

# Cytosquelette

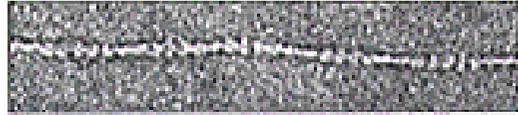
Oliver Nüsse

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

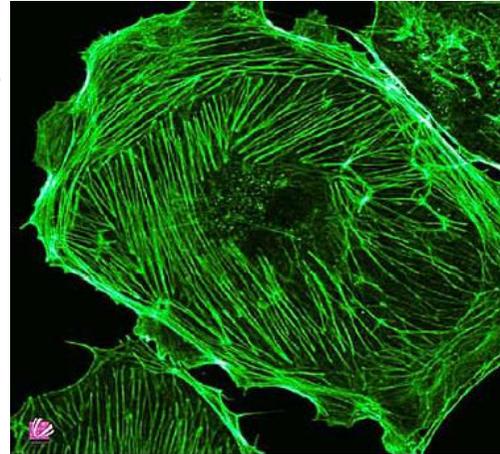
ACTIN FILAMENTS



25 nm



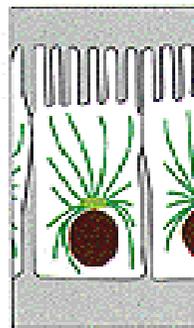
25 µm



Filaments d'actine

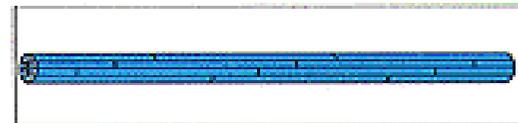
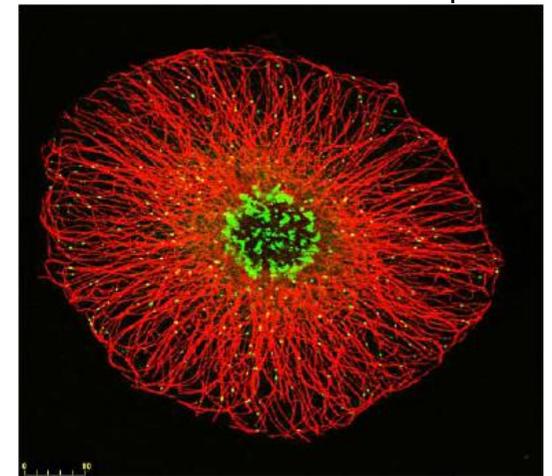


25 nm



25 µm

Microtubules

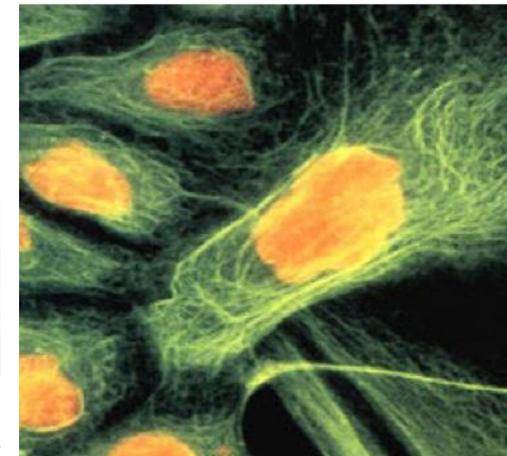


25 nm



25 µm

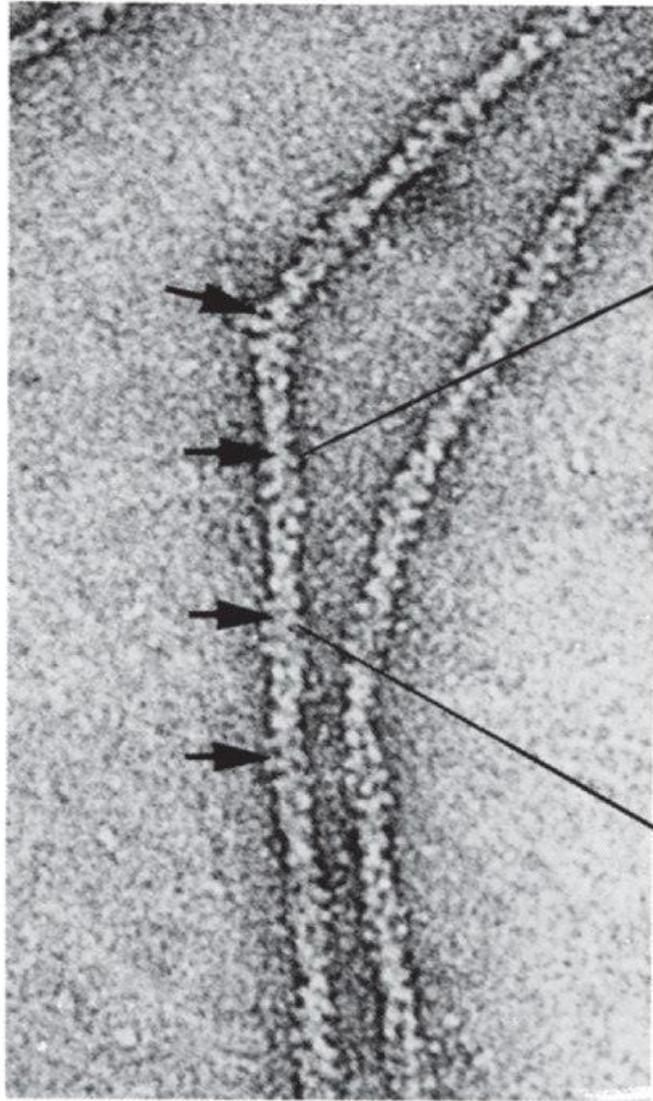
Filaments intermédiaires



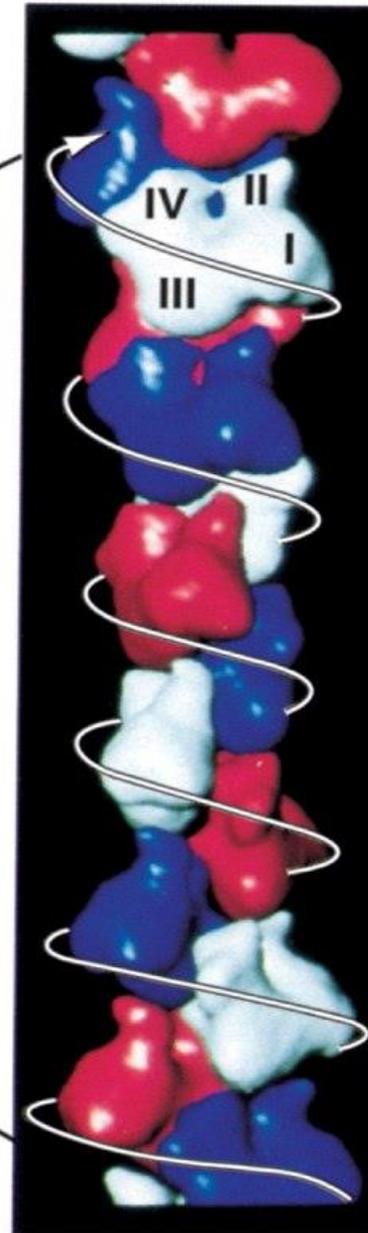
# **Les filaments du cytosquelette sont des polymères de protéines**

