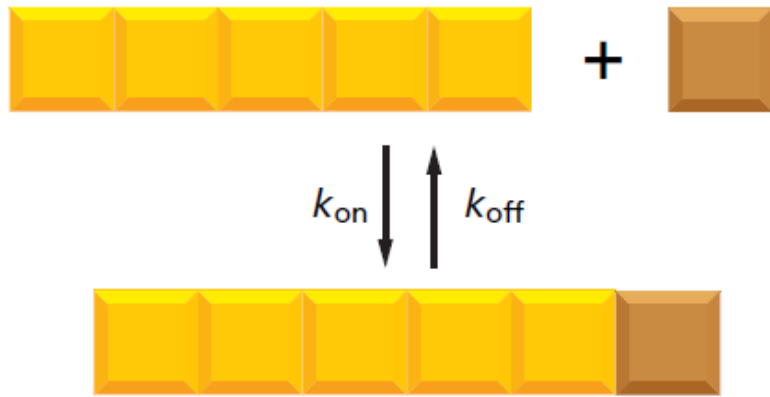


Cycle d'hydrolyse d'ATP par l'actine



L'hydrolyse d'ATP juste après polymérisation réduit l'affinité de l'actine pour les molécules d'actine dans le polymère.

La concentration critique C_c des extrémités



Constante de réaction :

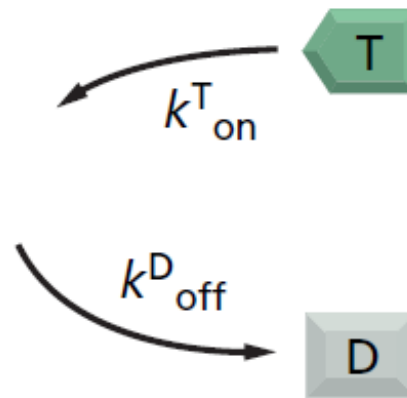
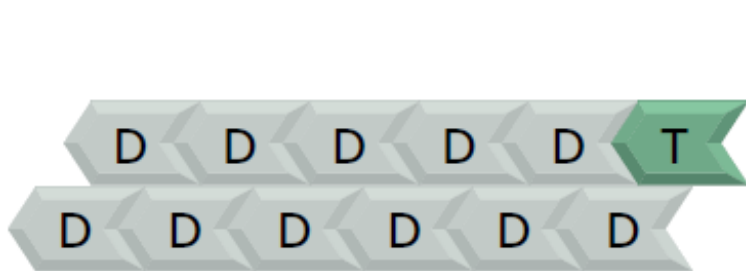
$$k_{\text{ON}} \text{ (M}^{-1} \text{ s}^{-1}\text{)}$$

$$k_{\text{OFF}} \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

A l'équilibre :

$$k_{\text{ON}} C = k_{\text{OFF}}$$

L'hydrolyse des nucléotides réduit les affinités pour les sous-unités voisines



$$k^{\text{T}}_{\text{ON}} C = k^{\text{D}}_{\text{OFF}}$$

$$C_c = k^{\text{D}}_{\text{OFF}} / k^{\text{T}}_{\text{ON}}$$

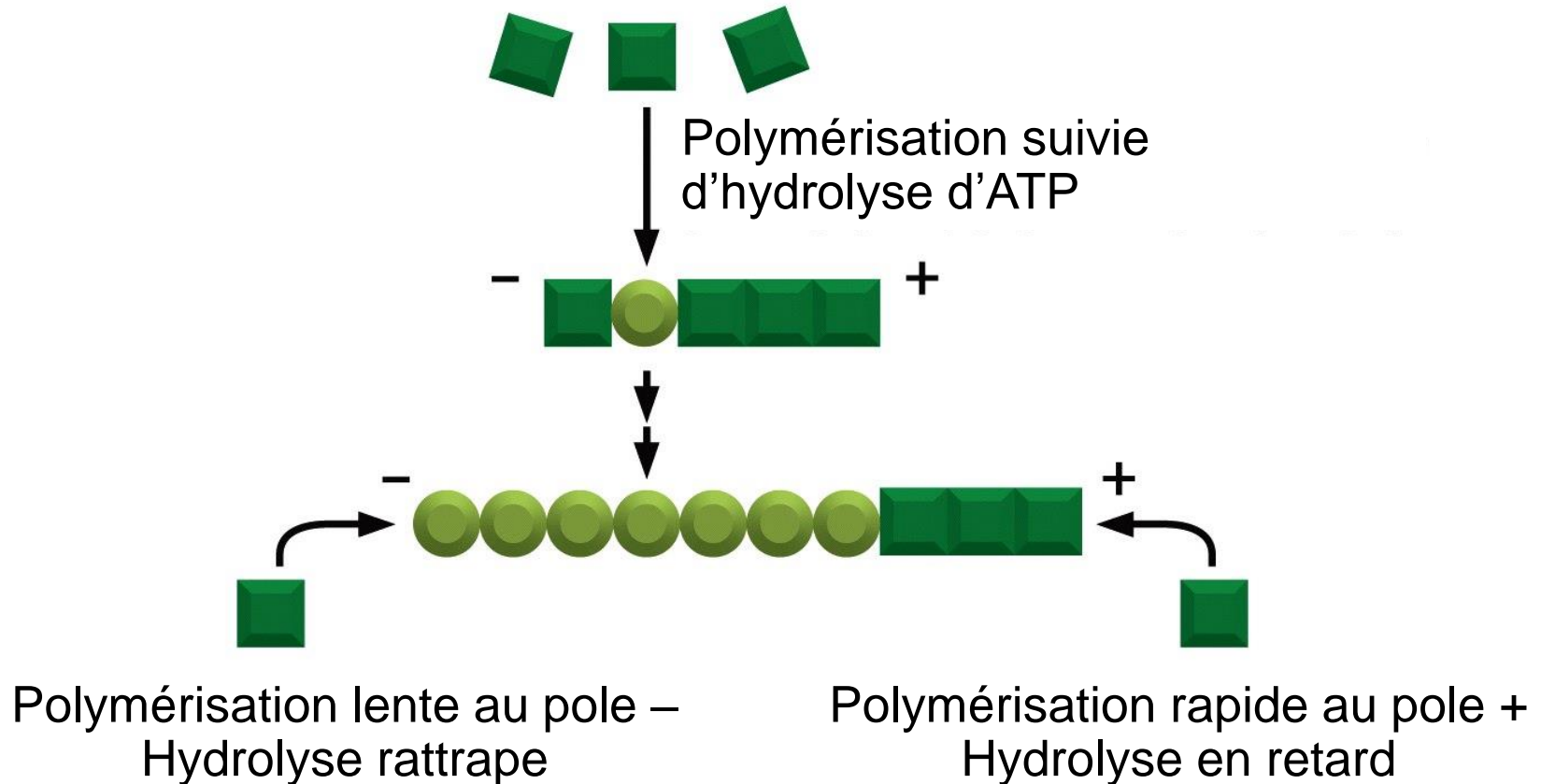
k^{D}_{ON} et $k^{\text{T}}_{\text{OFF}}$ sont négligeables

D = forme liée à ADP
T = forme liée à ATP

A l'extrémité + la vitesse d'hydrolyse d'ATP est plus lente que la vitesse d'addition de monomères

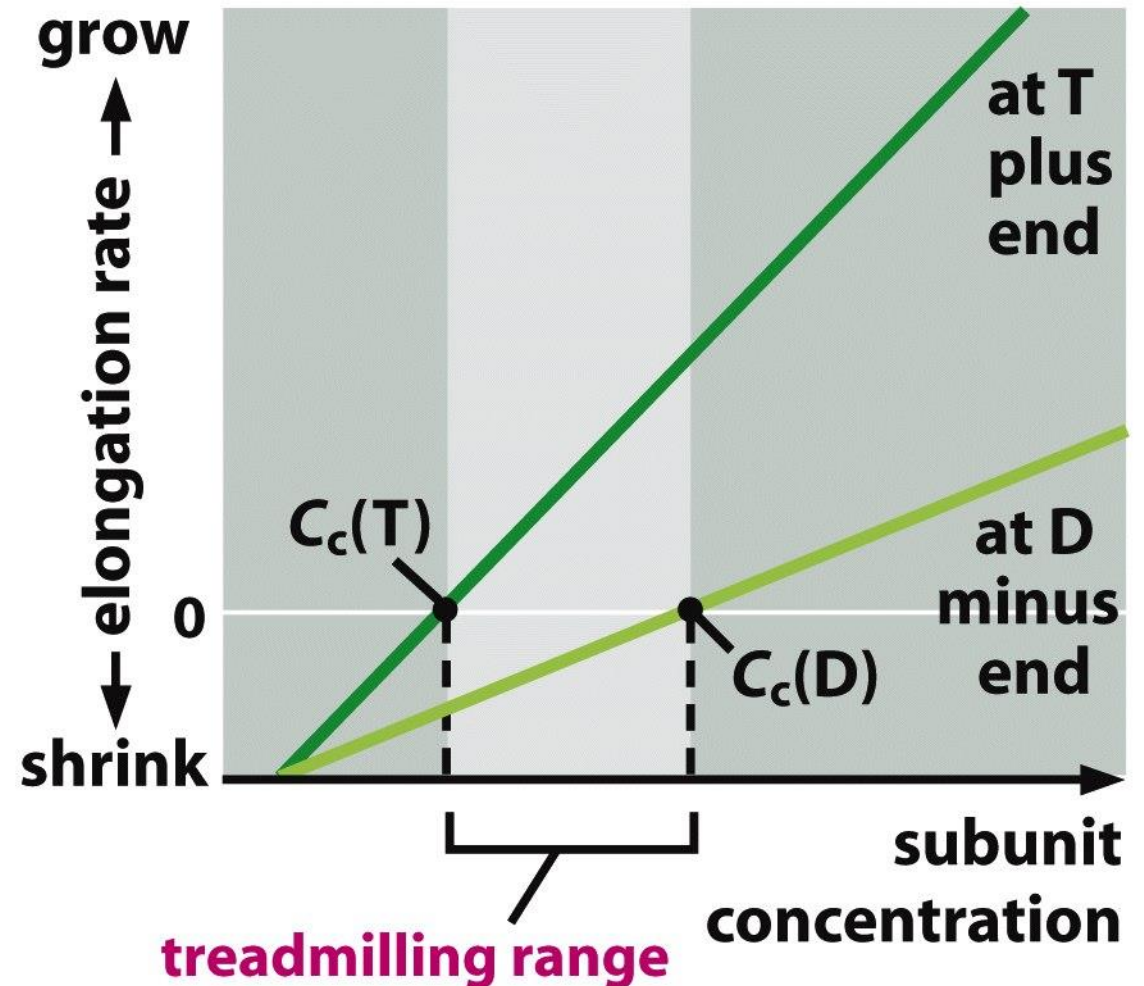
Monomères solubles liés à l'ATP (■)

Polymères, mélange d'actine ATP (■) et d'actine ADP (●)



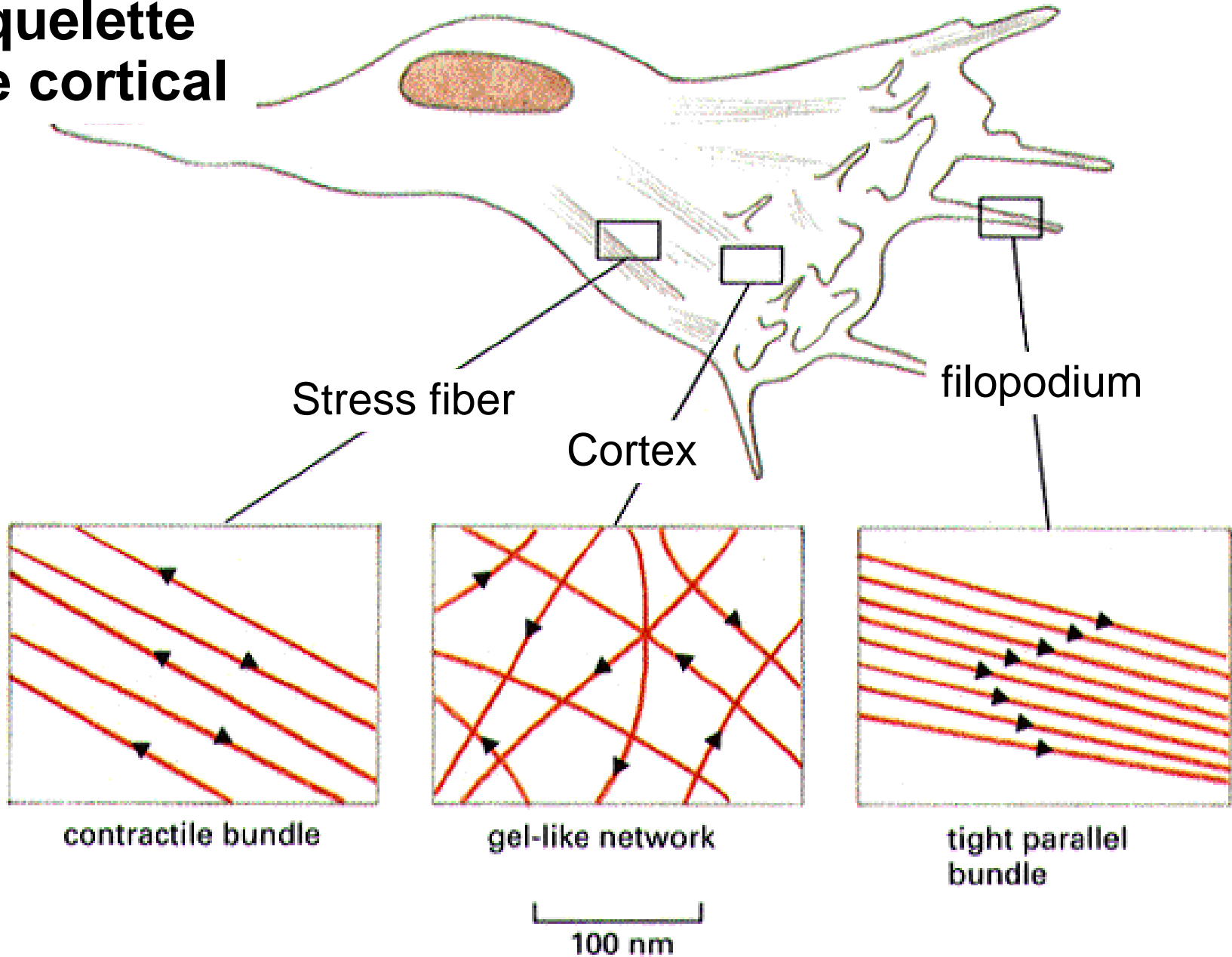
$$C_c(T) < C_c(D)$$

**Croissance et
décroissance des
extrémités + et – en
fonction de la
concentration de
monomères**



**For $C_c(T) < C < C_c(D)$
treadmilling occurs**

3 formes du cytosquelette d'actine cortical

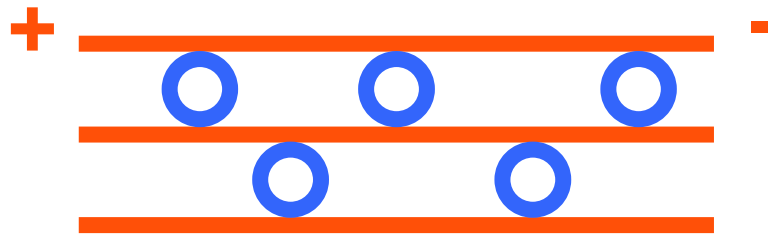


Protéines de liaison à l'actine (1)