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**



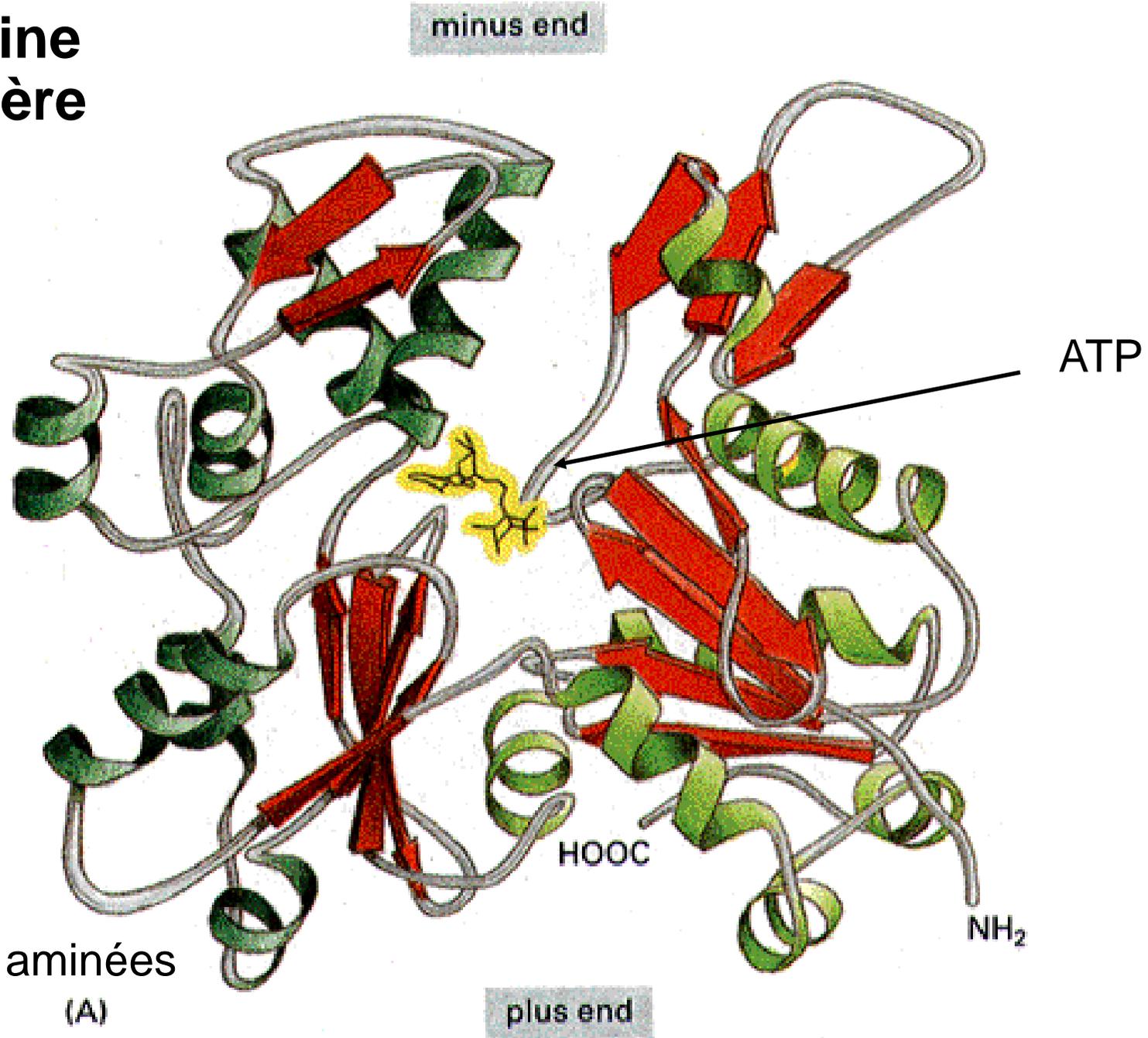
(-) end



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

(+) end

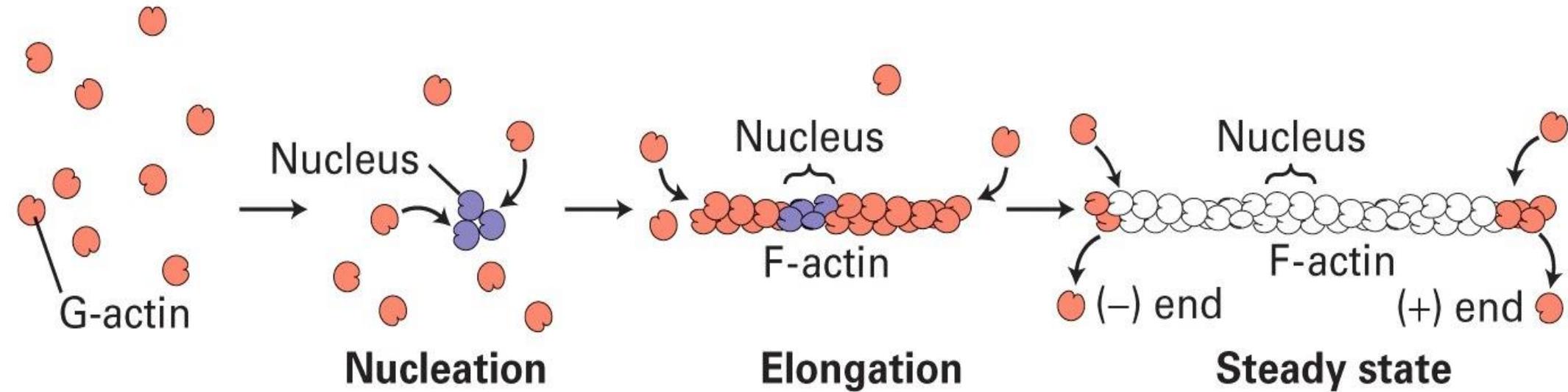
# G – Actine monomère



375 acides aminées  
42 kDa

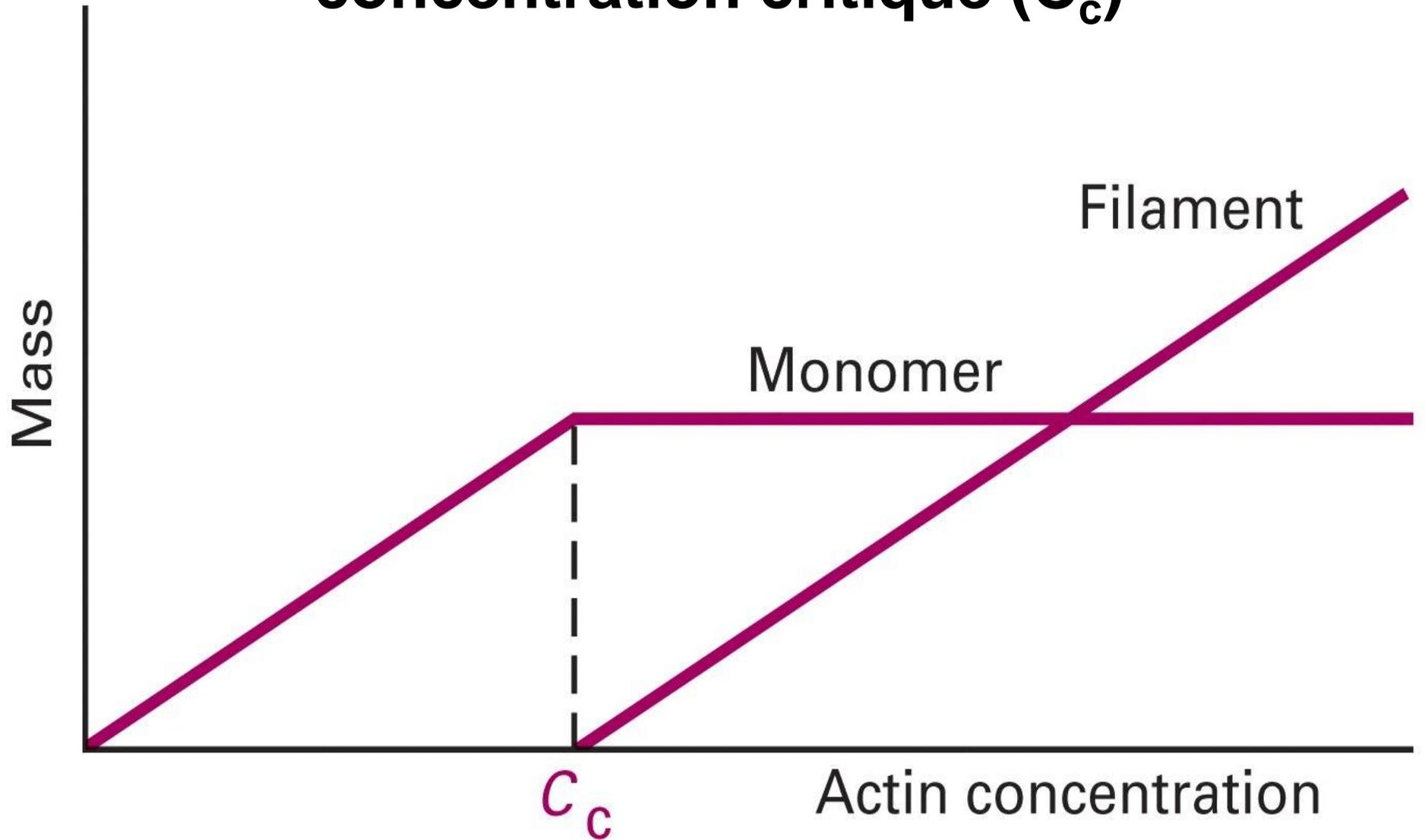
(A)

# Polymérisation et nucléation



tapis roulant  
ou  
treadmilling

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

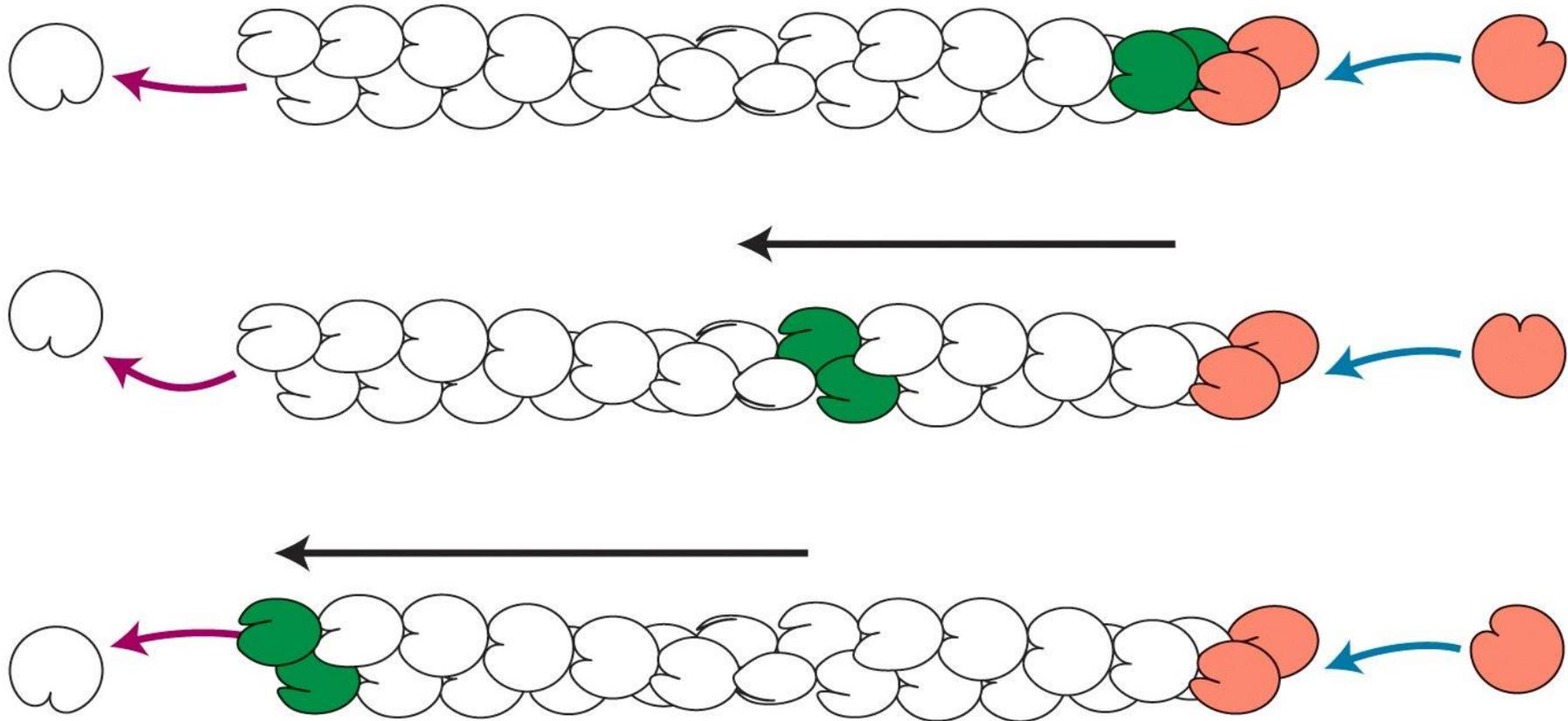


# La croissance asymétrique des filaments due à la différence de $C_c$ des extrémités

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

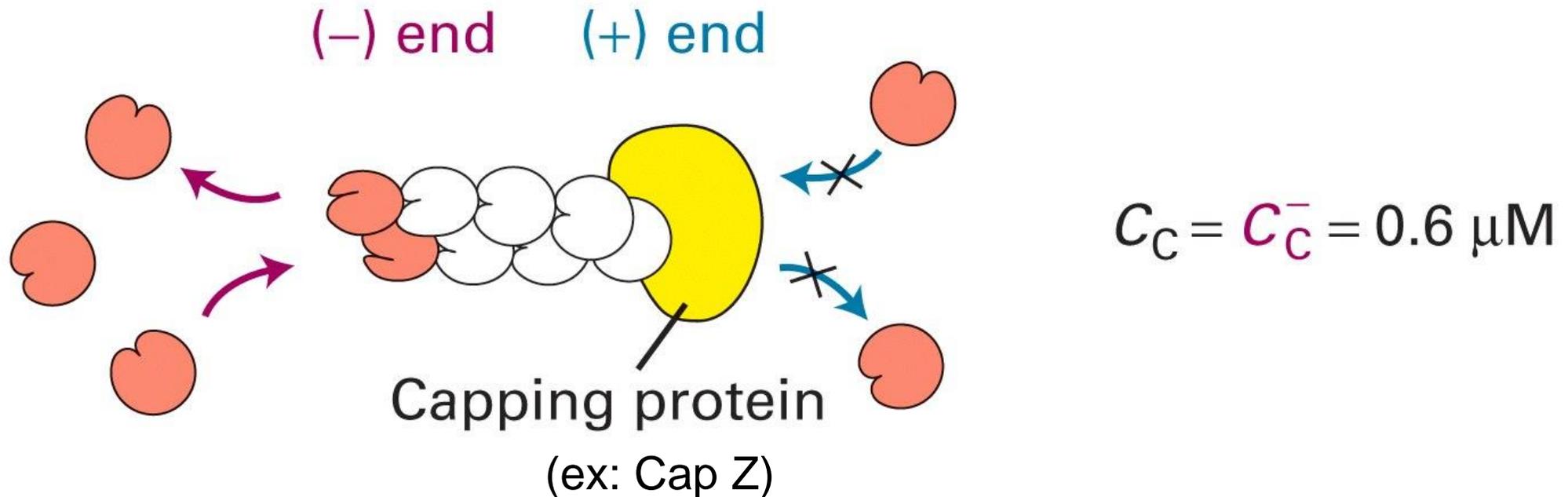
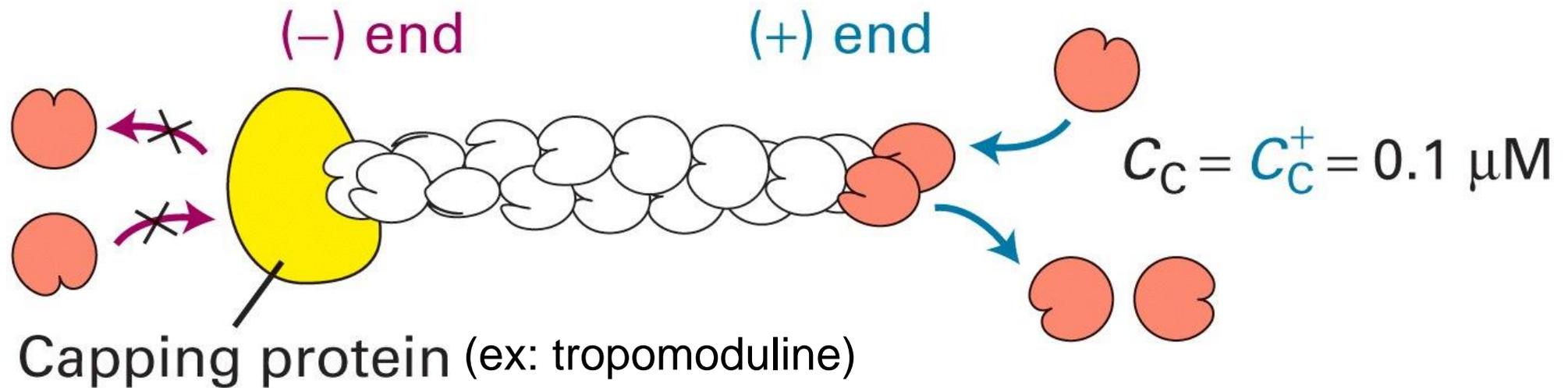
(-)

(+)

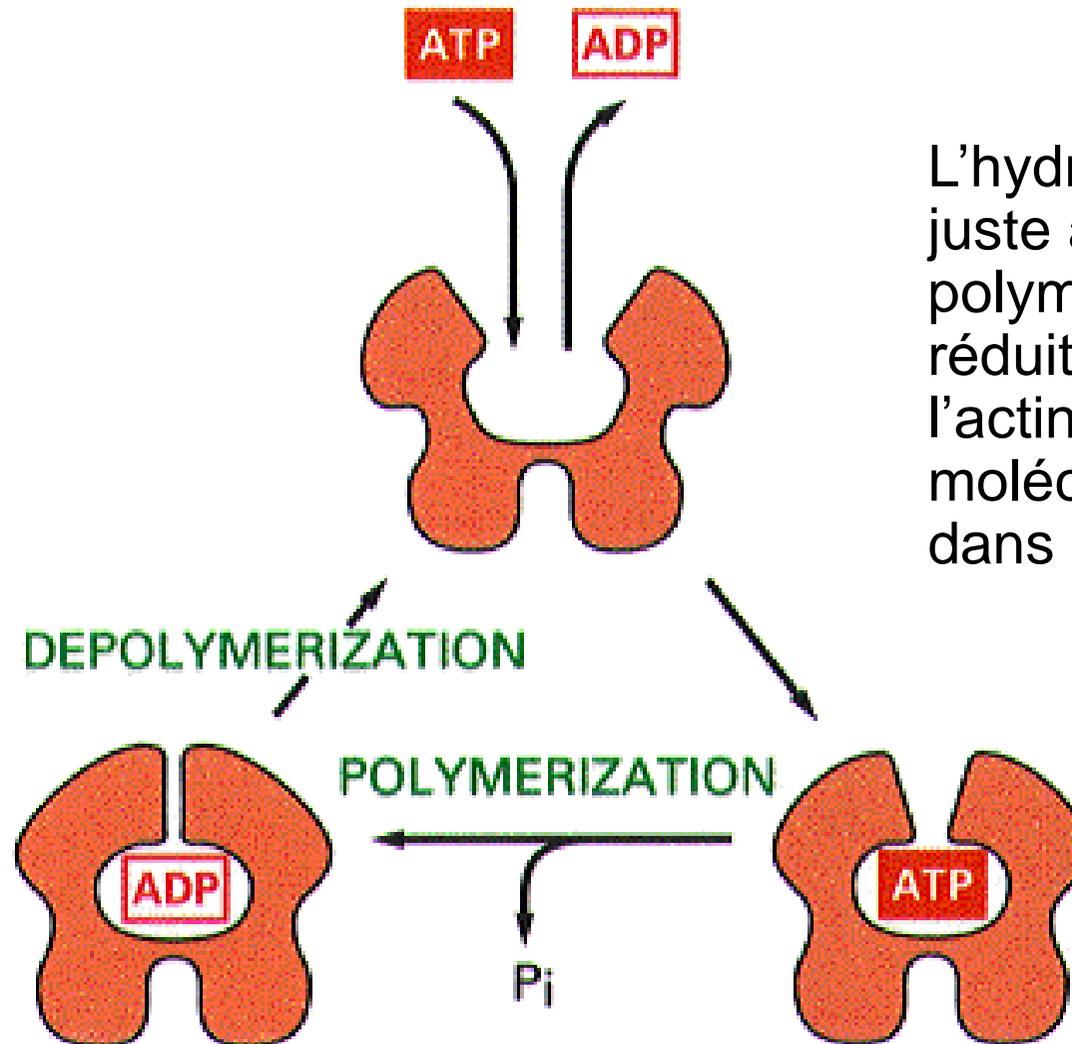


Phénomène de « tapis roulant » ou « treadmilling »

# Le coiffage (capping) et la $C_c$ des extrémités

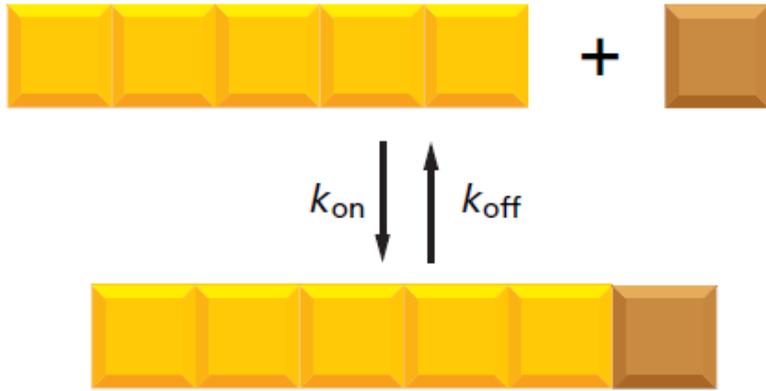


# Cycle d'hydrolyse d'ATP par l'actine



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 :

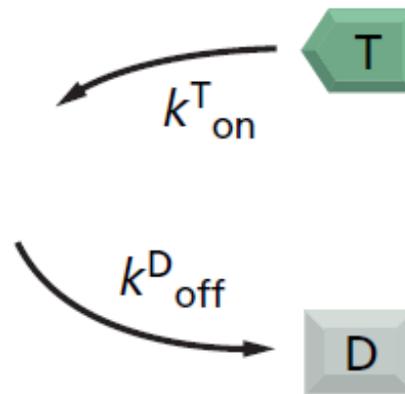
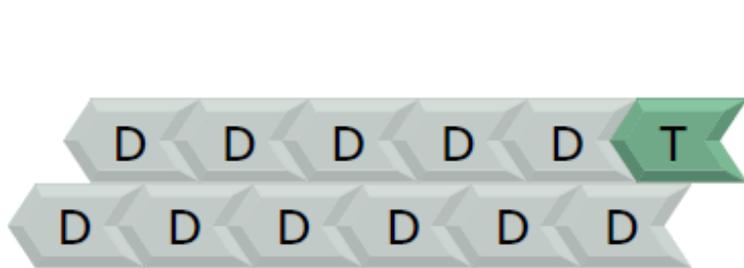
$$k_{ON} \text{ (M}^{-1} \text{ s}^{-1}\text{)}$$

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

A l'équilibre :

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

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



$$k^T_{ON} C = k^D_{OFF}$$

$$C_c = k^D_{OFF} / k^T_{ON}$$

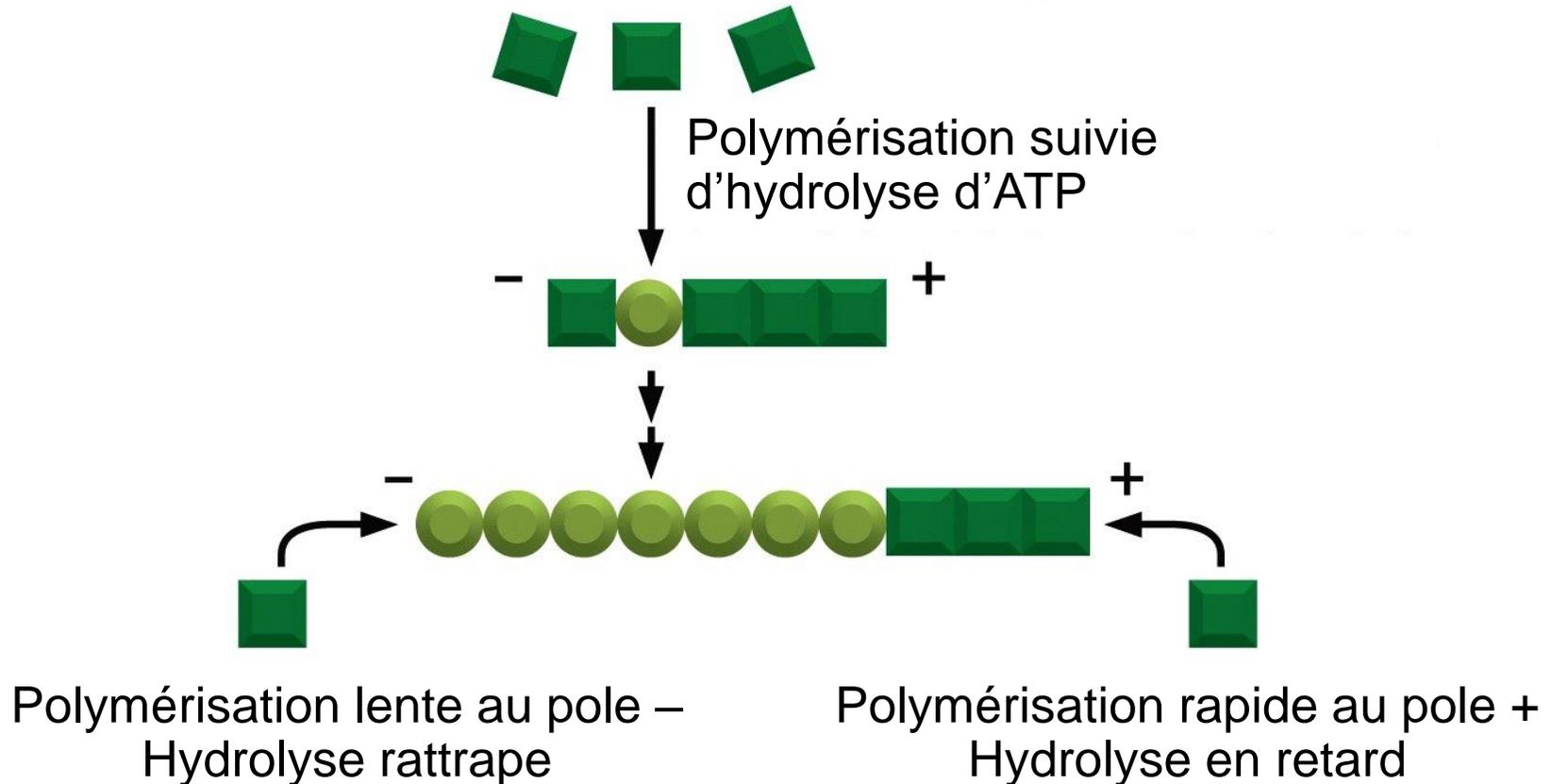
$k^D_{ON}$  et  $k^T_{OFF}$  sont négligeables

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

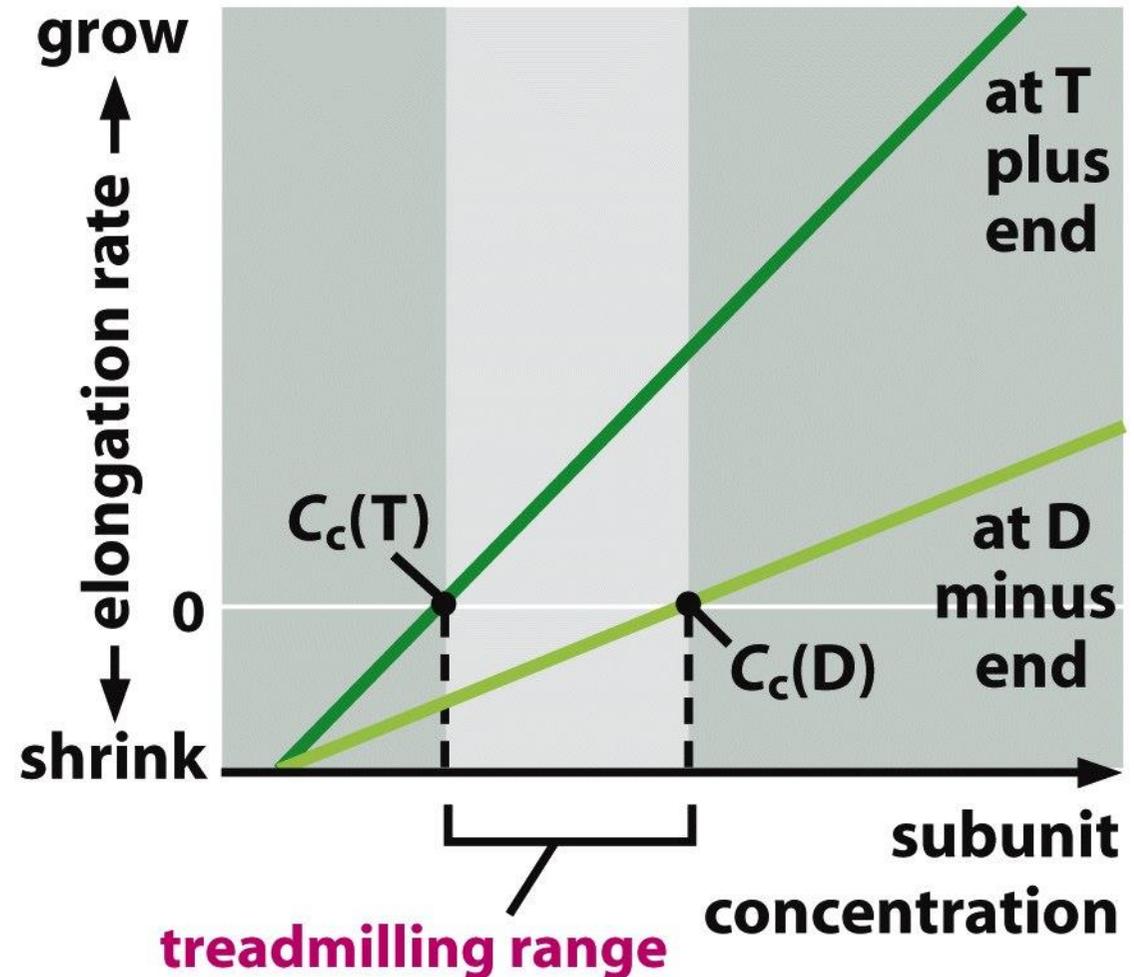
Monomères solubles liés à l'ATP (■)