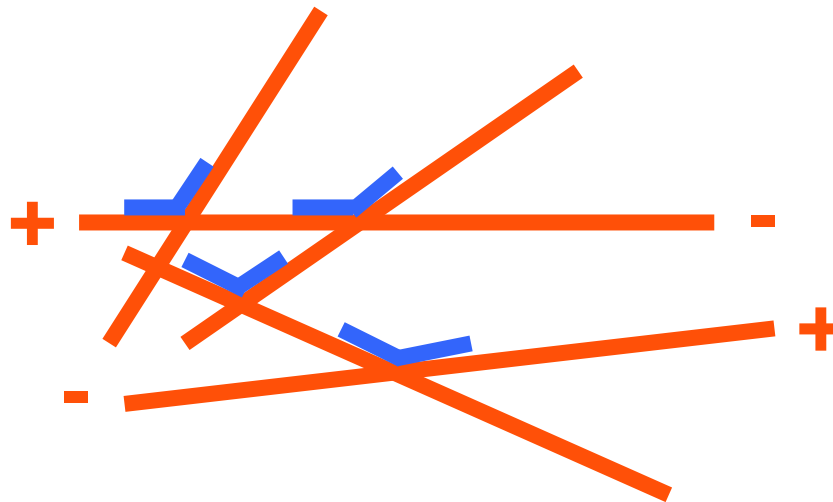
F-actine
Protéines
de liaison



1 consolidation
Ex : tropomyosine



2 formation
de faisceaux
Ex : α -actinine



3 stabilisation
d'interaction
Ex : filamine

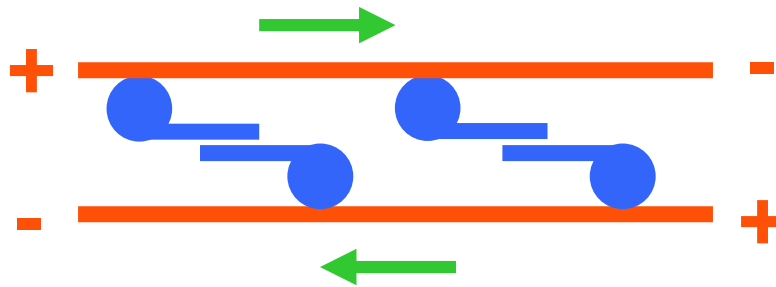


4 coupure Ex : gelsoline

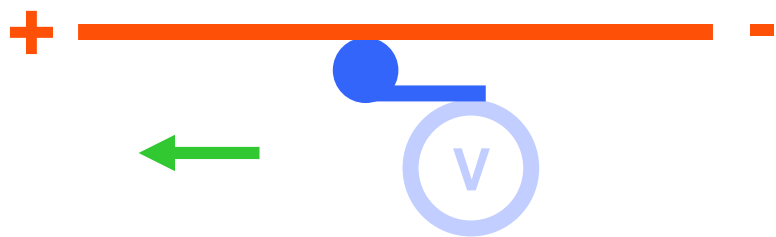
Protéines de liaison à l'actine 2



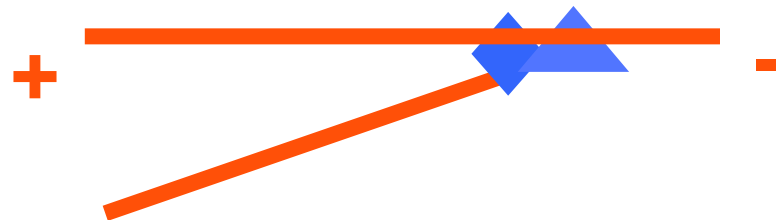
5 coiffage (capping)
Ex : CapZ (+) et tropomoduline (-)



6 glissement/contraction Ex : myosine II

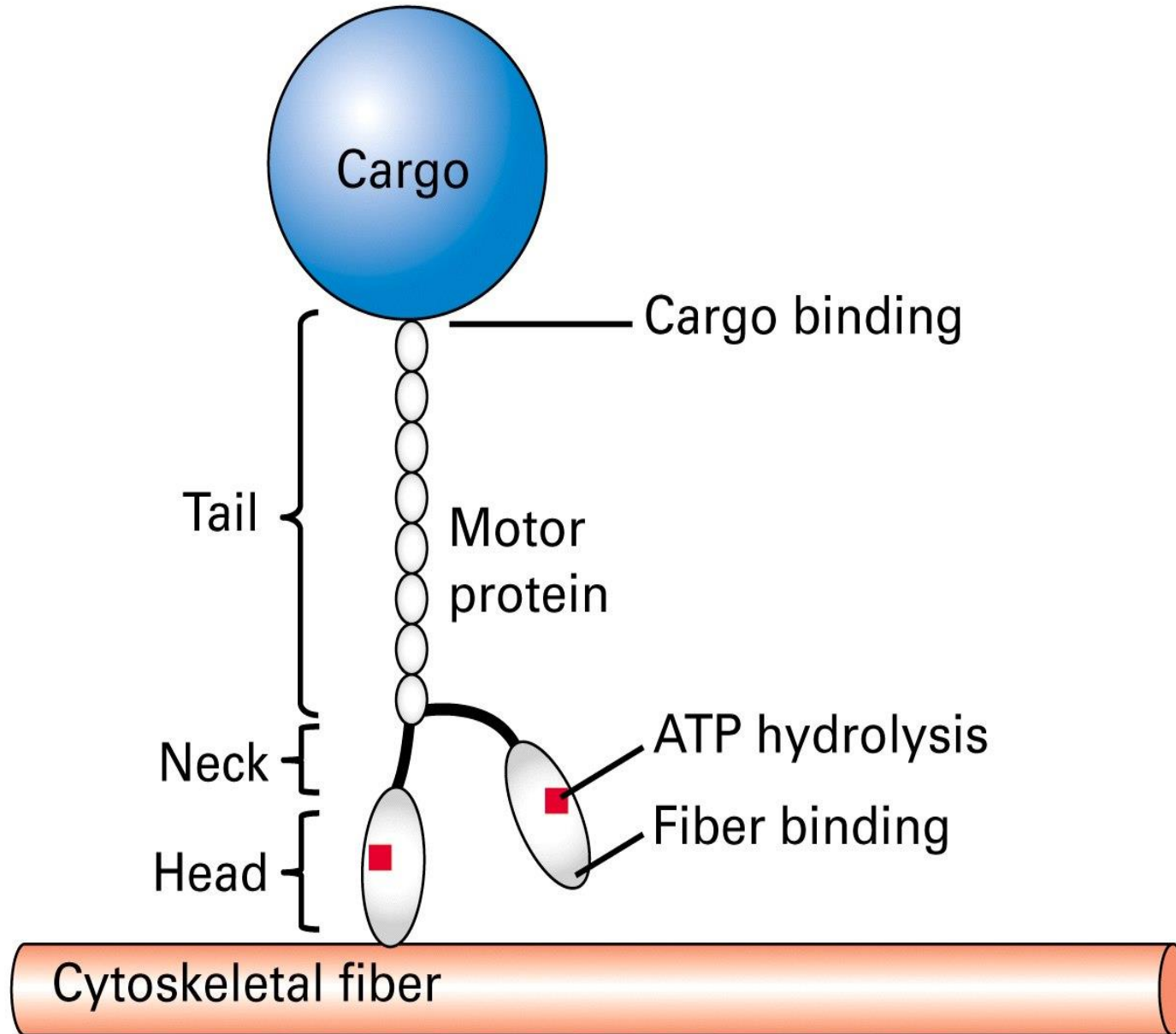


7 transport de vésicules Ex : myosine I et V

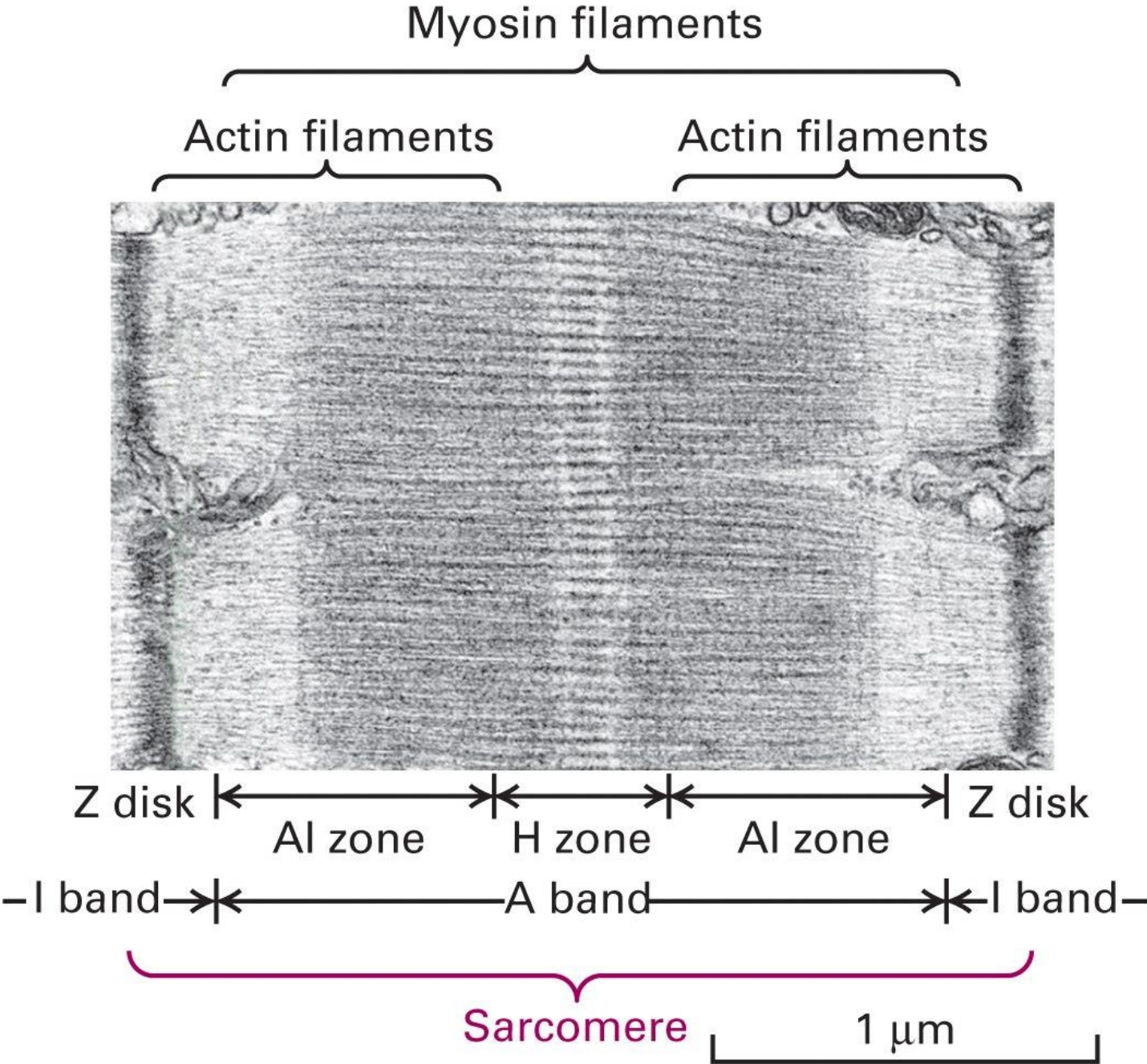


8 branchement Ex : complexe Arp2/3

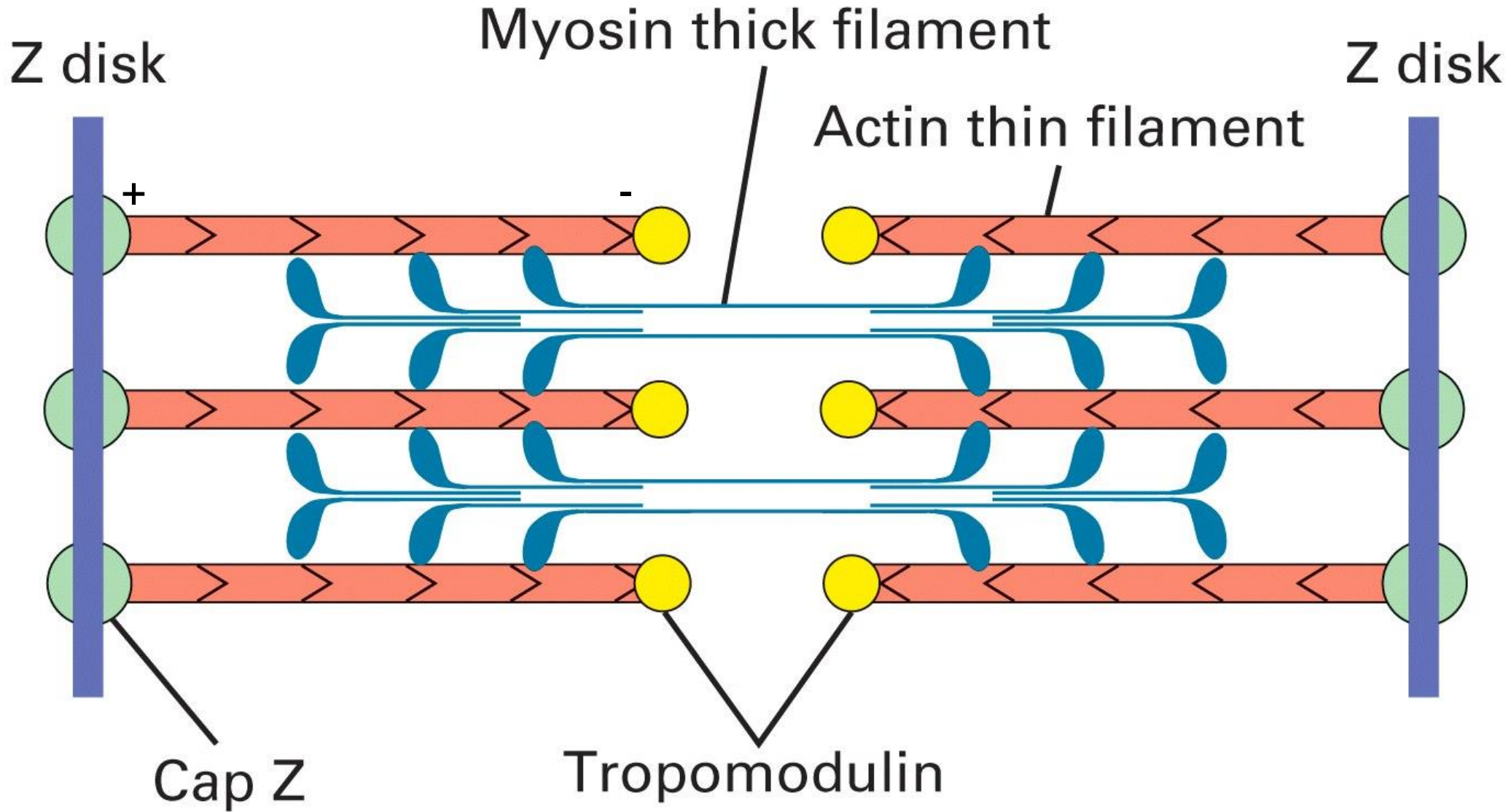
Moteurs moléculaires





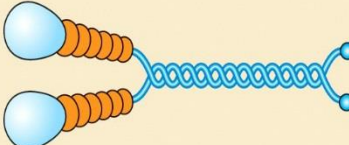
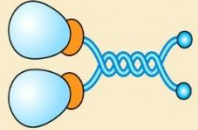
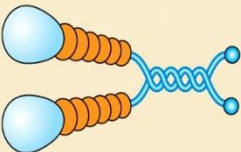
Muscle strié (squelette)



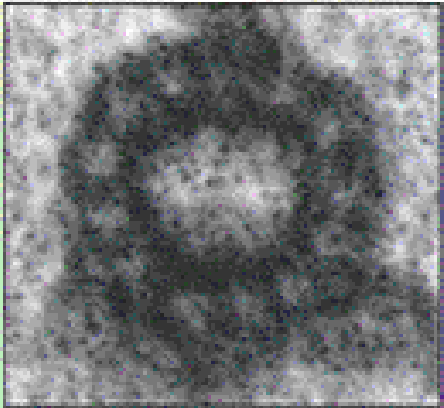
Contraction des muscles



Quelques myosines

Type	masse mol.	Structure	longueur du pas	activité
I	110 – 150 kDa		10 – 14 nm	attachement de membranes, vésicules d'endocytose
II	220 kDa		5 – 10 nm	glissement de filaments
V	170 - 220 kDa		36	Transport vésicules
VI	140 kDa		30	endocytose
XI	170 - 260 kDa		35	mouvement cytoplasmique (algue verte)

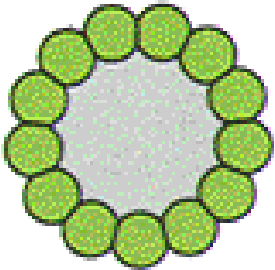
Microtubules, polymères de tubuline



(A)



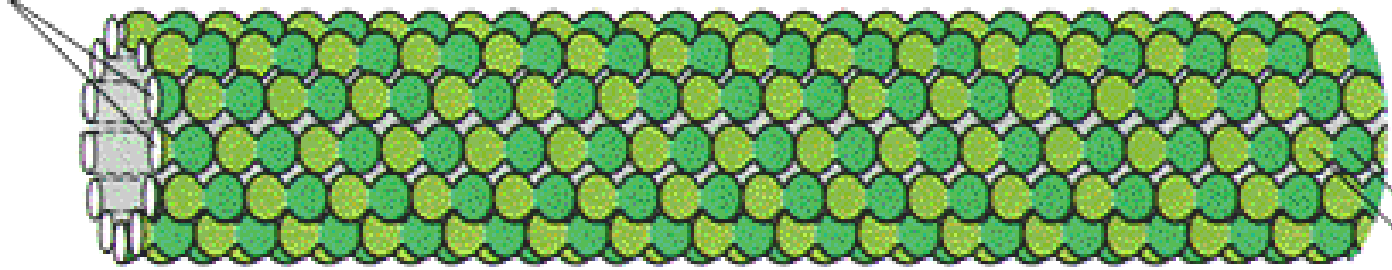
(B)



protofilaments

(C)