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



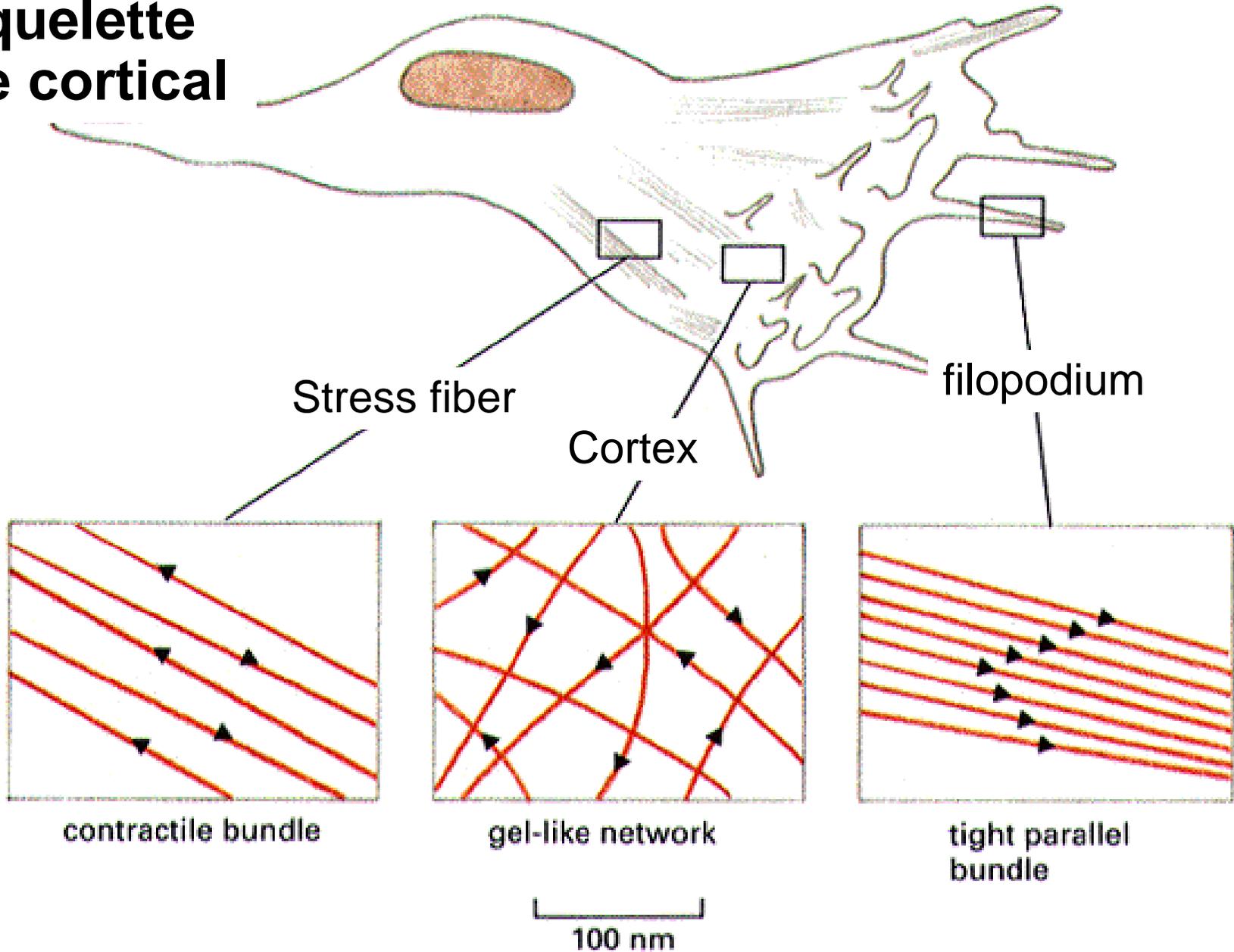
$$C_c(T) < C_c(D)$$

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



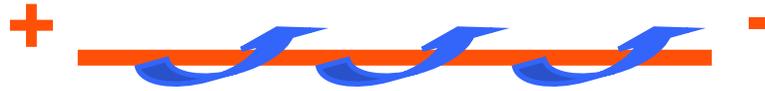
**For  $C_c(T) < C < C_c(D)$   
treadmilling occurs**

# 3 formes du cytosquelette d'actine cortical

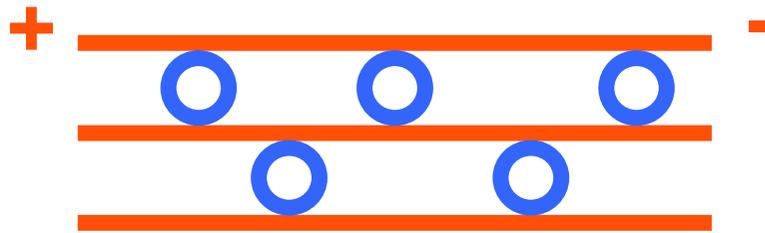


# Protéines de liaison à l'actine (1)

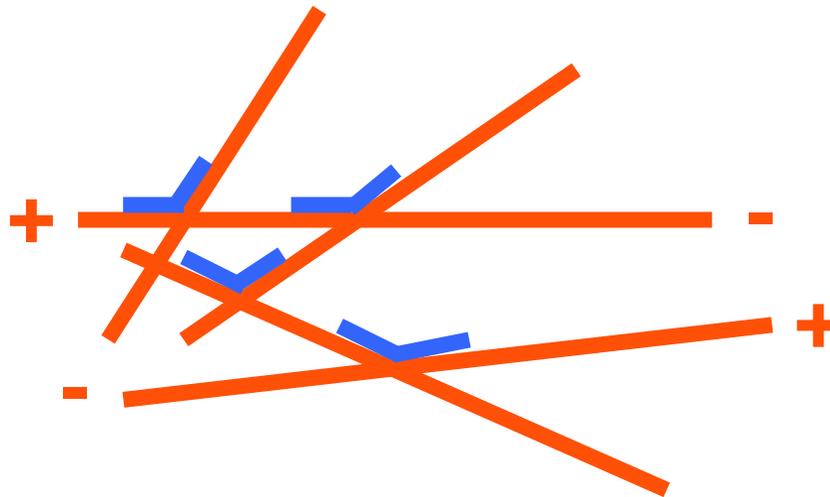
**F-actine**  
Protéines  
de liaison



1 consolidation  
Ex : tropomyosine



2 formation  
de faisceaux  
Ex :  $\alpha$ -actinine



3 stabilisation  
d'interaction  
Ex : filamine

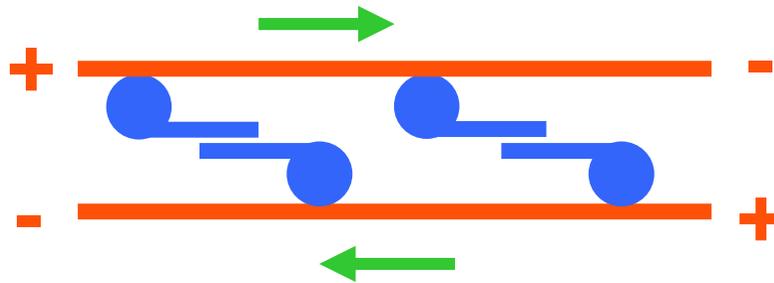


4 coupure Ex : gelsoline

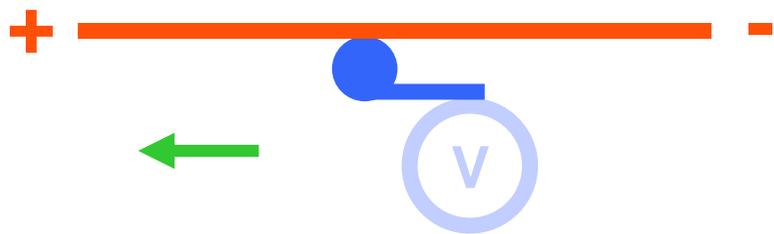
## Protéines de liaison à l'actine 2



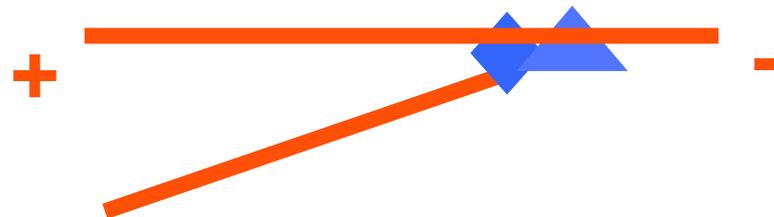
5 coiffage (capping)  
Ex : CapZ (+) et tropomoduline (-)



6 glissement/contraction Ex : myosine II

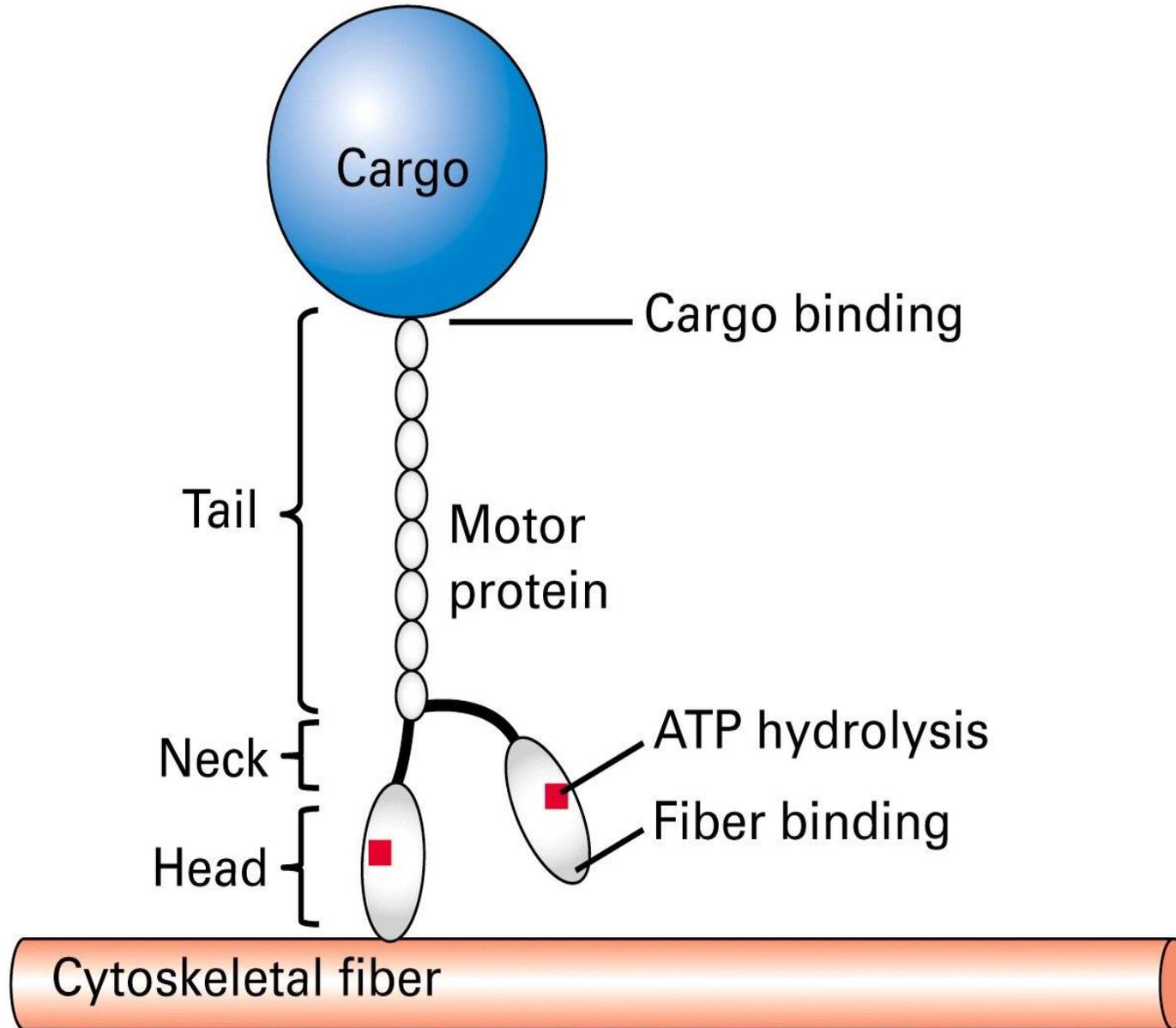


7 transport de vésicules Ex : myosine I et V

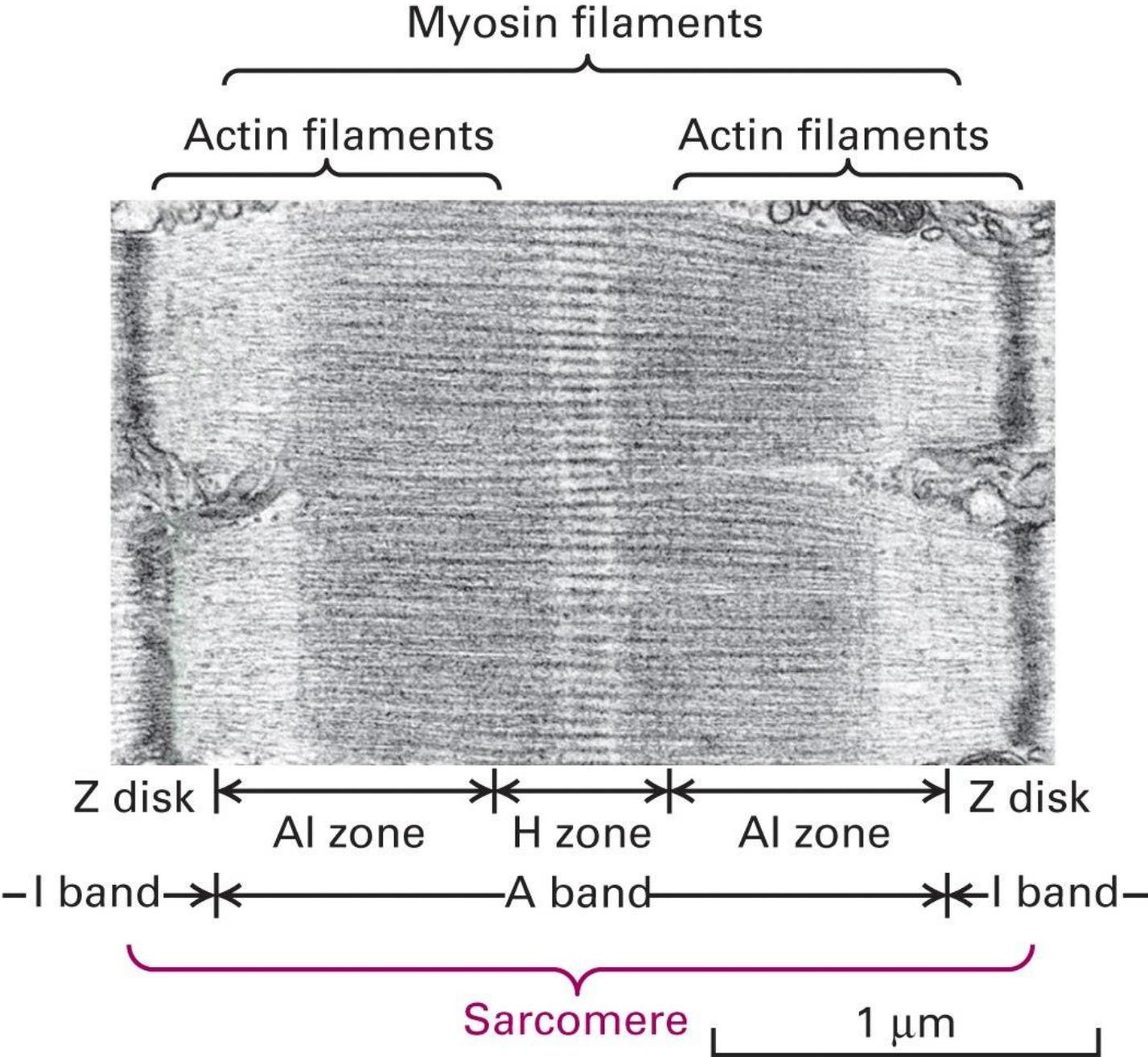


8 branchement Ex : complexe Arp2/3

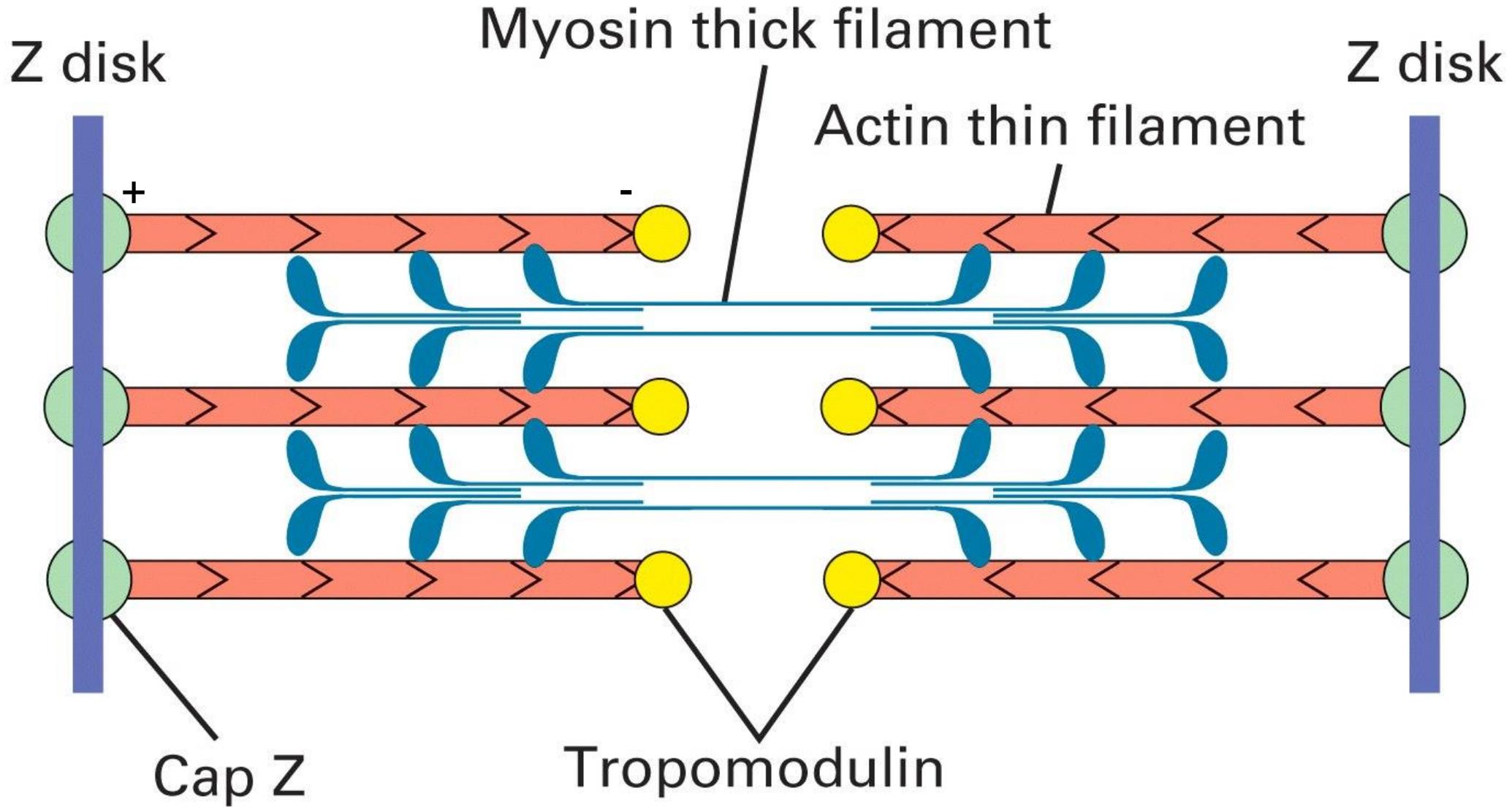
# Moteurs moléculaires



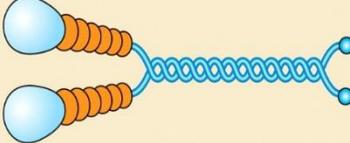
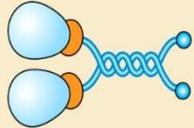
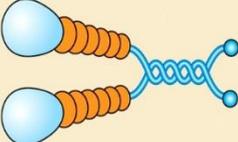
# Muscle strié (squelette)



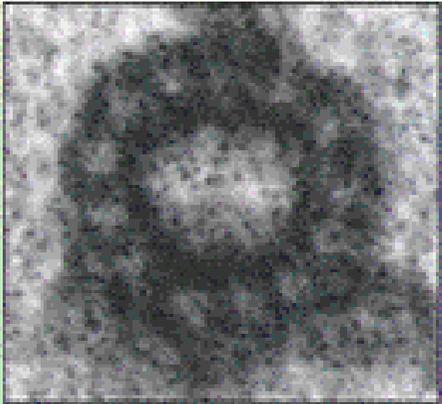
# Contraction des muscles



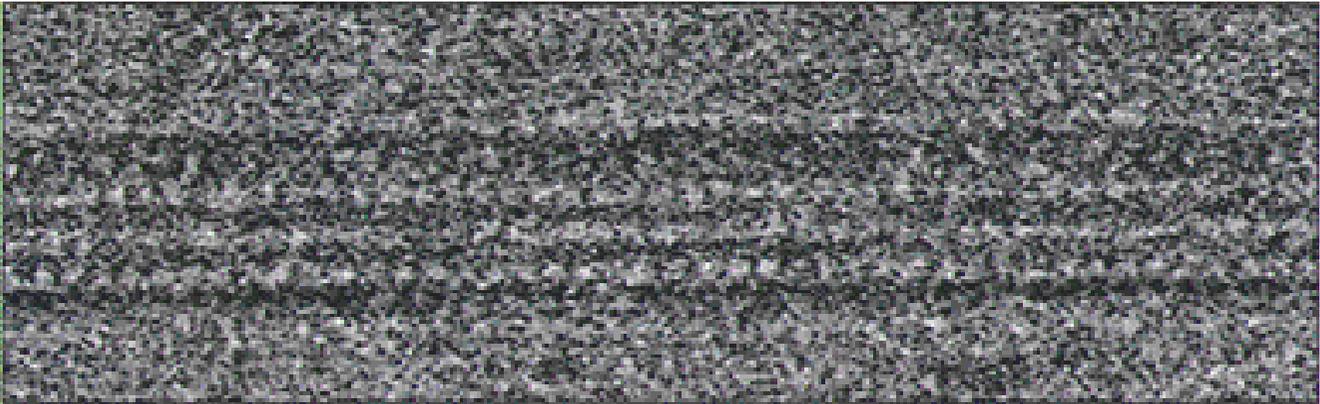
# Quelques myosines

| 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)            |

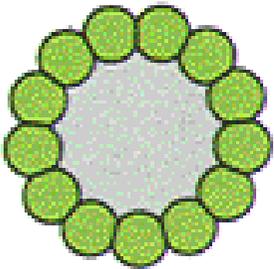
# Microtubules, polymères de tubuline



(A)



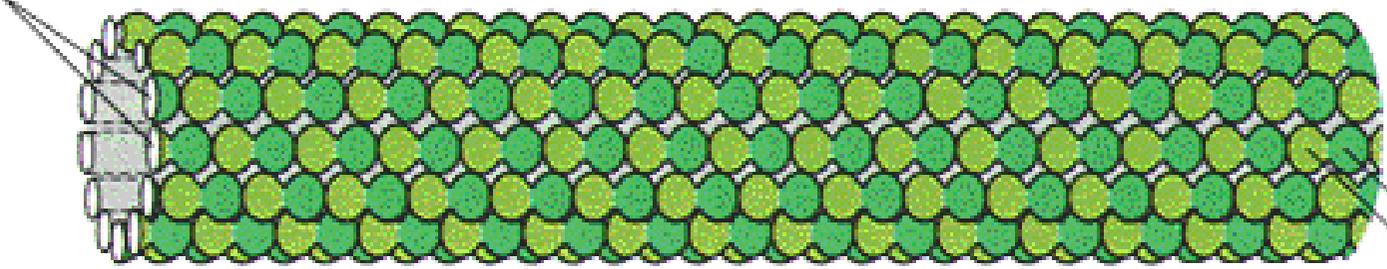
(B)