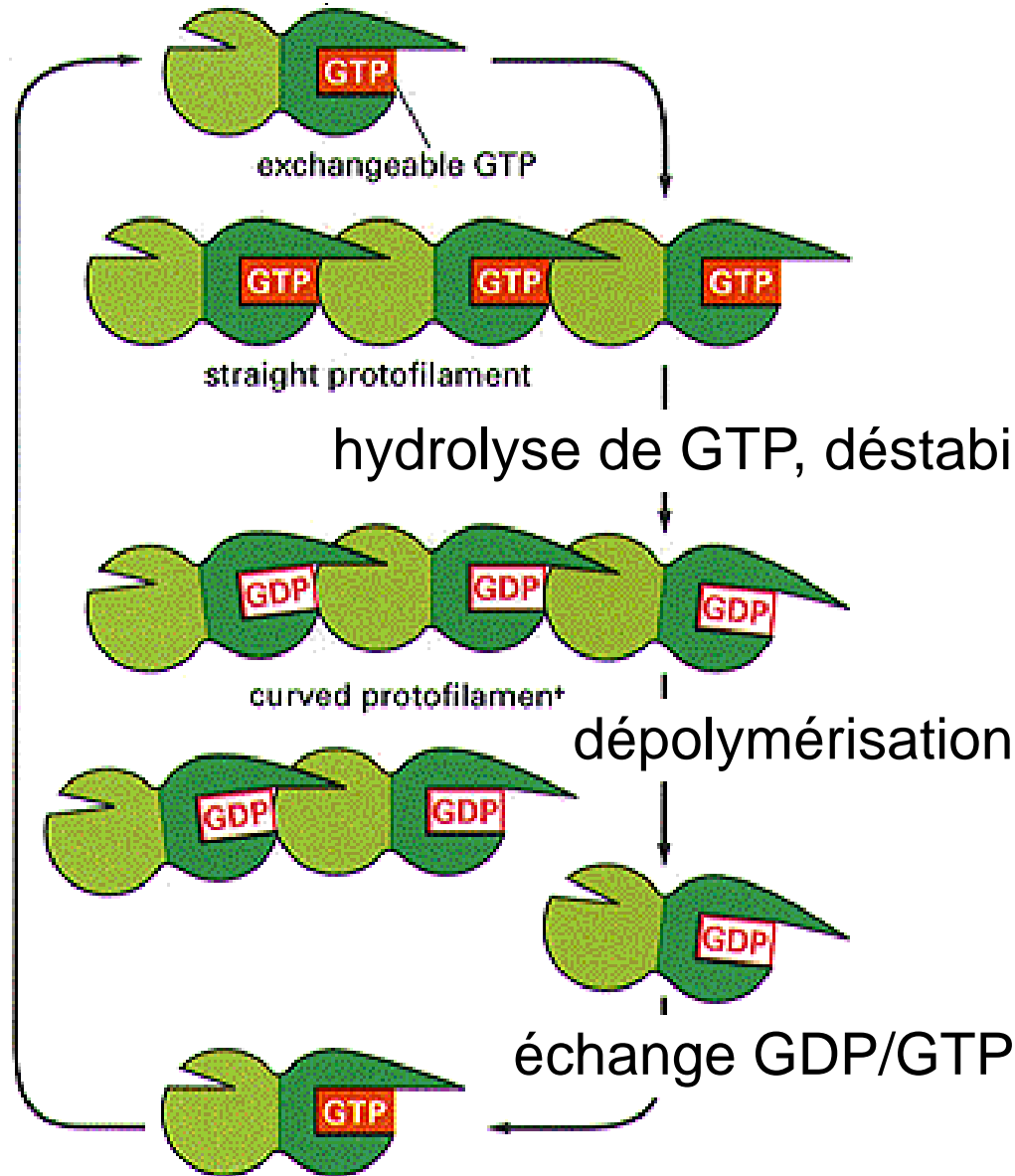
25 nm



(D)

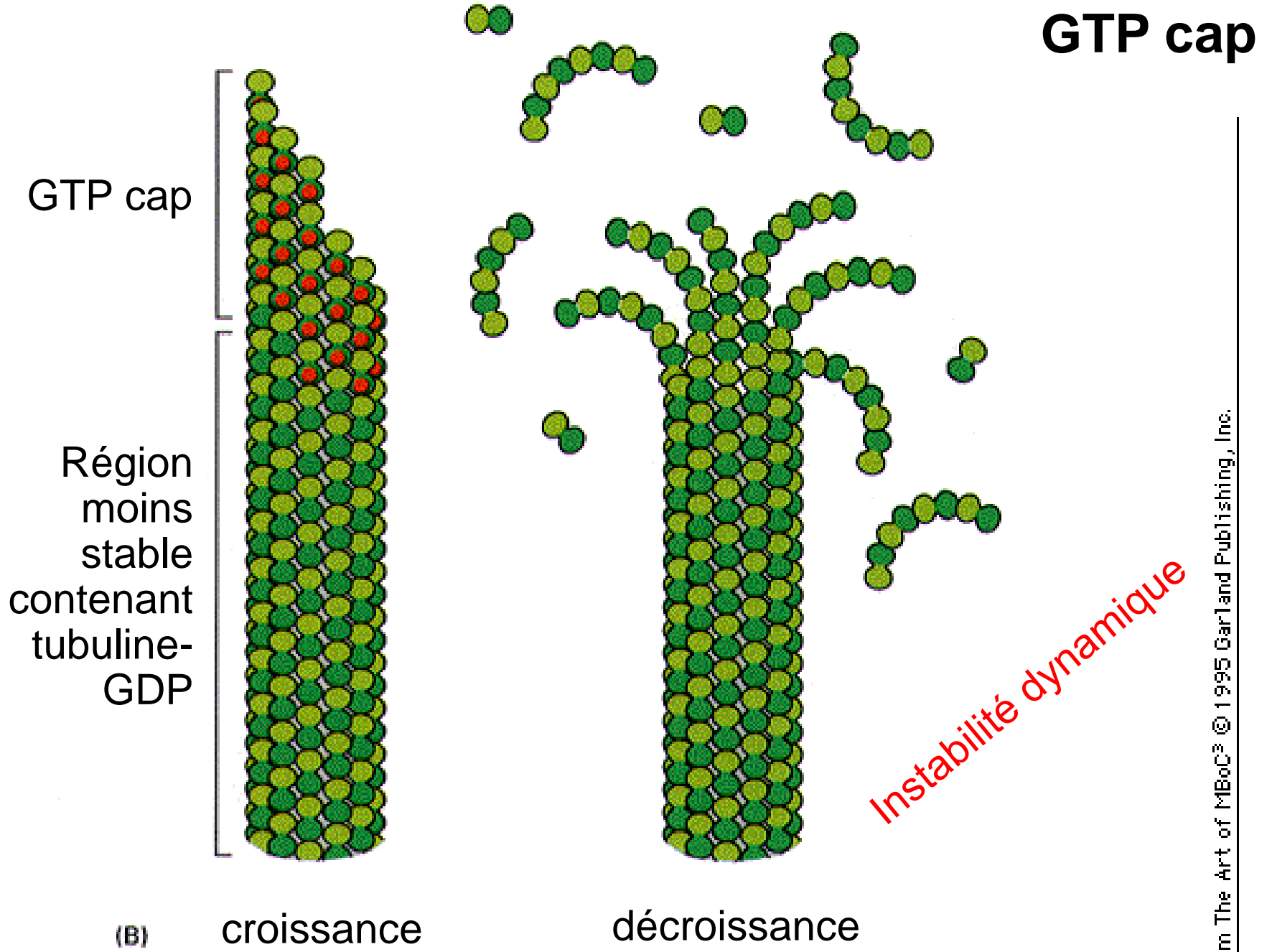
α β
tubuline

dimère de tubuline α et β



**L'hydrolyse de GTP
déstabilise le
polymère de
tubuline**

(A)



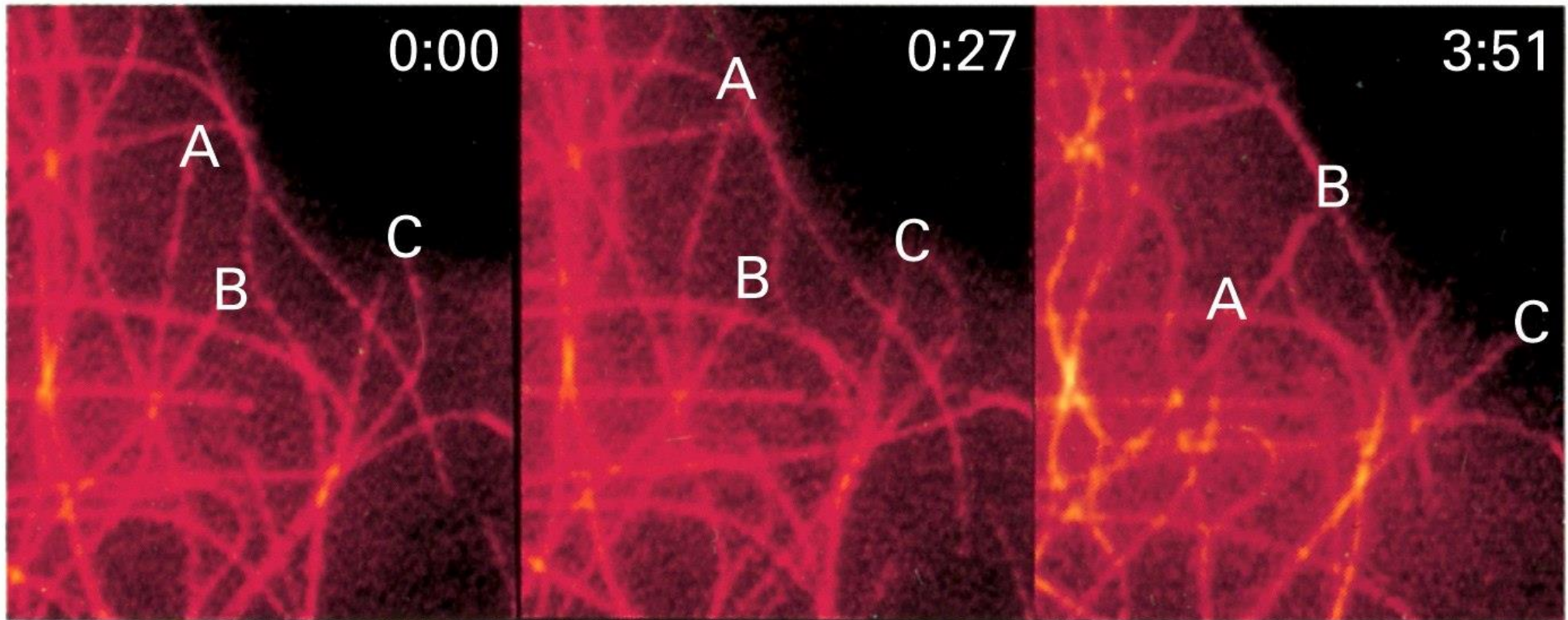
(B)