(C)

25 nm

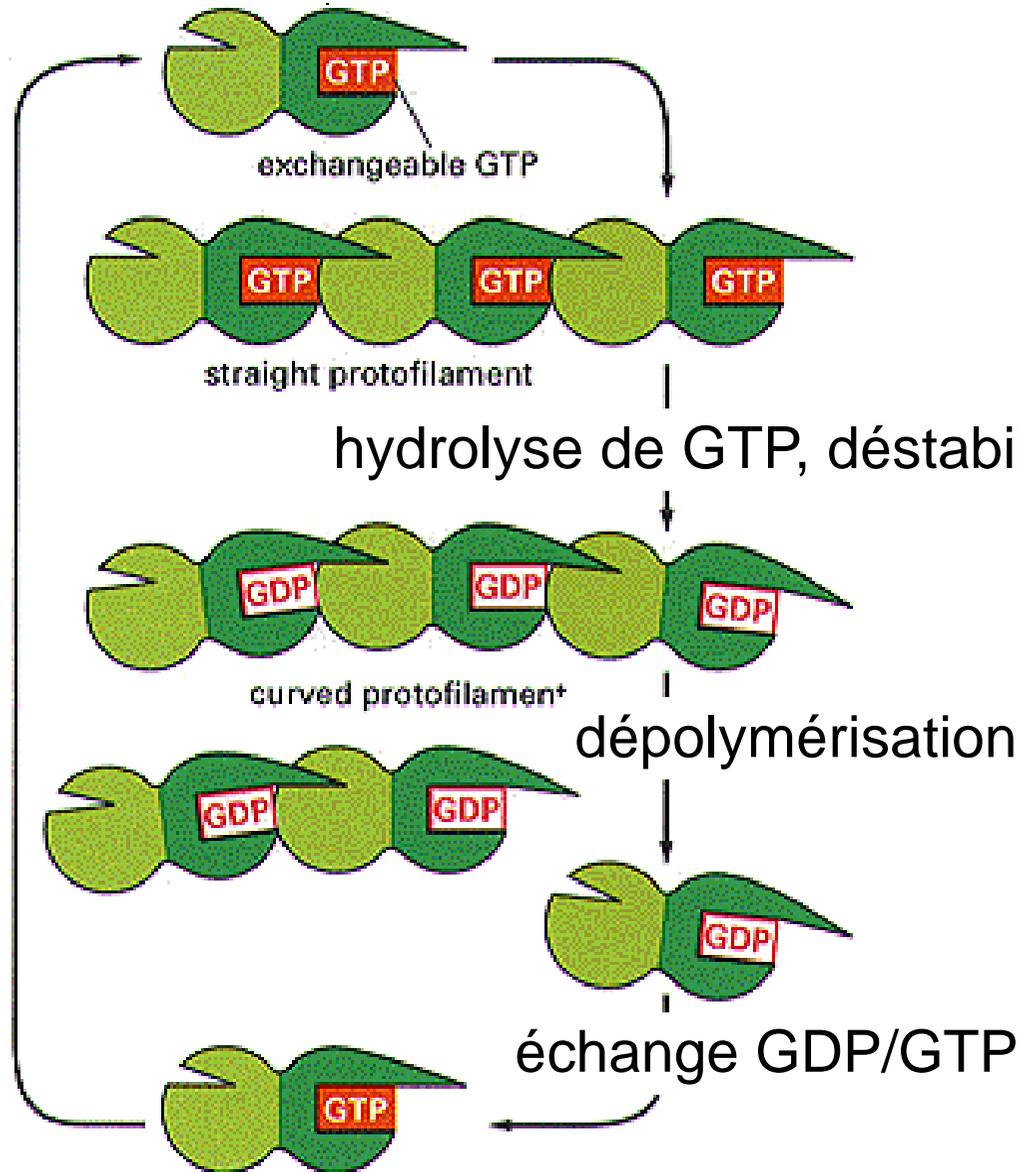
protofilaments



(D)

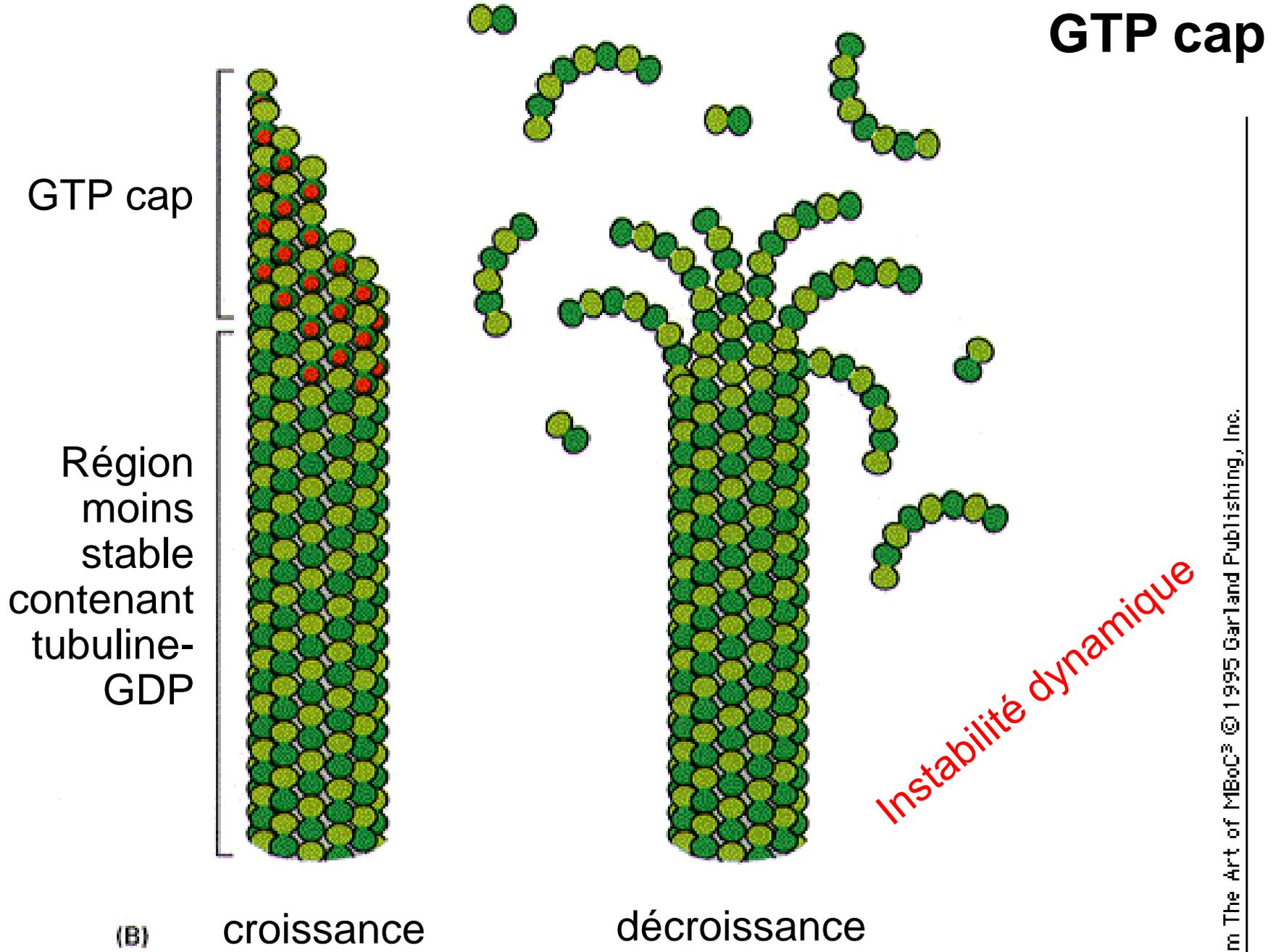
α β  
tubuline

dimère de tubuline  $\alpha$  et  $\beta$



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

(A)

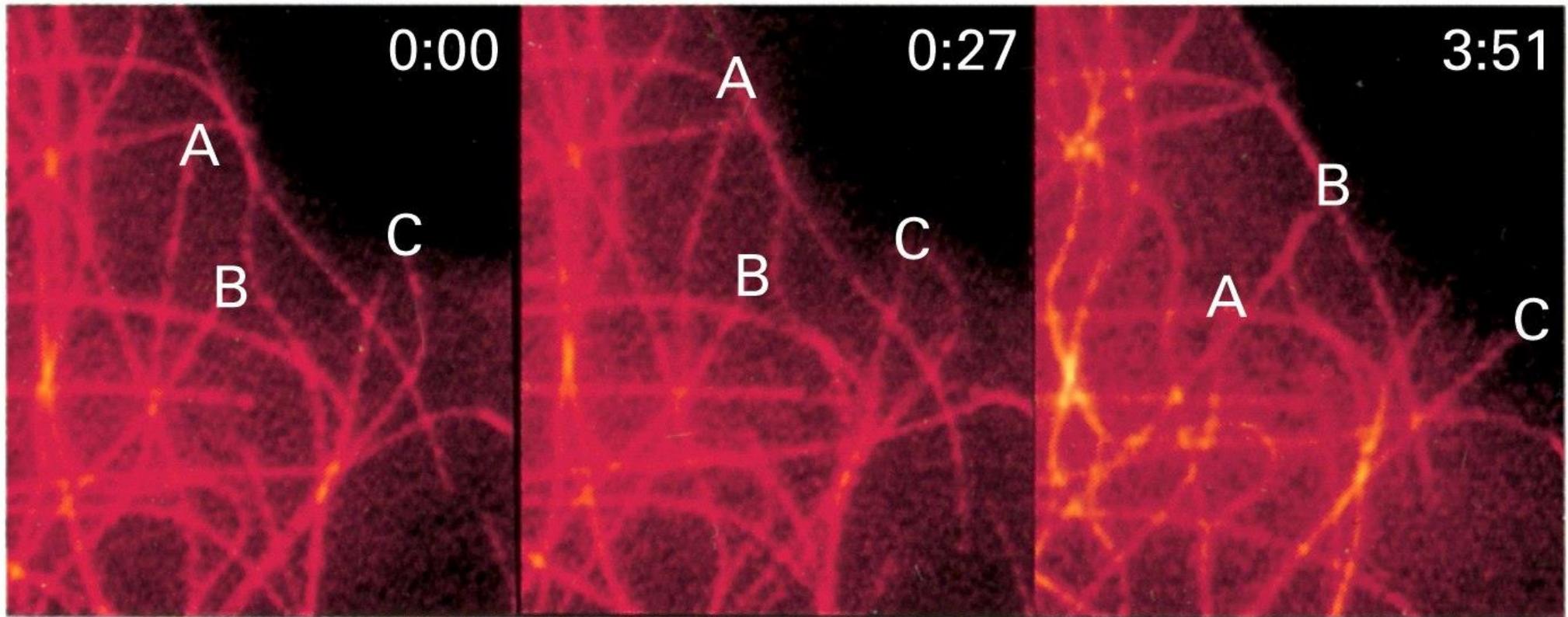


(B)