croissance

décroissance

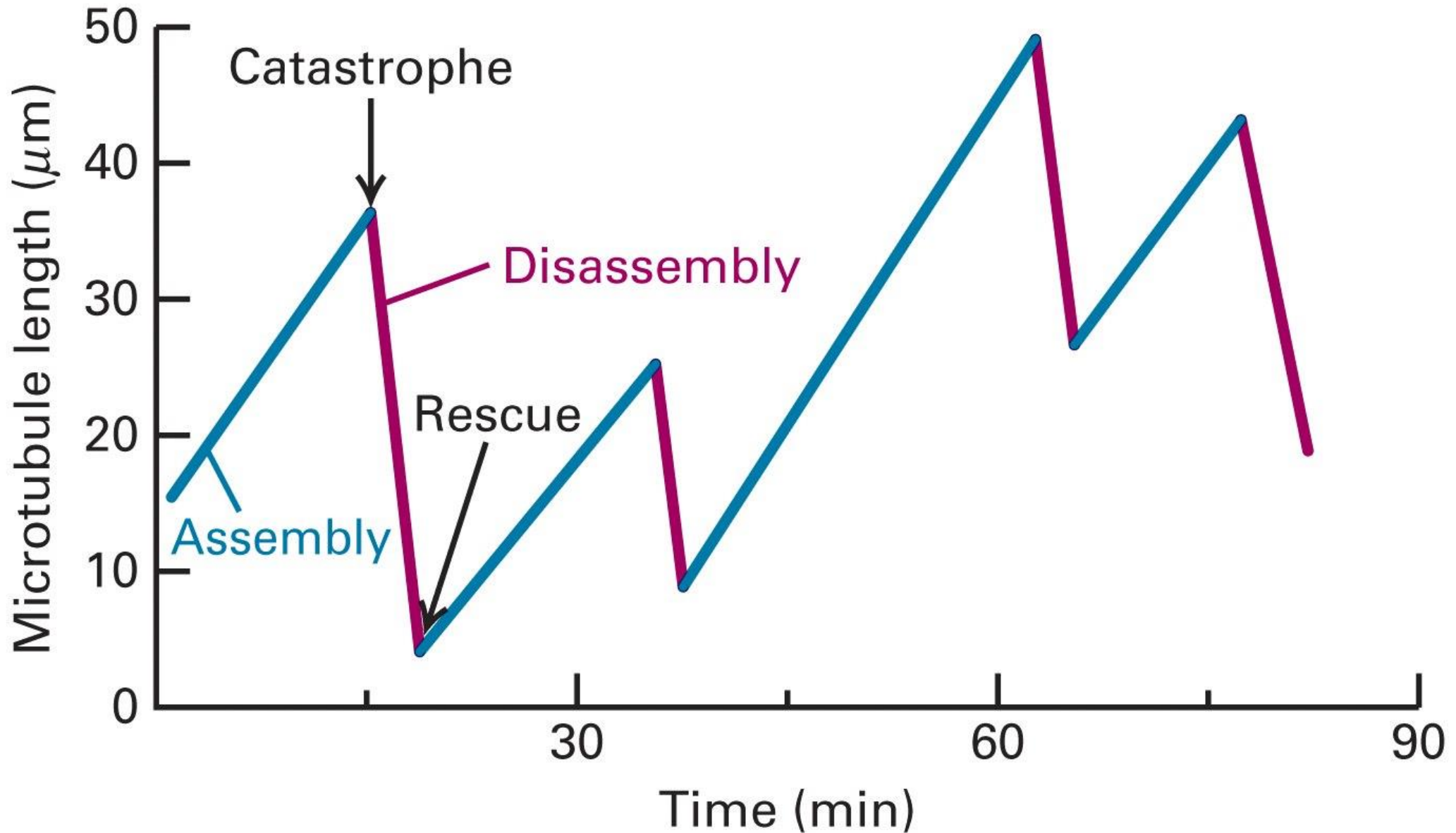
Instabilité dynamique

Croissance et décroissance de 3 microtubules (A, B, C) pendant 4 min

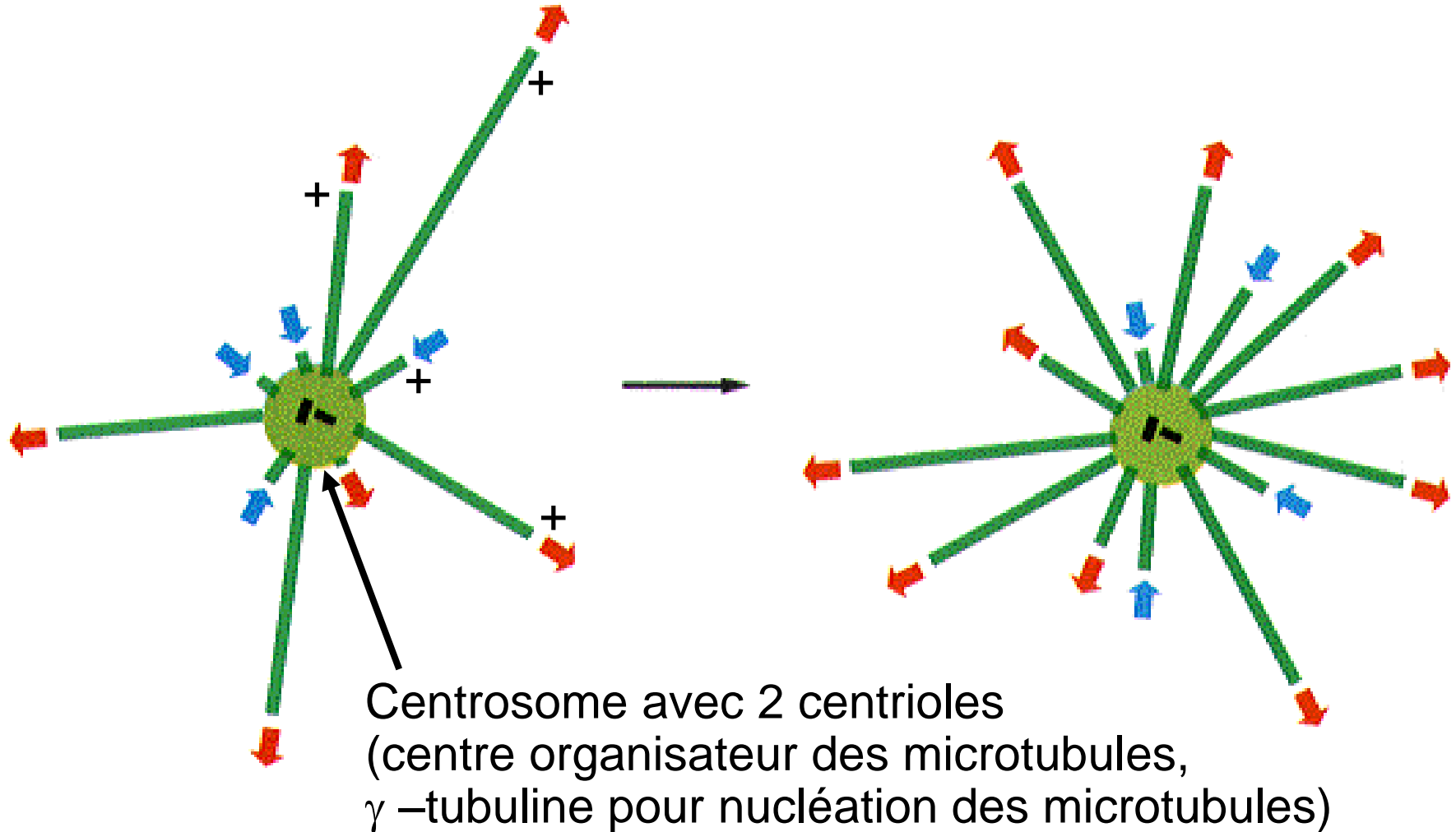


Après micro-injection de tubuline fluorescente dans un fibroblaste

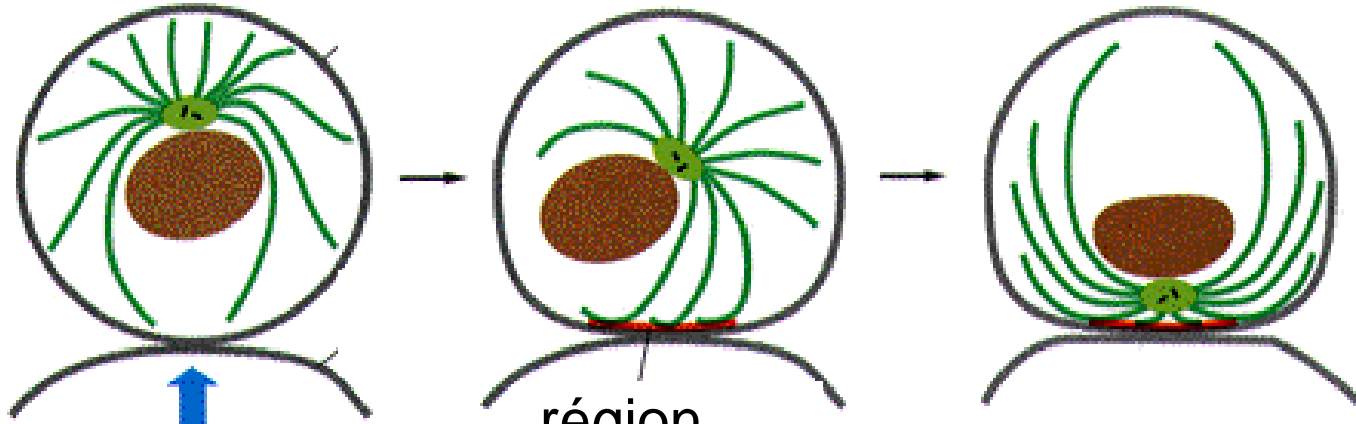
Croissance et décroissance répétitive des microtubules



Croissance et décroissance de microtubules



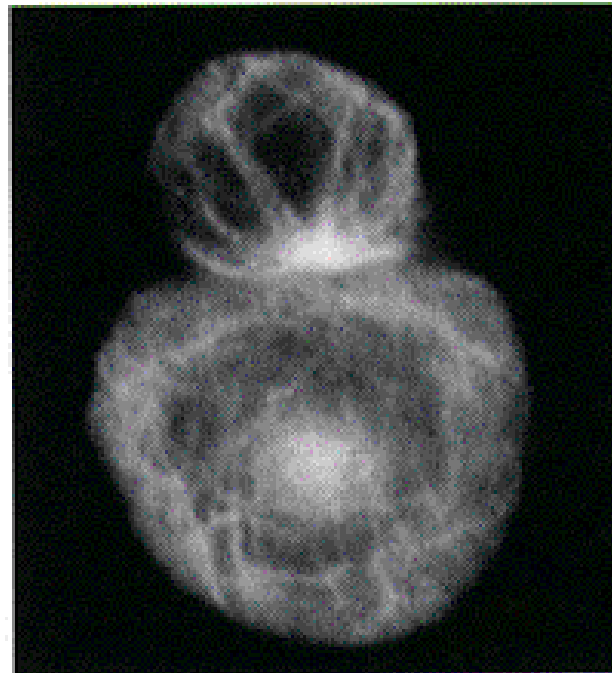
Lymphocyte T



cellule cible
signal localisé

région spécialisée

microtubules

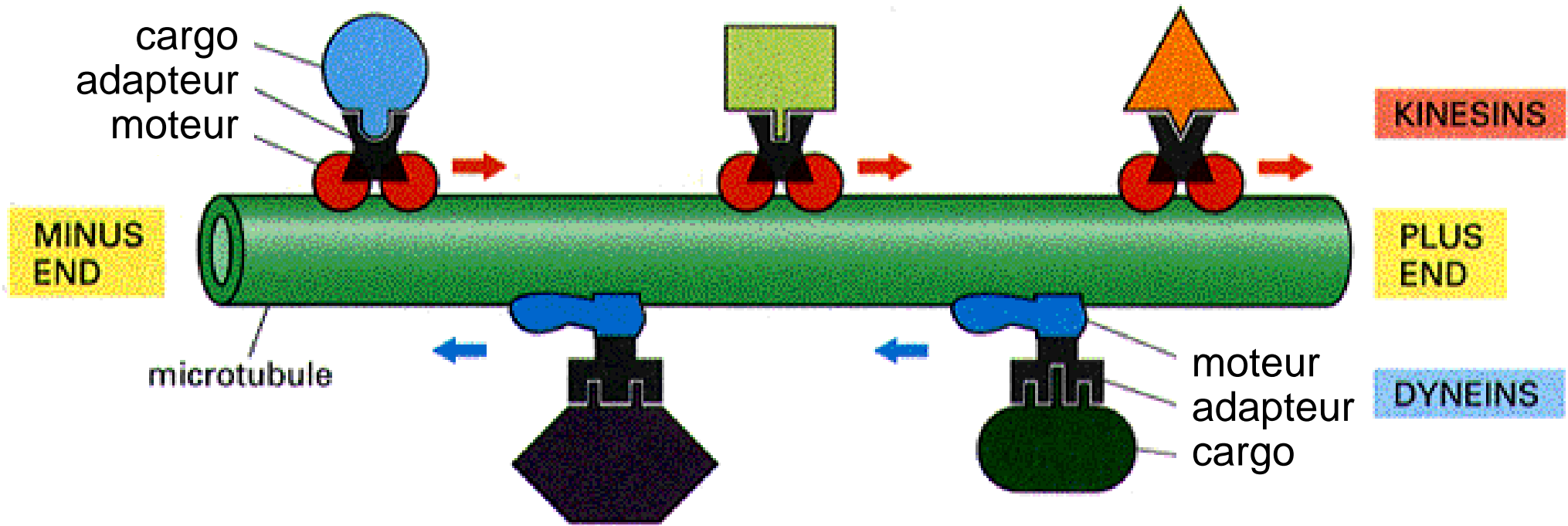


(B)

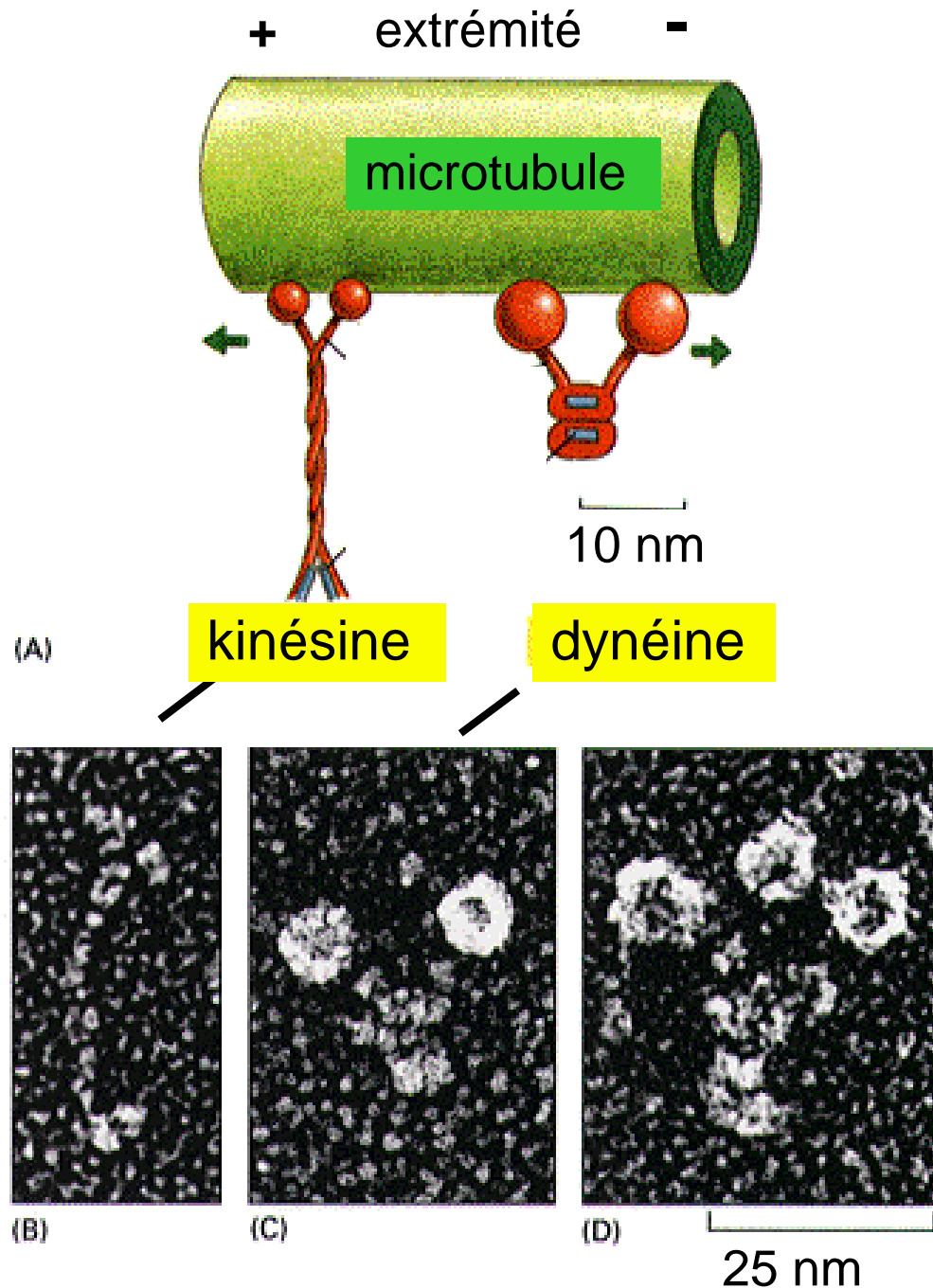
10 μm

Réorientation du centrosome et de microtubules vers une zone de contact

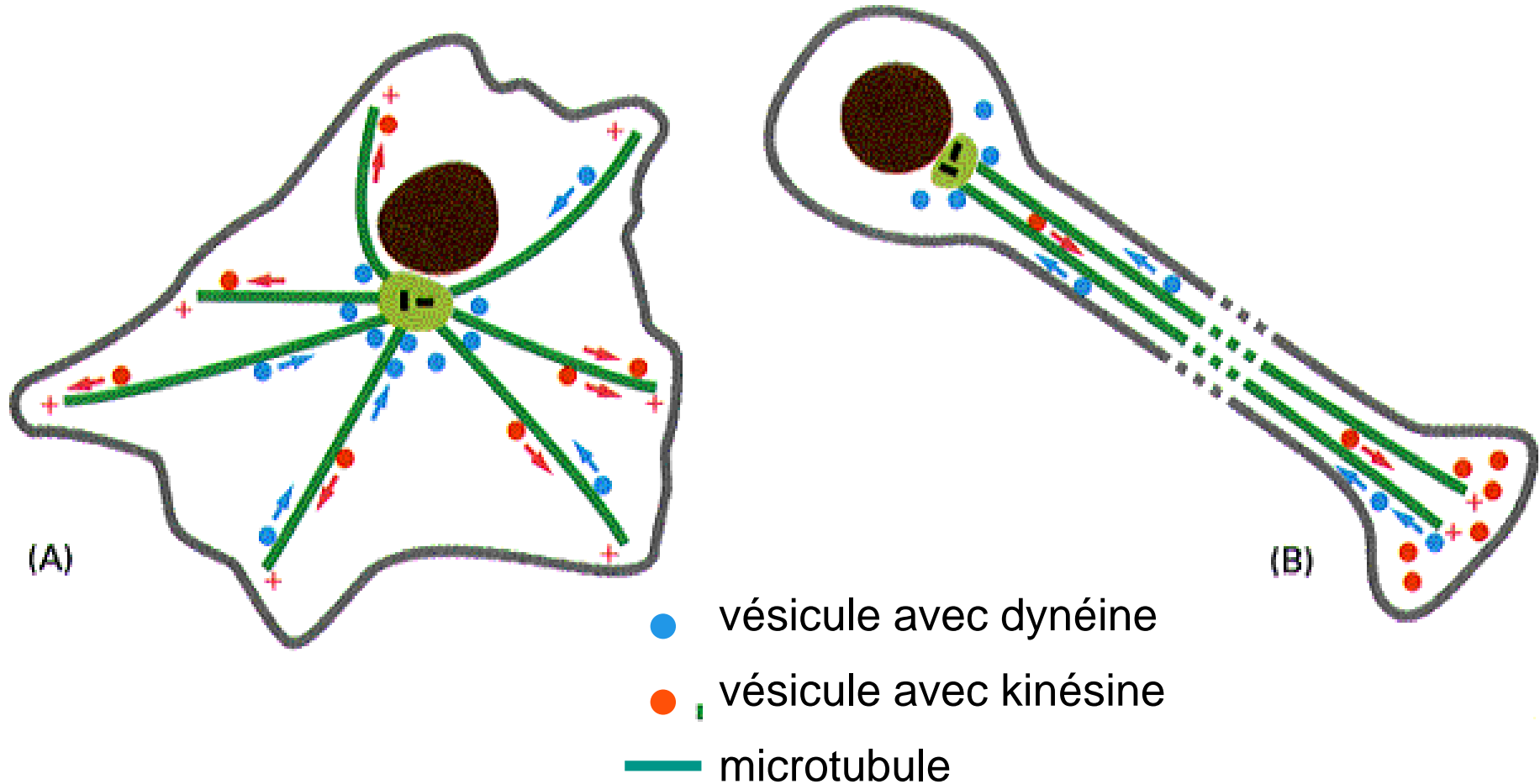
Moteurs moléculaires sur les microtubules