croissance

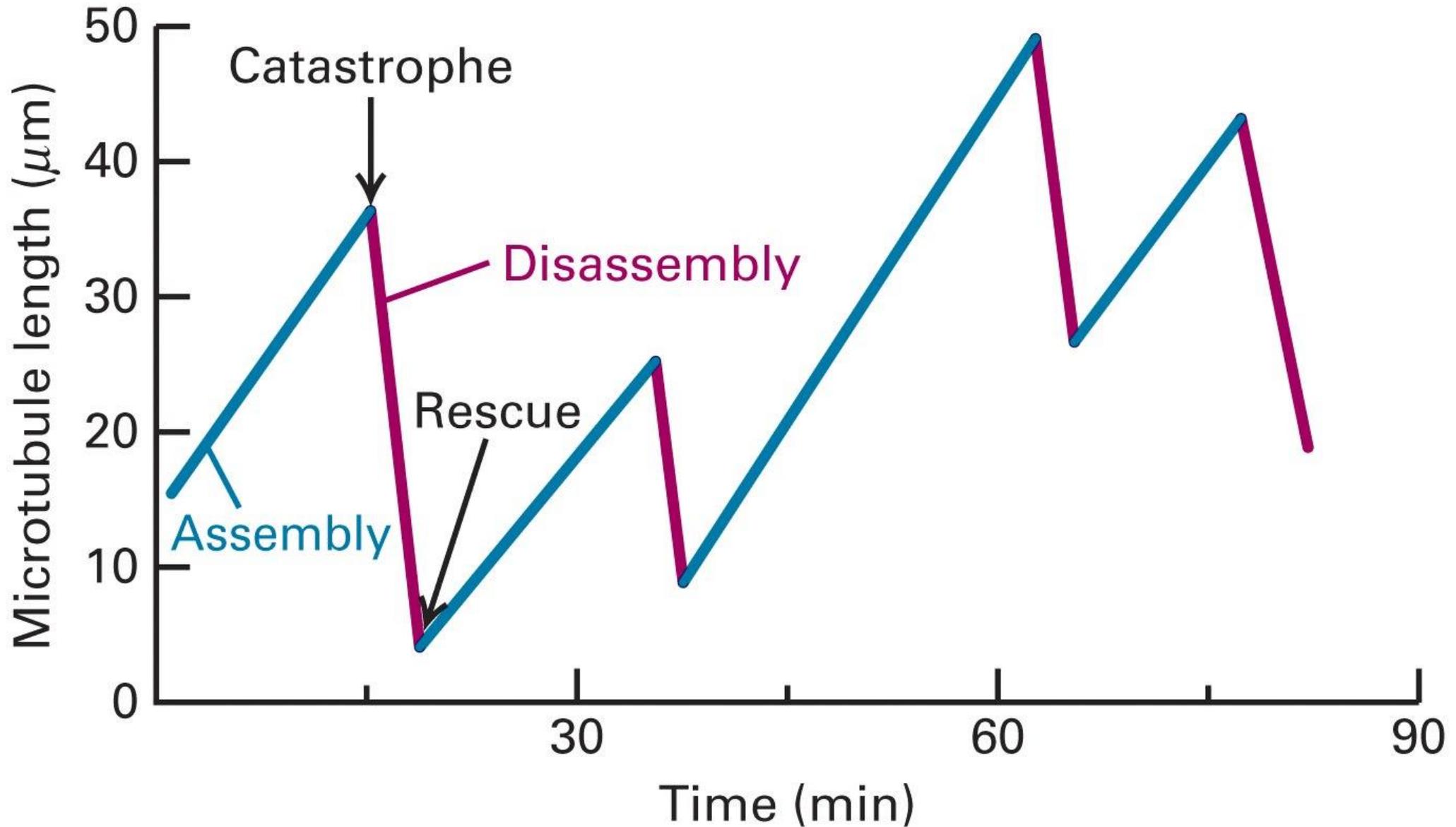
décroissance

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

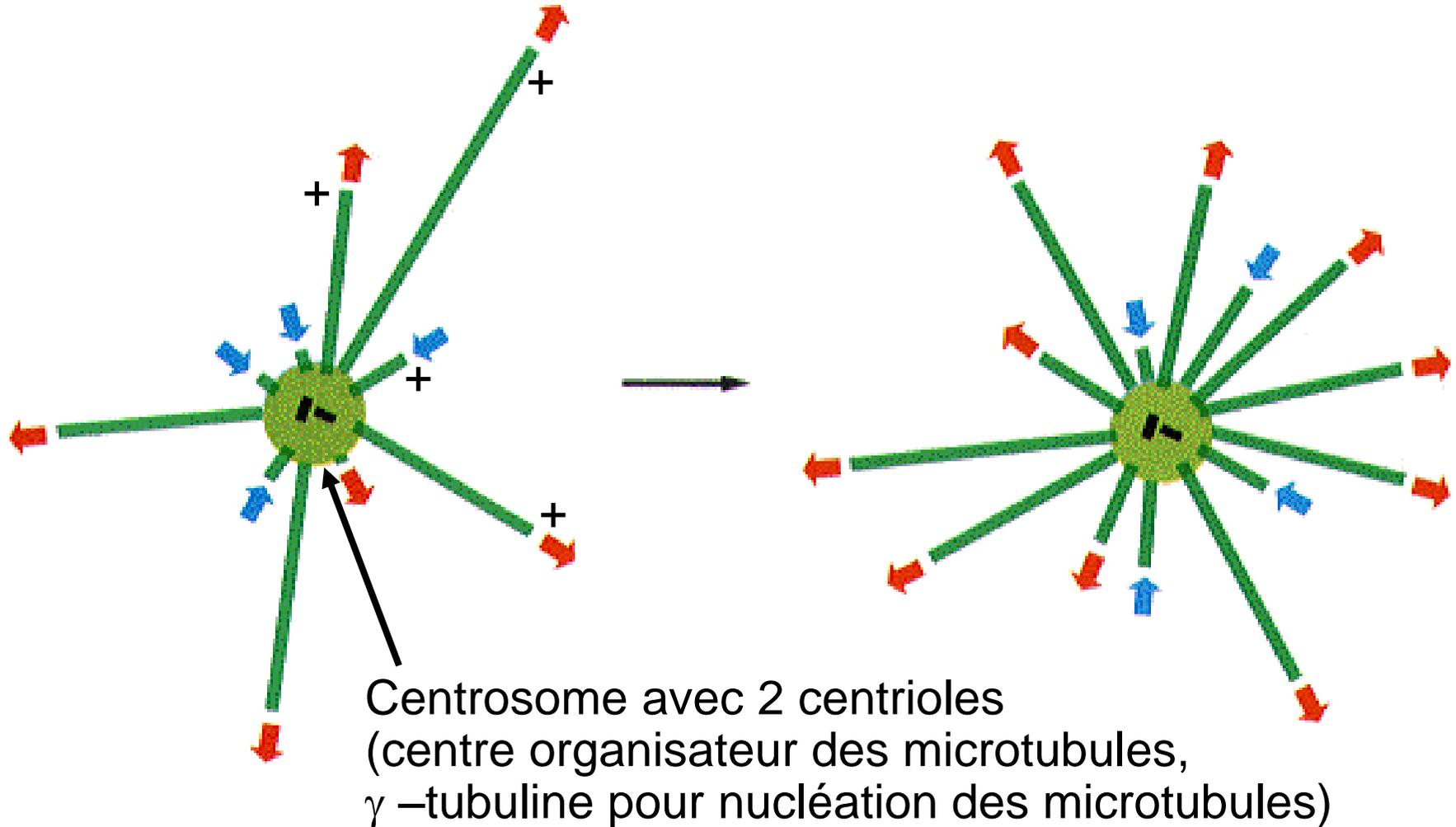


Après micro-injection de tubuline fluorescente dans un fibroblaste

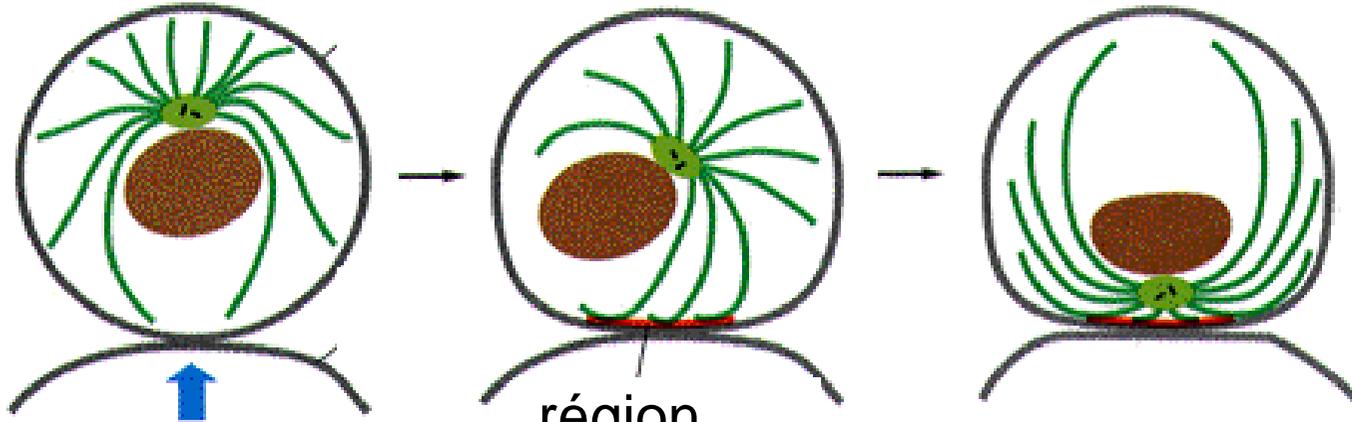
# Croissance et décroissance répétitive des microtubules



# Croissance et décroissance de microtubules



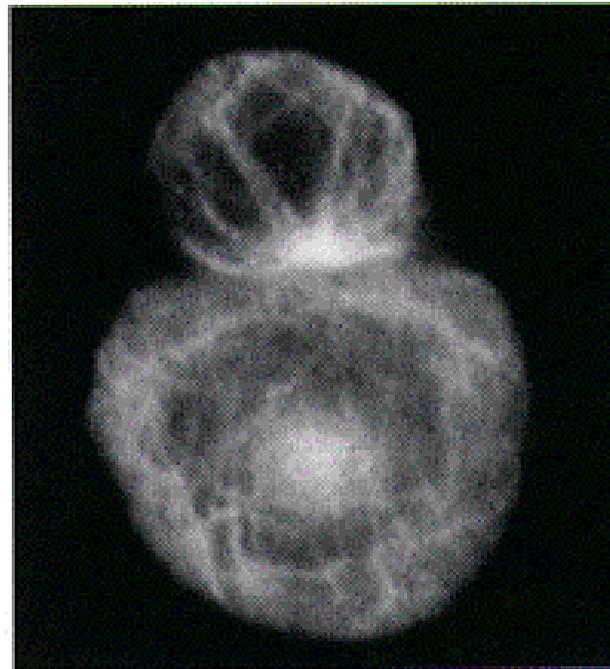
Lymphocyte T



cellule cible  
signal localisé

région spécialisée

microtubules

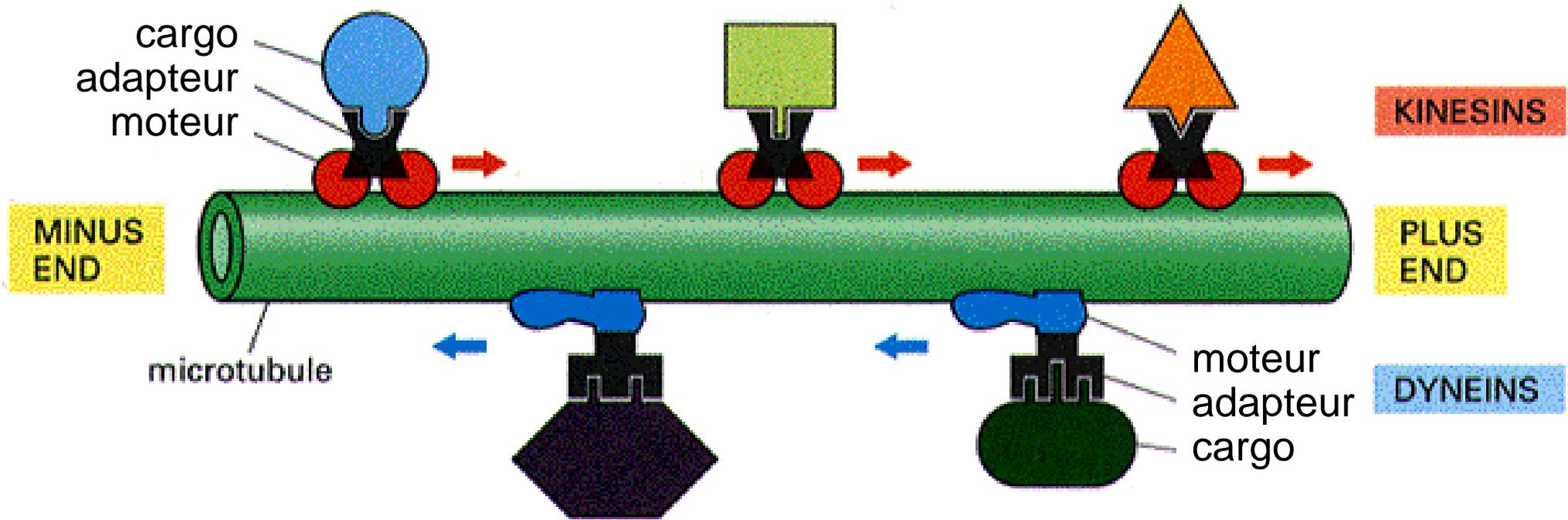


(B)