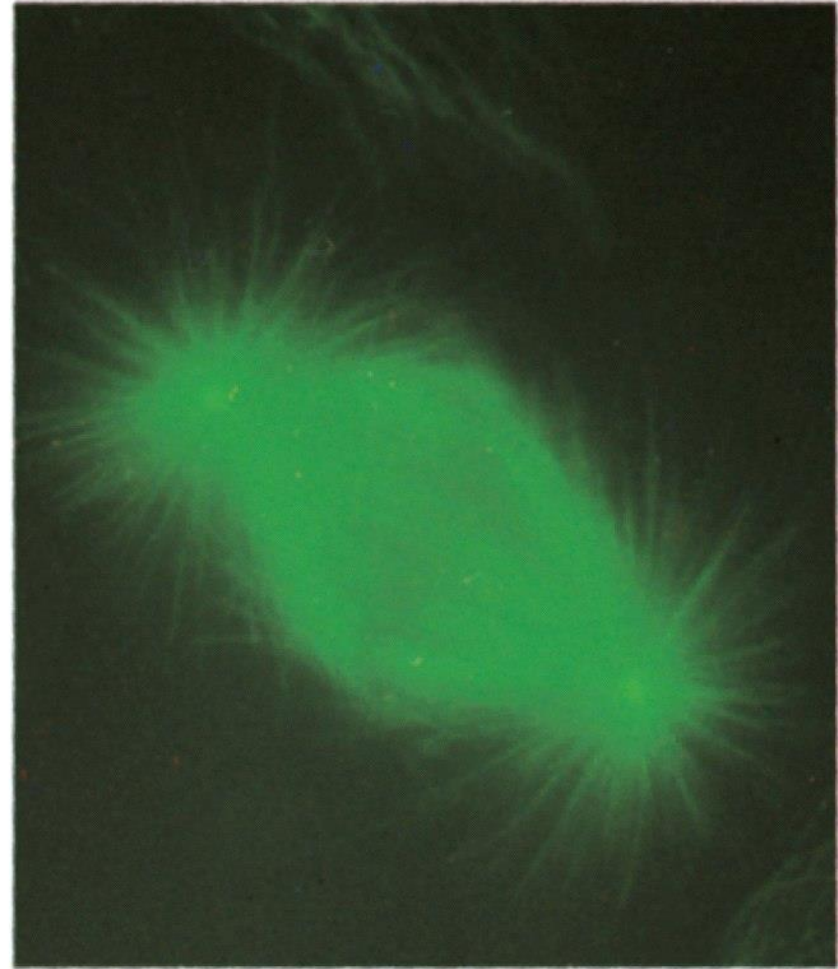
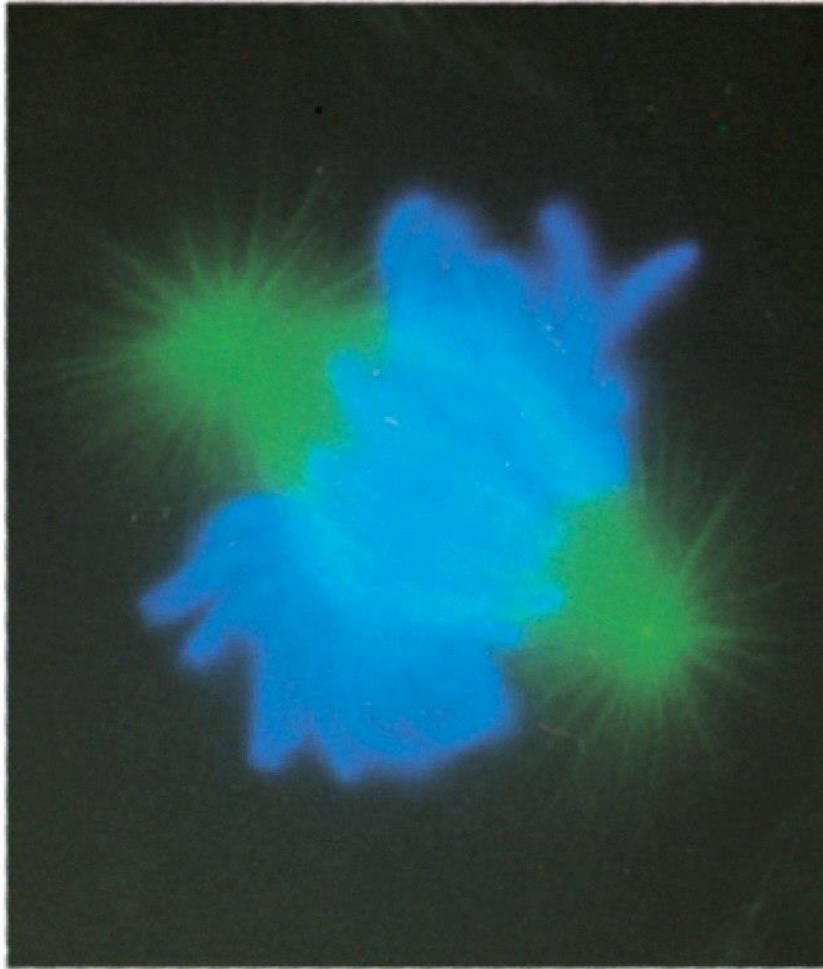
Structure globale des transporteurs kinésine et dynéine



Transport centrifuge et centripète de vésicules



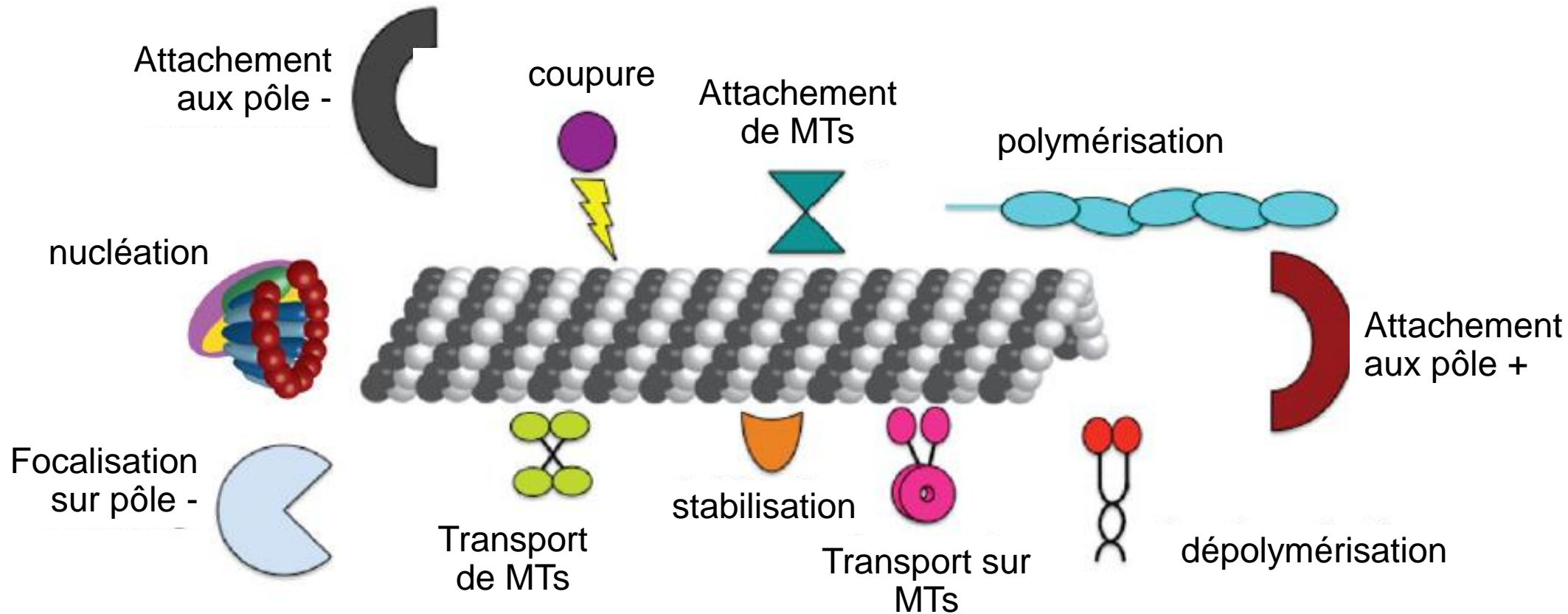
**Microtubules (vert) et chromosomes (bleu)
pendant la mitose**



Metaphase

Les rôles des protéines associées aux microtubules (MAP)

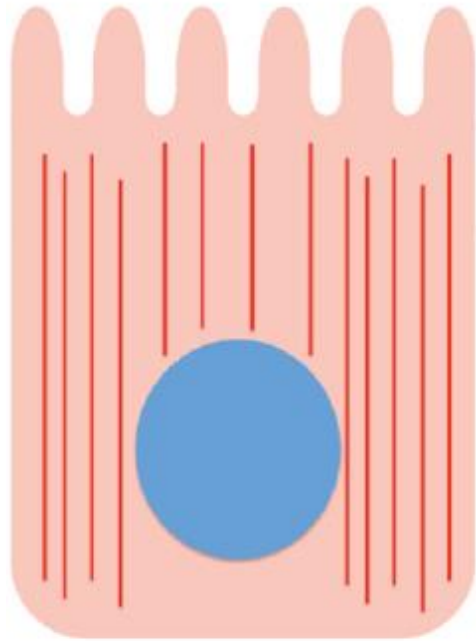
A



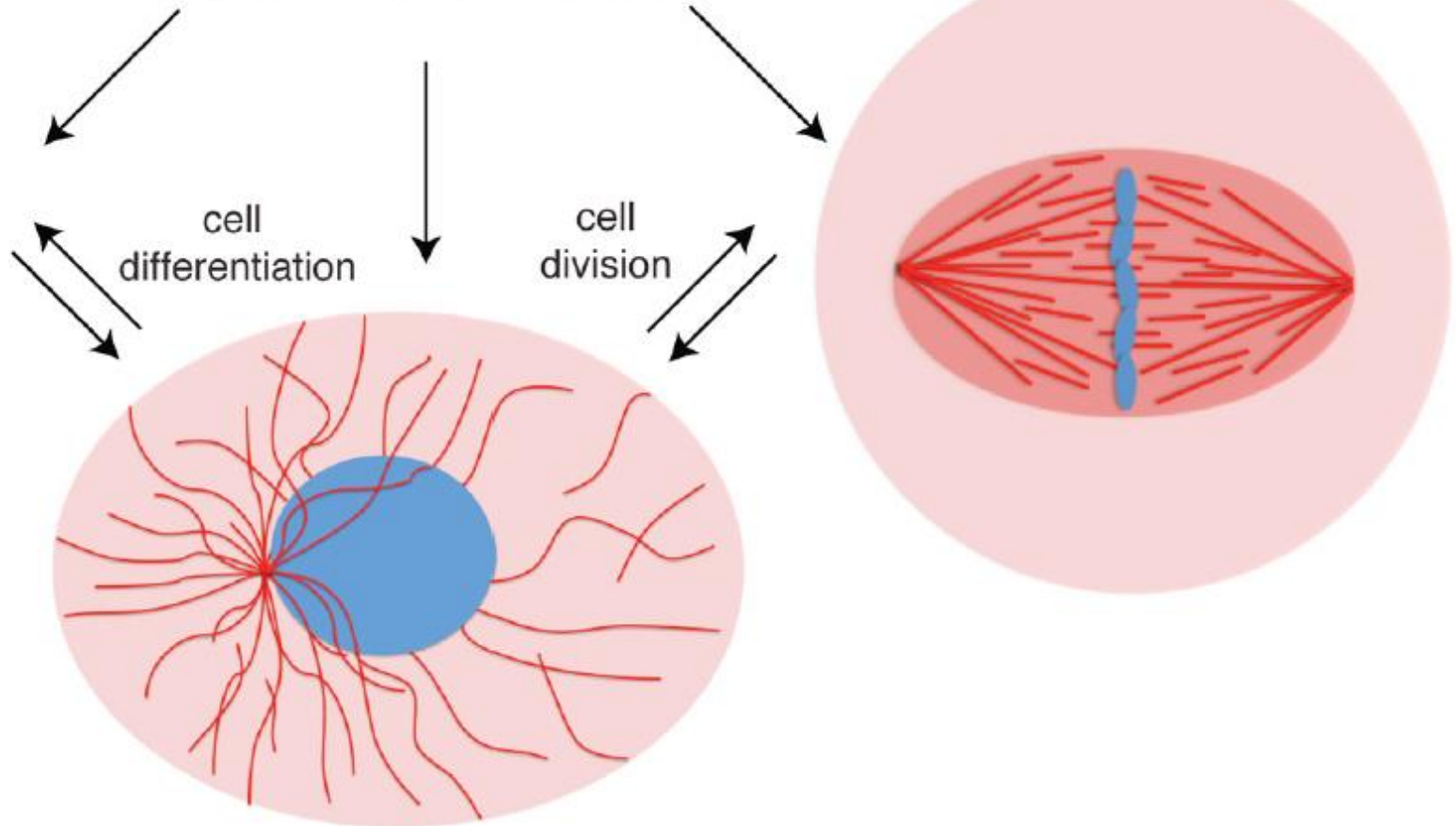
R

Les MAPs pour créer des réseaux de microtubules

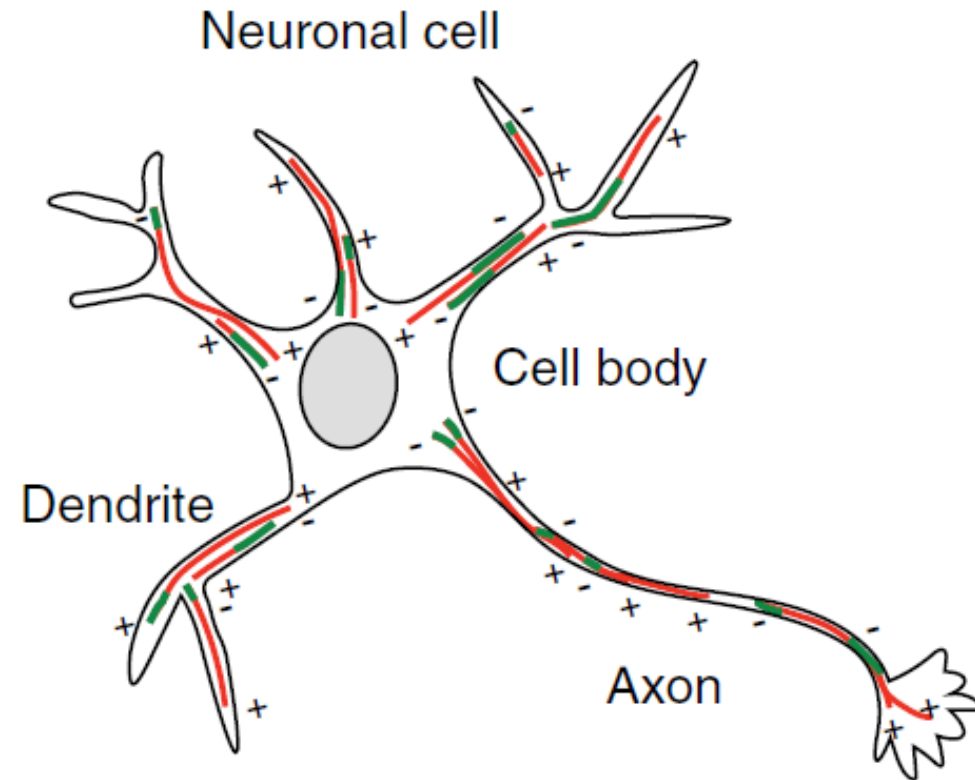
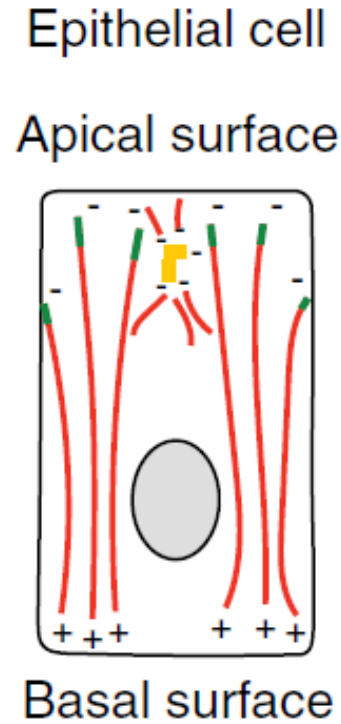
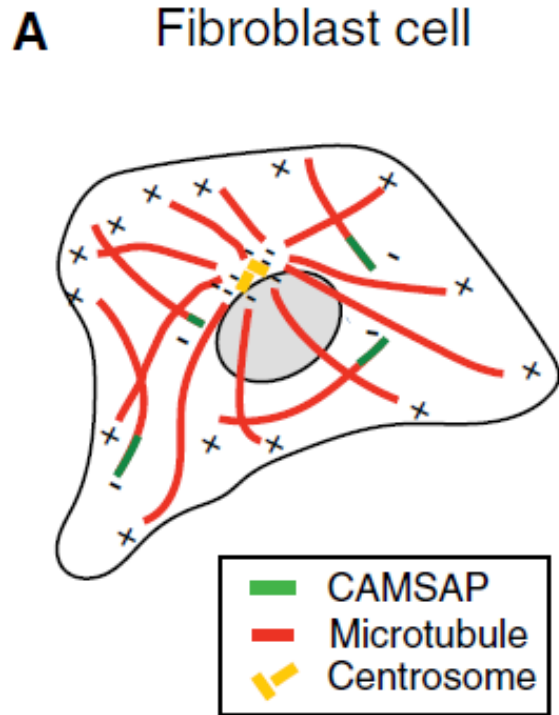
B



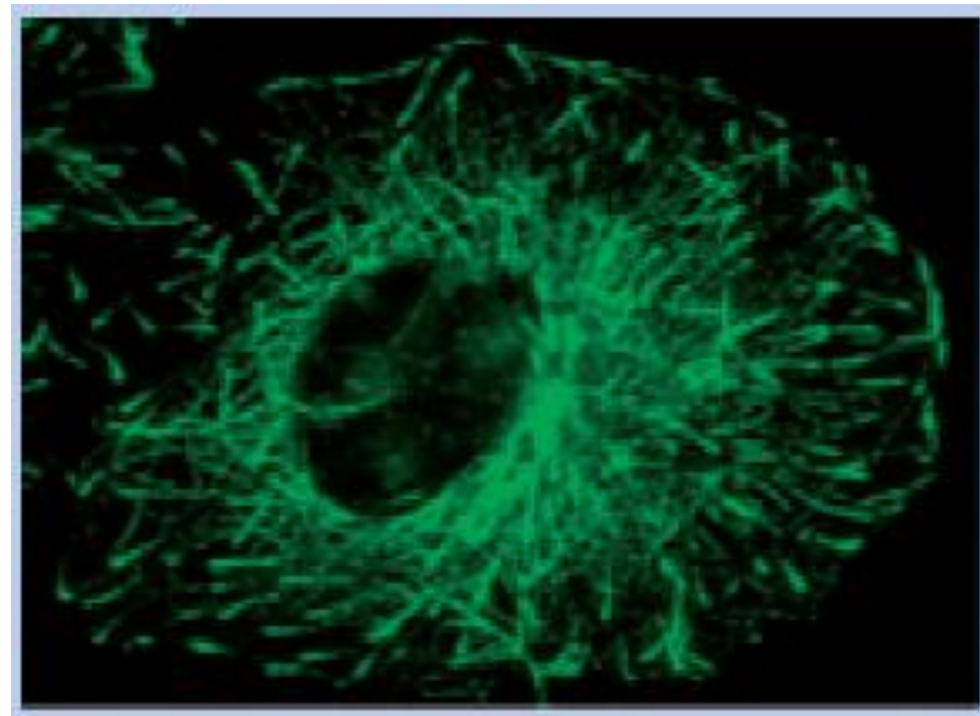
Des combinaisons de MAPs dirigent l'auto-organisation des microtubules en réseaux fonctionnels



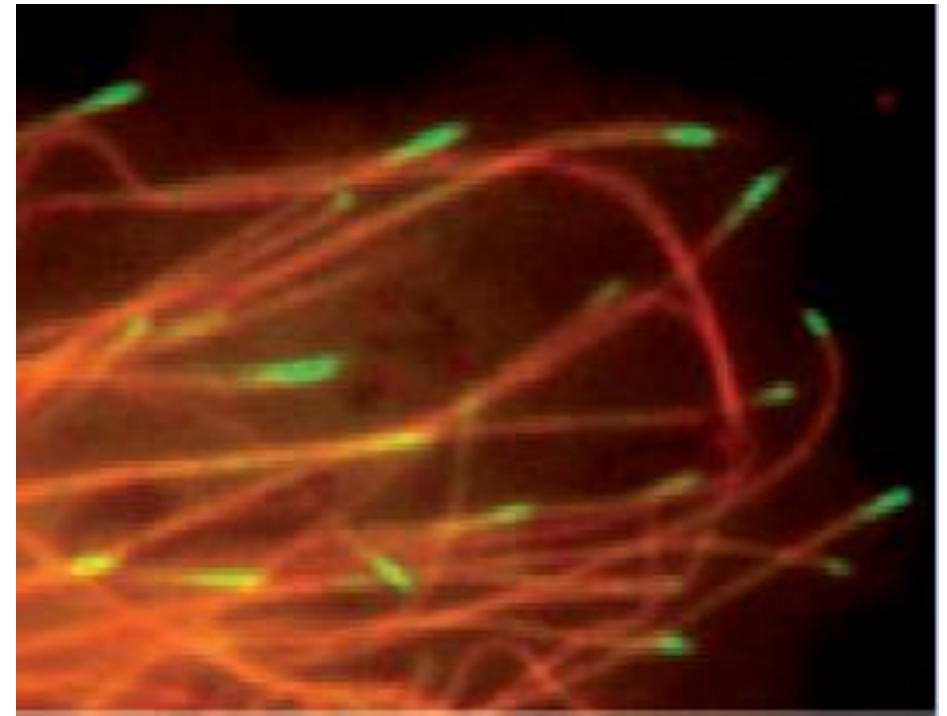
Organisation centrosomale et non-centrosomale des microtubules



+TIPs – protéines qui s'accumulent spécifiquement à l'extrémité + des microtubules

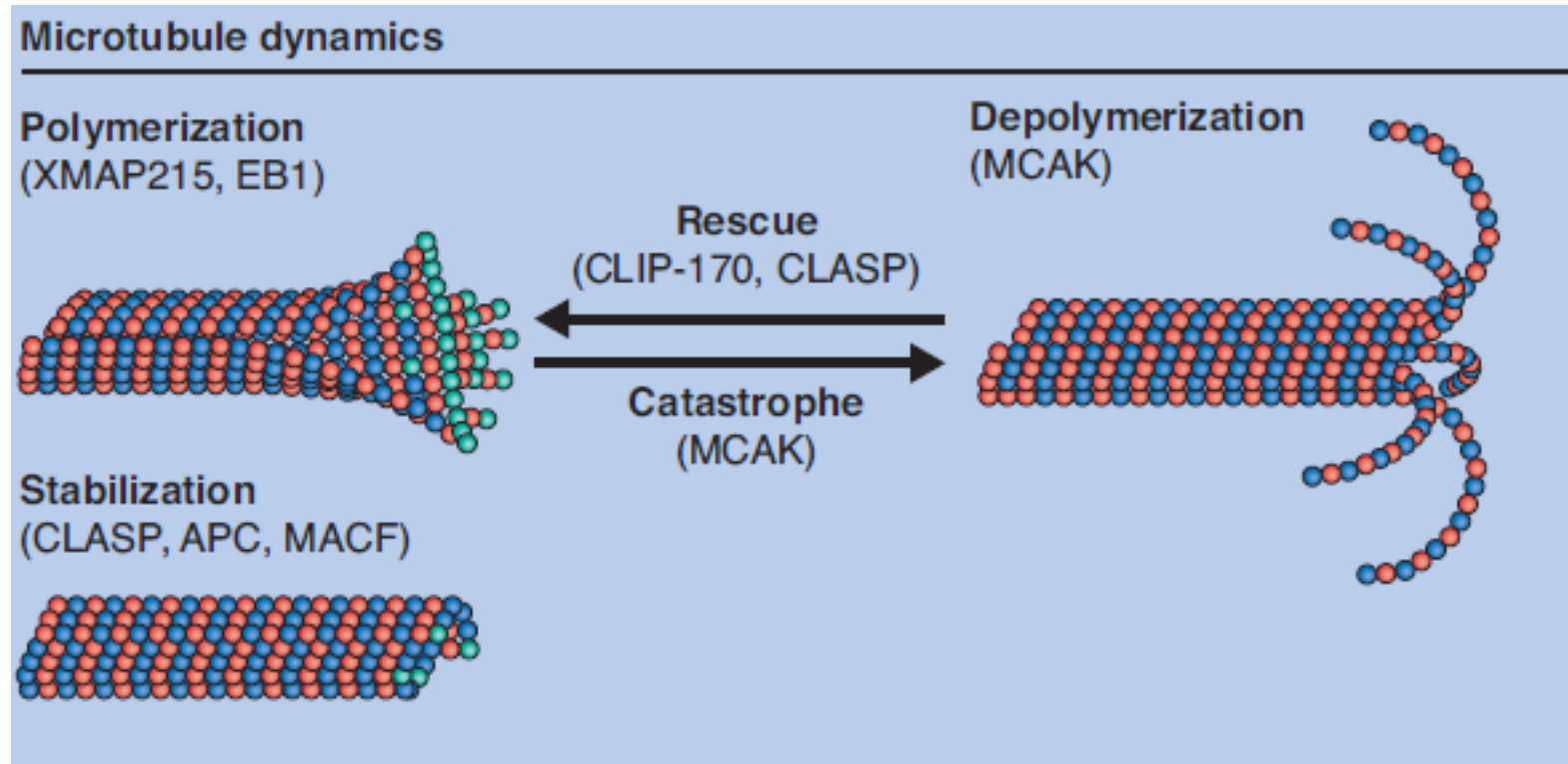


EB1, un +TIP dans une cellule de
rein de singe en interphase



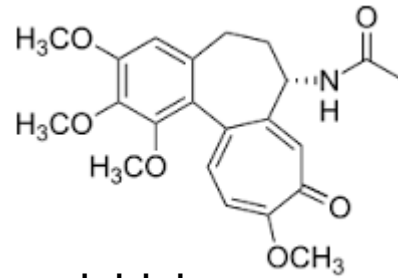
Fibroblastes de poumon humain
avec mCherry-tubuline (rouge) et
EB3-GFP (vert)

Multiple rôles des +TIPs dans la dynamique des microtubules et leurs interactions

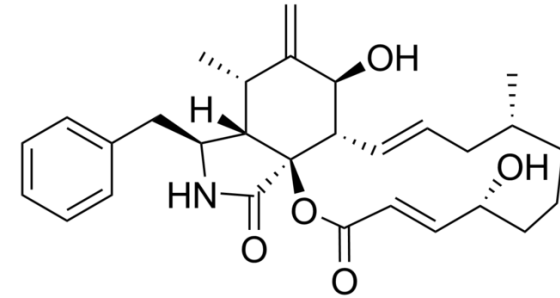


Les +TIPs interviennent aussi dans l'interaction entre MTs et le réticulum endoplasmique, les chromosomes, des vésicules, le cortex cellulaire, d'autres MTs, les filaments d'actine

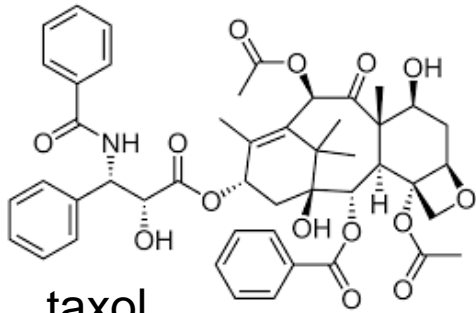
Perturber la dynamique des microfilaments et des microtubules



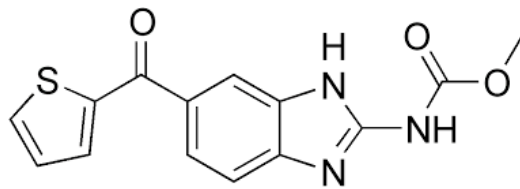
colchicine



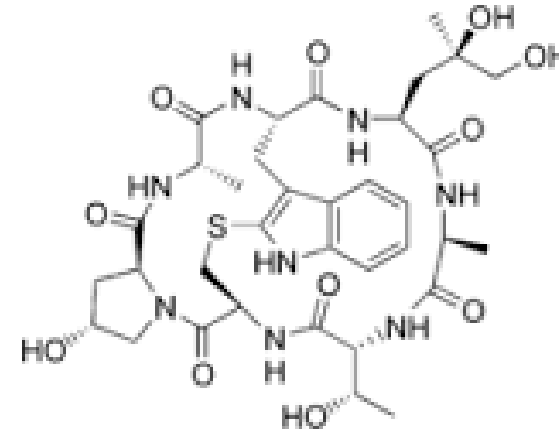
Cytochalasine B



taxol



nocodazole



phalloïdine



amanites

Substances agissant sur les microfilaments

nom	action
Cytochalasine B, D	Inhibe polymérisation
Jasplakinolide	Stimule nucléation
Latrunculine A, B	Inhibe polymérisation
Phalloïdine	Stabilise polymère

Substances agissant sur les microtubules

nom	action
Colchicine	Inhibe polymérisation
Nocodazole	Inhibe polymérisation
Paclitaxel / Taxol	Stabilise polymère
Vinblastine	Inhibe polymérisation

Substances agissant sur les microfilaments

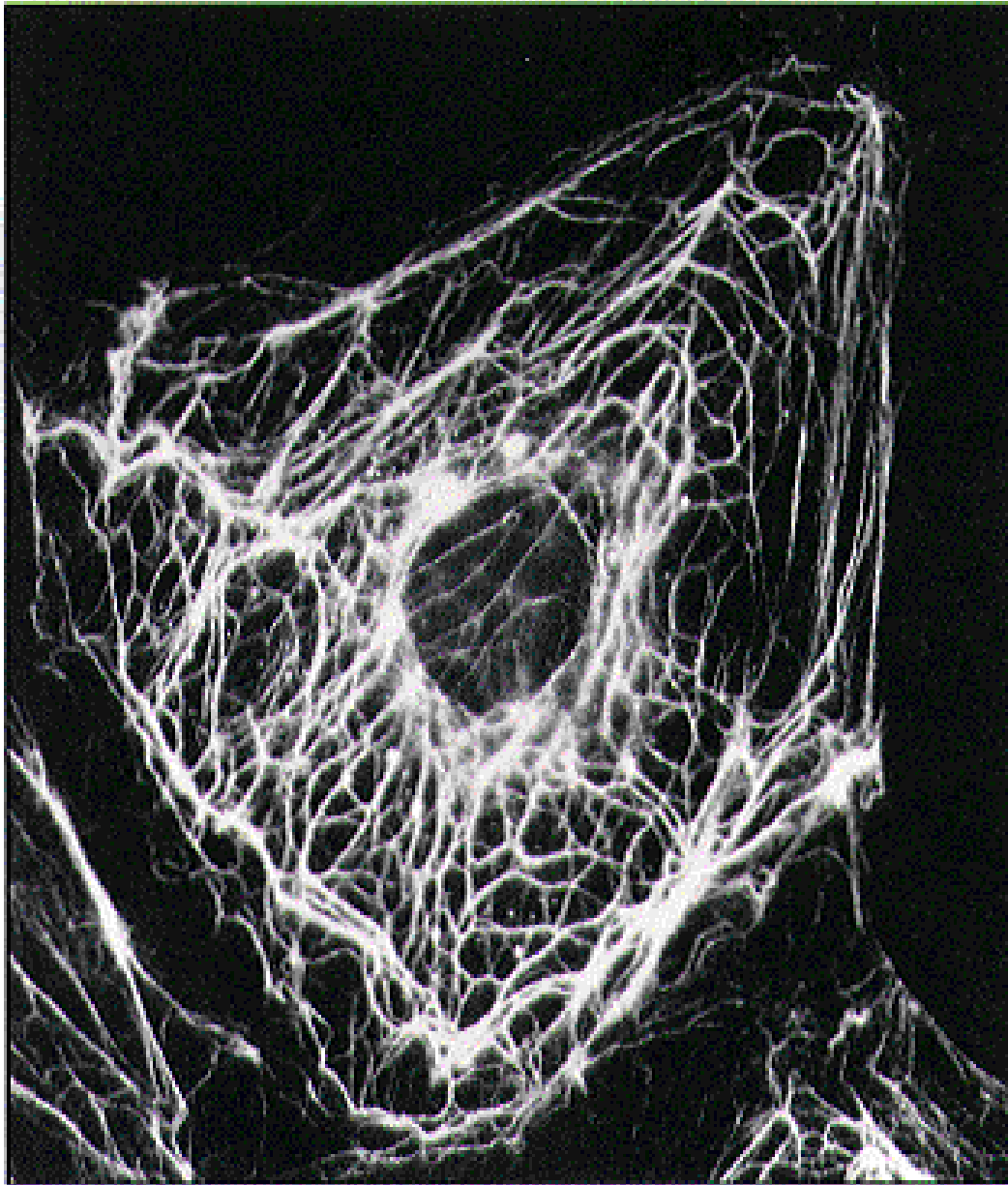
nom	application
Cytochalasine B, D	Inhibition de mouvement cellulaire
Jasplakinolide	Etudes sur le cytosquelette
Latrunculine A, B	Études sur le cytosquelette
Phalloïdine	Marquage de filaments par dérivés fluorescents

Substances agissant sur les microtubules

nom	application
Colchicine	Caryotypage; Traitement de la goutte
Nocodazole	synchronisation de culture, arrêt en phase M
Paclitaxel / Taxol	Traitement anticancéreux
Vinblastine	Traitement anticancéreux

Filaments intermédiaires

- **Fibres protéiques**
- **Résistant**
- **Durable**
- **Diamètre « intermédiaire »**
- **Réseau**
- **Sans activité enzymatique connue**
- **Sans polarité**
- **> 70 gènes chez l'homme**
- **« carte d'identité » / marqueur de maladie**
- **Seulement dans certains métazoaires**

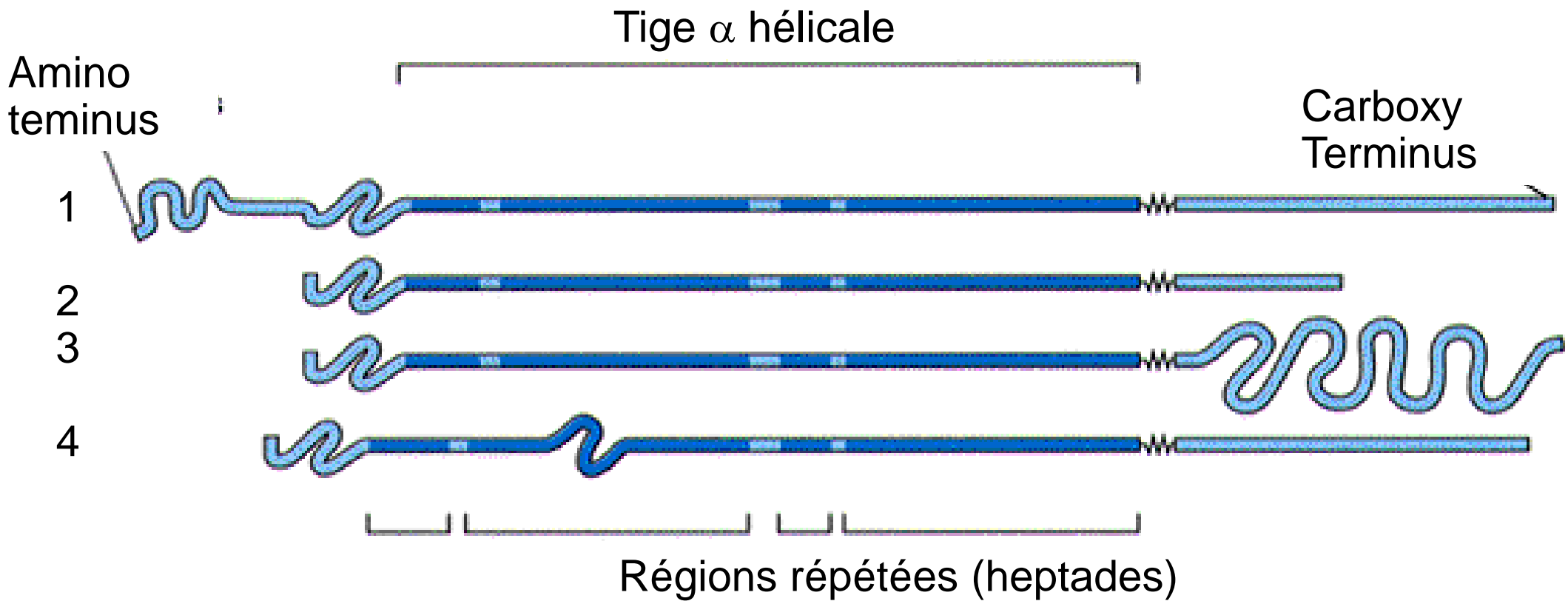


20 μm

Réseau de filaments intermédiaires 2

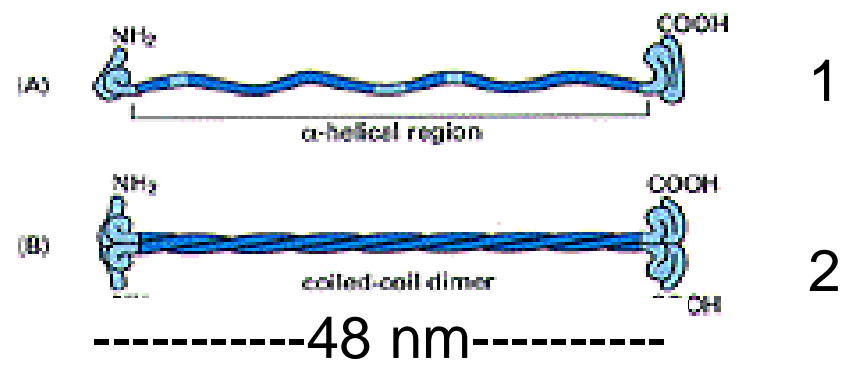
Cellules
épithéliales
(PtK2)
Anticorps anti-
kératine,

Organisation des protéines des filaments intermédiaires



- 1 kératine
- 2 vimentine
- 3 protéines des neurofilaments
- 4 lamines nucléaires

Construction des filaments intermédiaires

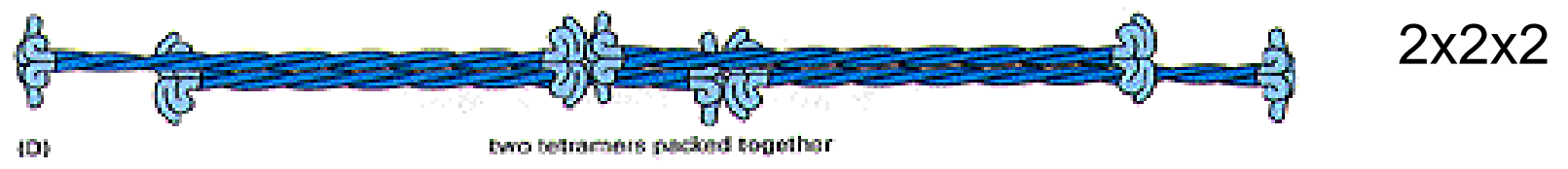


1

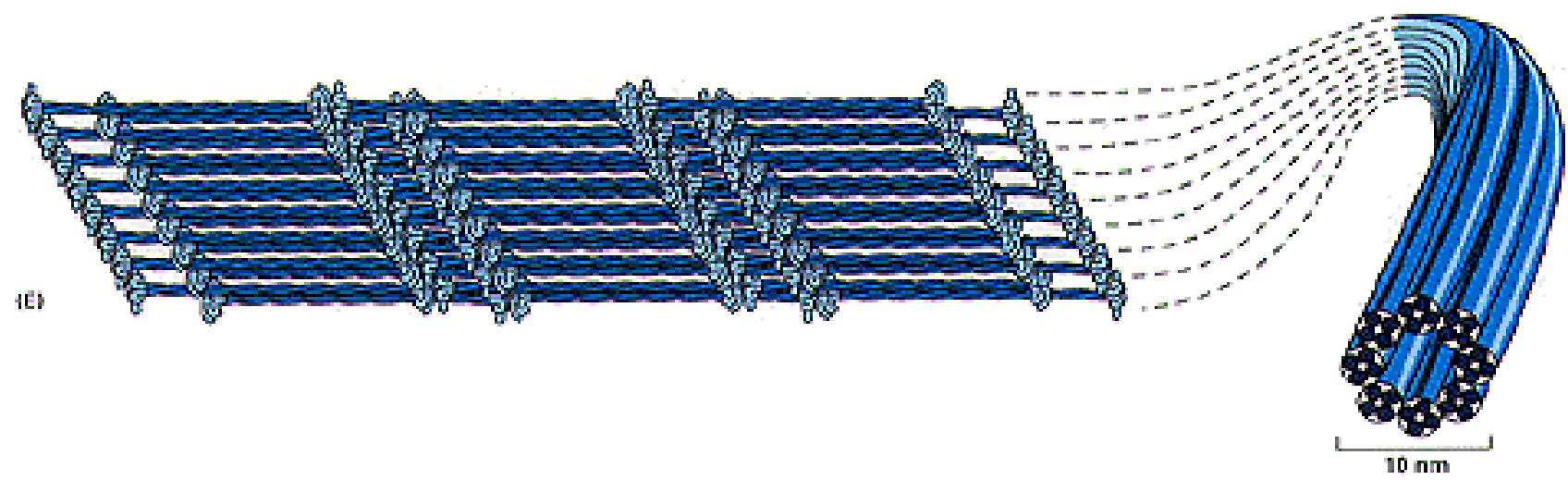
2



2x2



2x2x2



Classification des filaments intermédiaires

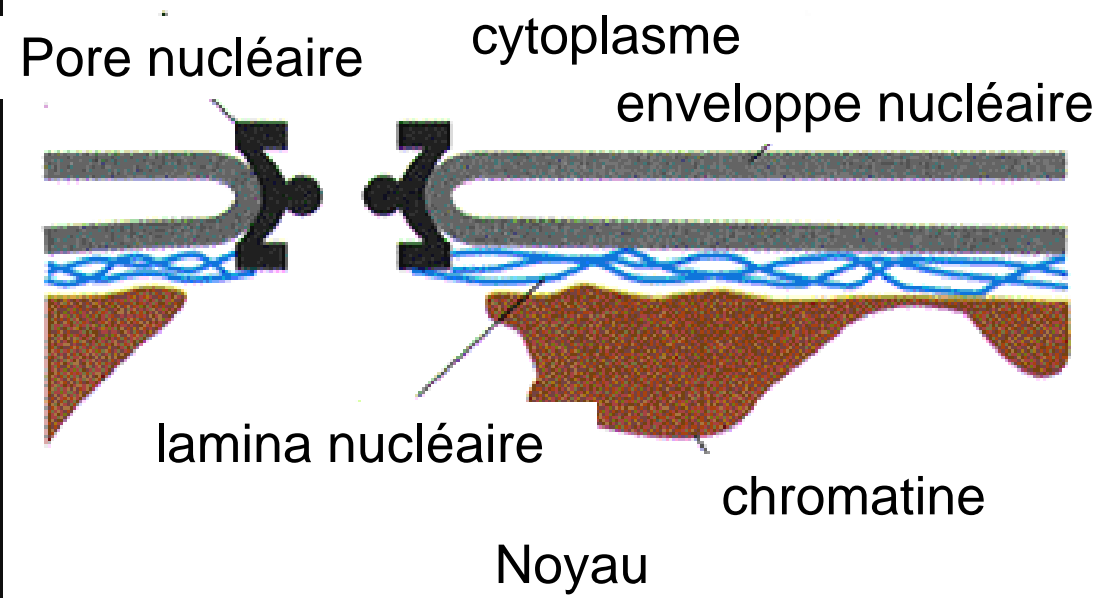
Type I : **kératines** acides (40 – 70 kDa) cellules épithéliales
Type II : kératines basiques (40 – 70 kDa) cellules épithéliales

Type III :
vimentine (54 kDa) fibroblastes, adipocytes, cellules endothéliales
desmin et synémine (53 kDa) cellules musculaires
protéine fibrillaire gliale acide (50 kDa) cellules gliales, astrocytes
Périphérine (66 kDa) cellules neuronales

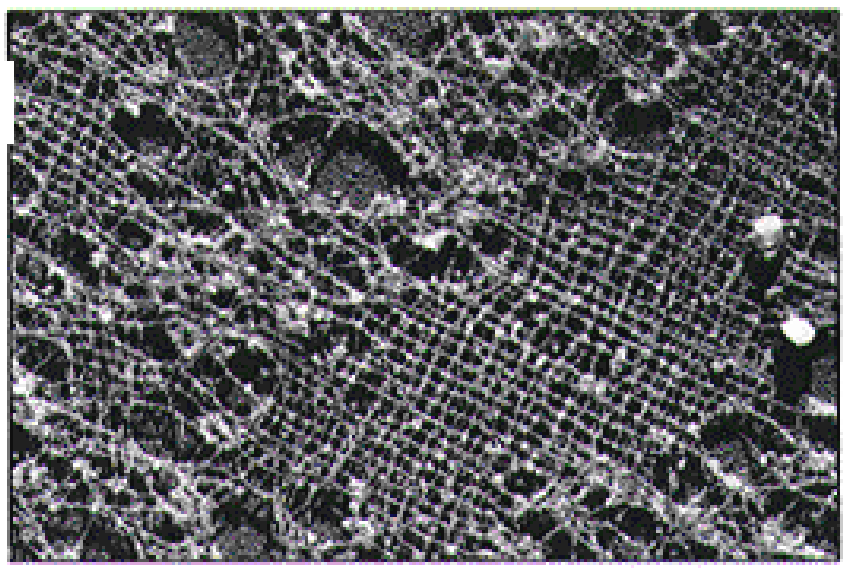
Type IV :
Neurofilamines (NF-L, -M, -H, 60 – 130 kDa) cellules neuronales
syncoline cellules musculaires

Type V : **lamines** A, B, C (65 – 75 kDa) lamina nucléaire

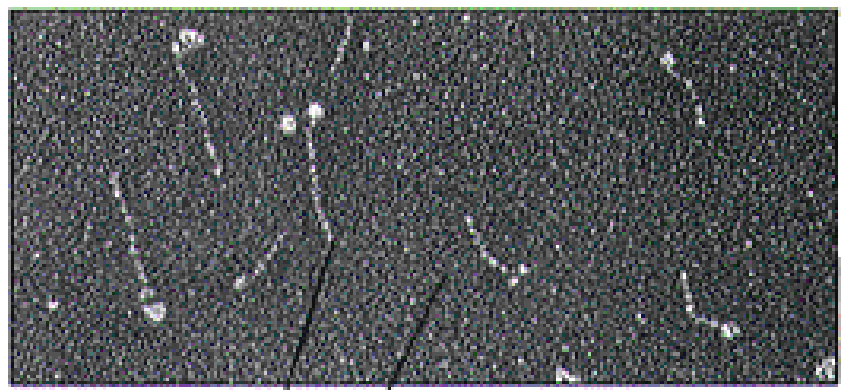
?? : phakinine et filensine lentille



(A)

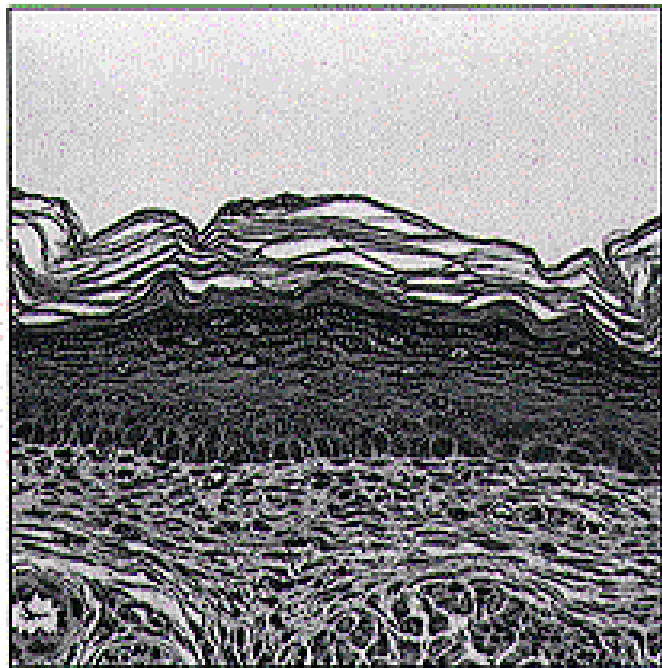


(B)

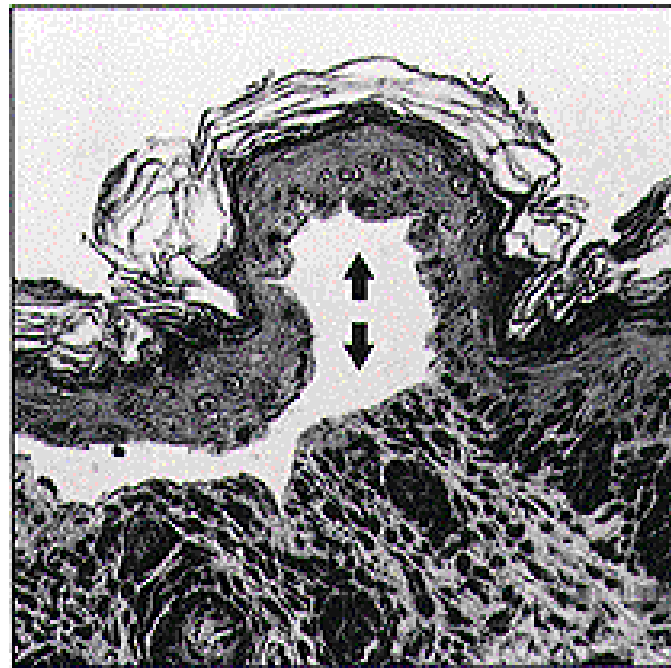


(C)

Lamina nucléaire



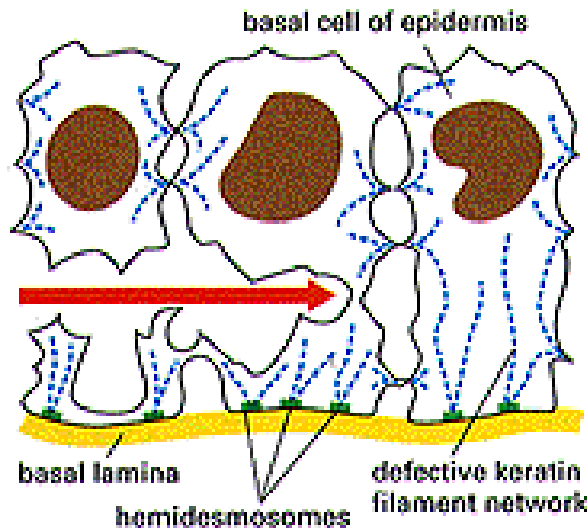
(A)



(B)

40 μm

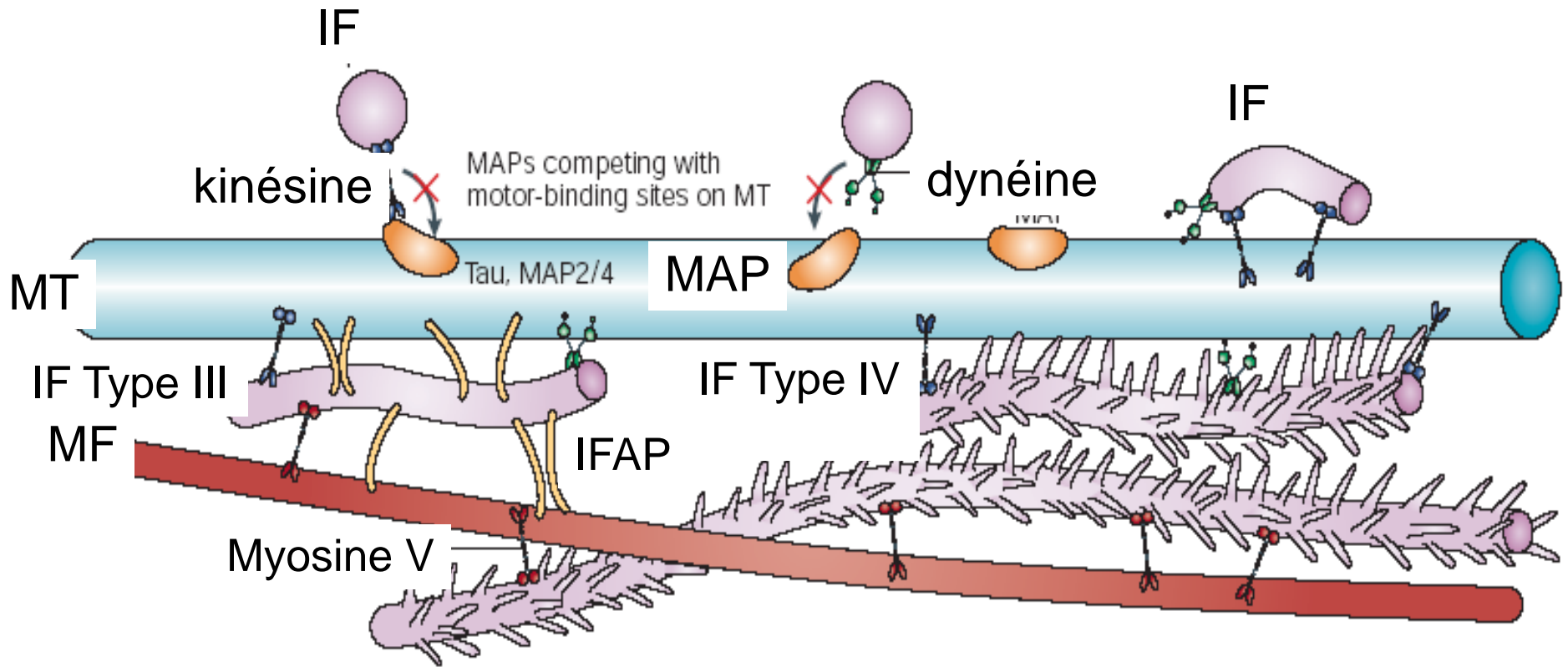
Détachement de la peau due à une mutation du kératine



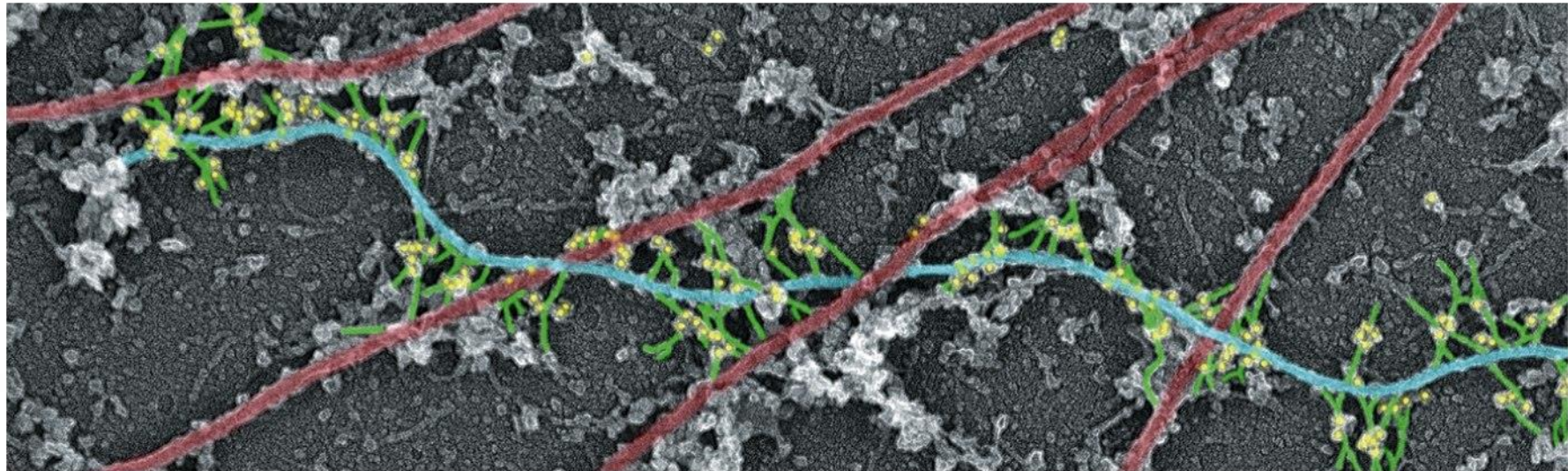
(C)

Cellules basales de l'épiderme avec filaments de kératines défectueuses

Interactions entre filaments intermédiaires (IF), microtubules (MT) et filaments d'actine (MF)



Interactions entre filaments intermédiaires (bleu) et microtubules (rouge) liés par plectine (vert)



0.5 μm

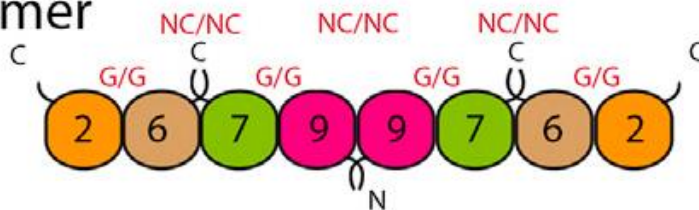
Anticorps anti-plectine marqués avec particules d'or (jaune)
Les filaments d'actine ont été éliminé dans cet échantillon

Septines, la quatrième composante du cytosquelette?

Hexamer



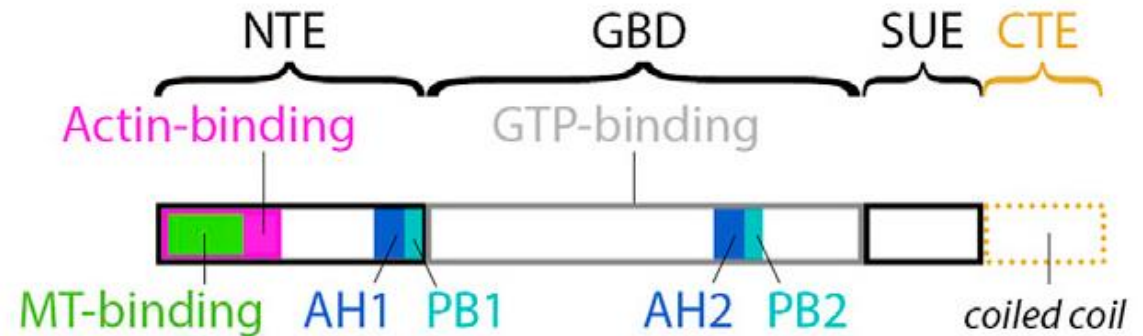
Octamer



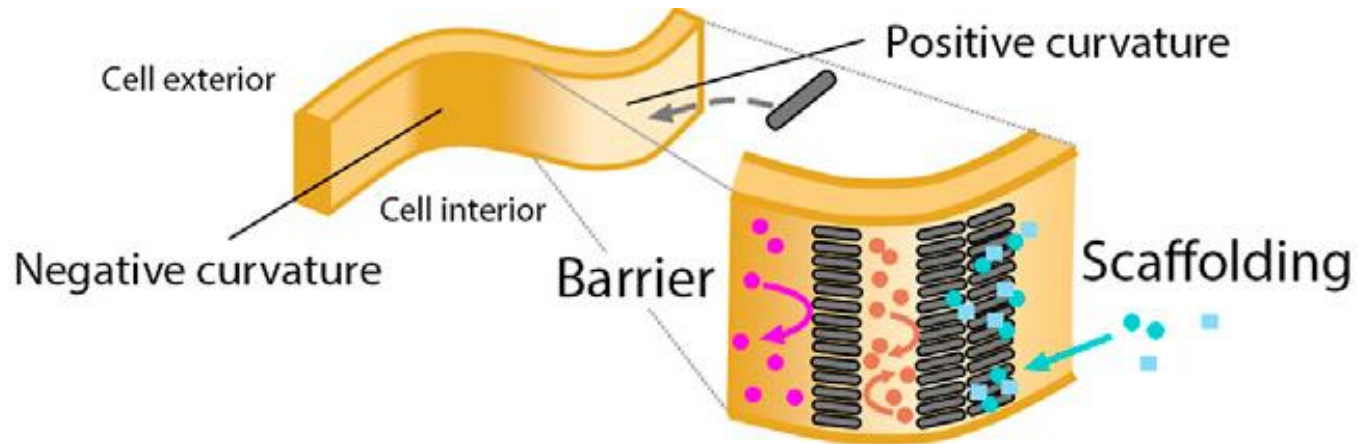
13 gènes chez l'homme
polymérisation en filaments ou
anneaux

Interaction avec :
actine, microtubules,
membranes

GTPase



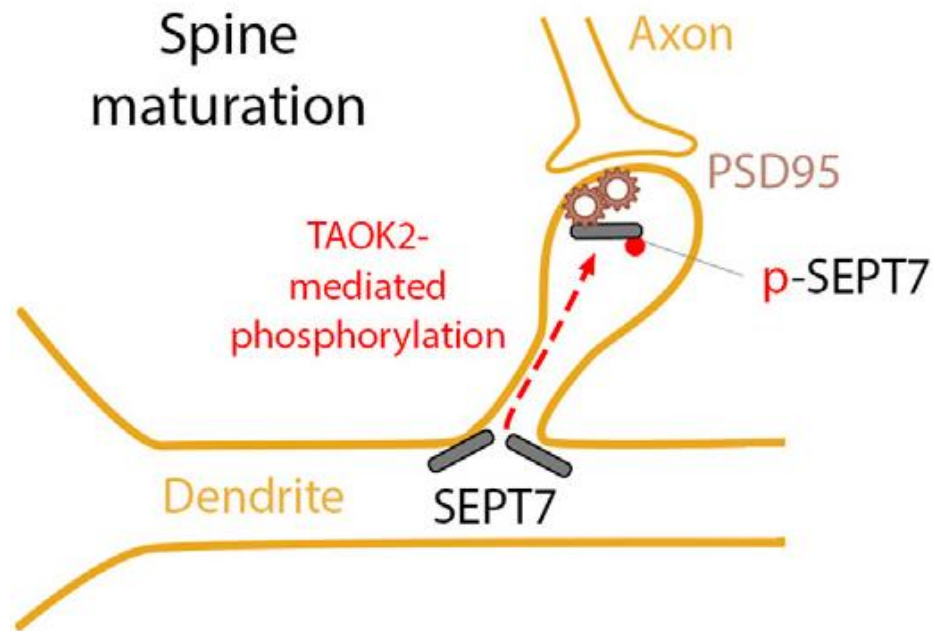
Septines, Interaction avec membranes, rôles divers



Barrières de diffusion
et points d'attache

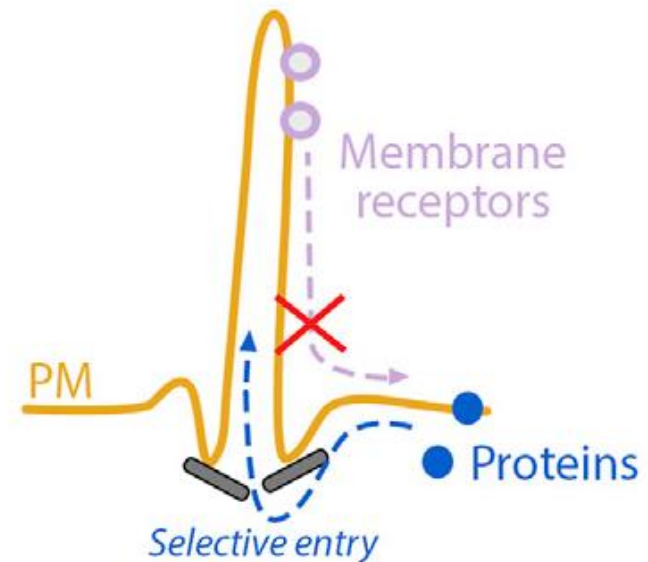
Septines peuvent séparer des domaines membranaires

Exemples :
épines dendritiques et

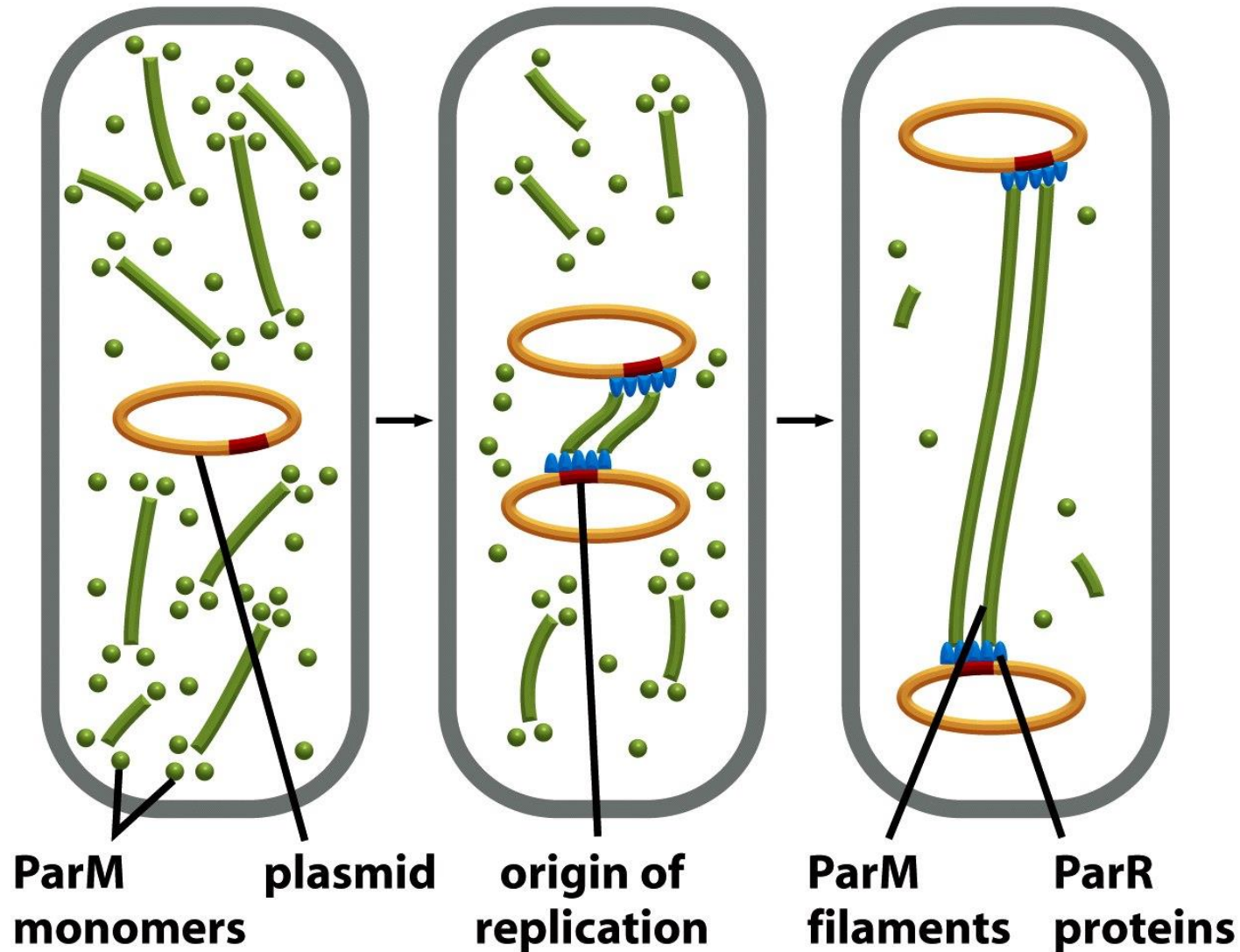


cils primaires

Primary cilium
entry and exit



Les procaryotes possèdent des protéines qui forment des filaments similaire au filaments d'actine



Résumé

Cytosquelette

- 3 types de filaments protéiques
filaments d'actine (FA), microtubules (MT), filaments intermédiaires (FI)
- FA / MT asymétrique, polymérisation et dépolymérisation rapide, hydrolyse d'ATP/GTP
- Concentration critique et tapis roulant
- Protéines de coiffage, consolidation, coupure, formation de faisceaux, glissement, réticulation, transport...
- De nombreuses substances perturbent le cytosquelette

- 5 types de filaments intermédiaires
- Fibres solides symétriques

Questions pour aller plus loin

- Quelle est la taille d'une cellule eucaryote, d'une bactérie, d'un virus, d'une protéine respectivement?
- Quelles sont les limites de résolution de la microscopie photonique et de la microscopie électronique?
- Comparez l'organisation et les fonctions des microtubules d'une cellule en interphase avec une cellule en mitose.
- Comment peut-on expliquer l'accumulation spécifique des +TIPs à l'extrémité + des microtubules?