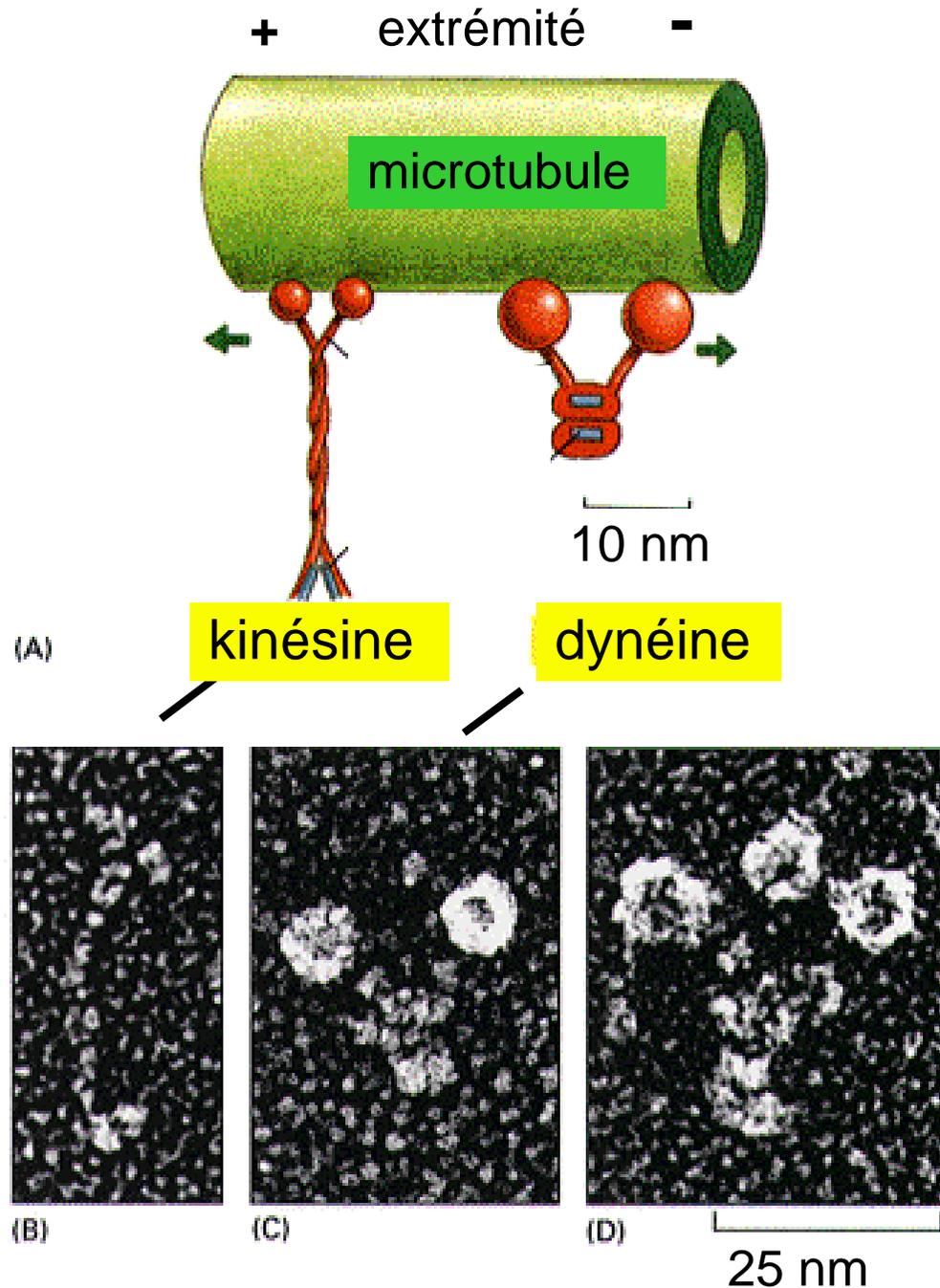
10 μm

**Réorientation du centrosome et de microtubules vers une zone de contact**

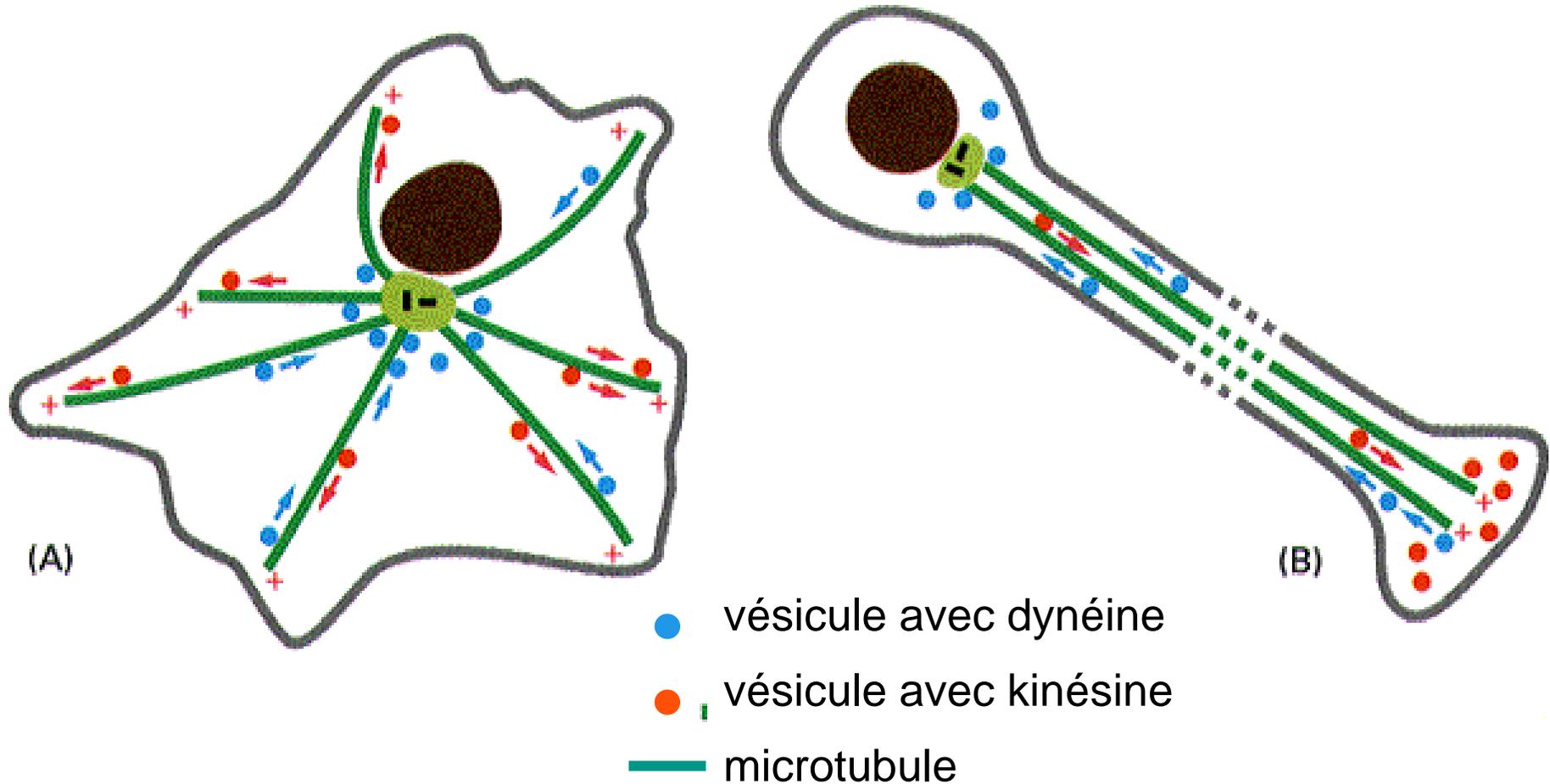
# Moteurs moléculaires sur les microtubules



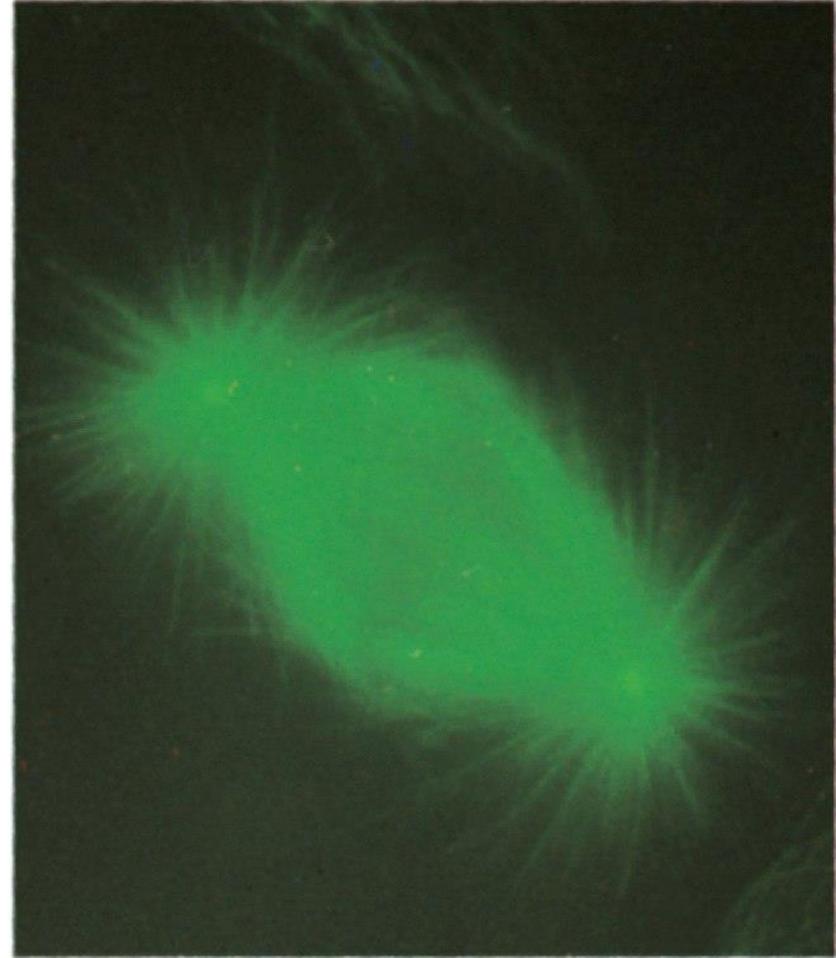
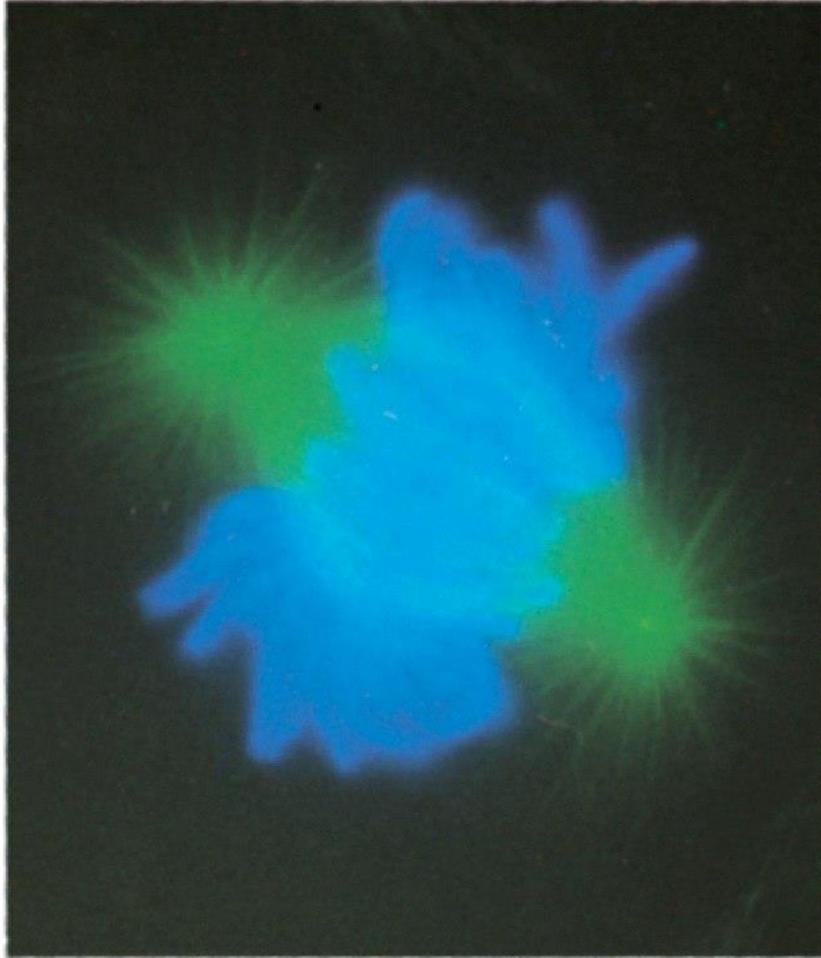
# Structure globale des transporteurs kinésine et dynéine



# Transport centrifuge et centripète de vésicules



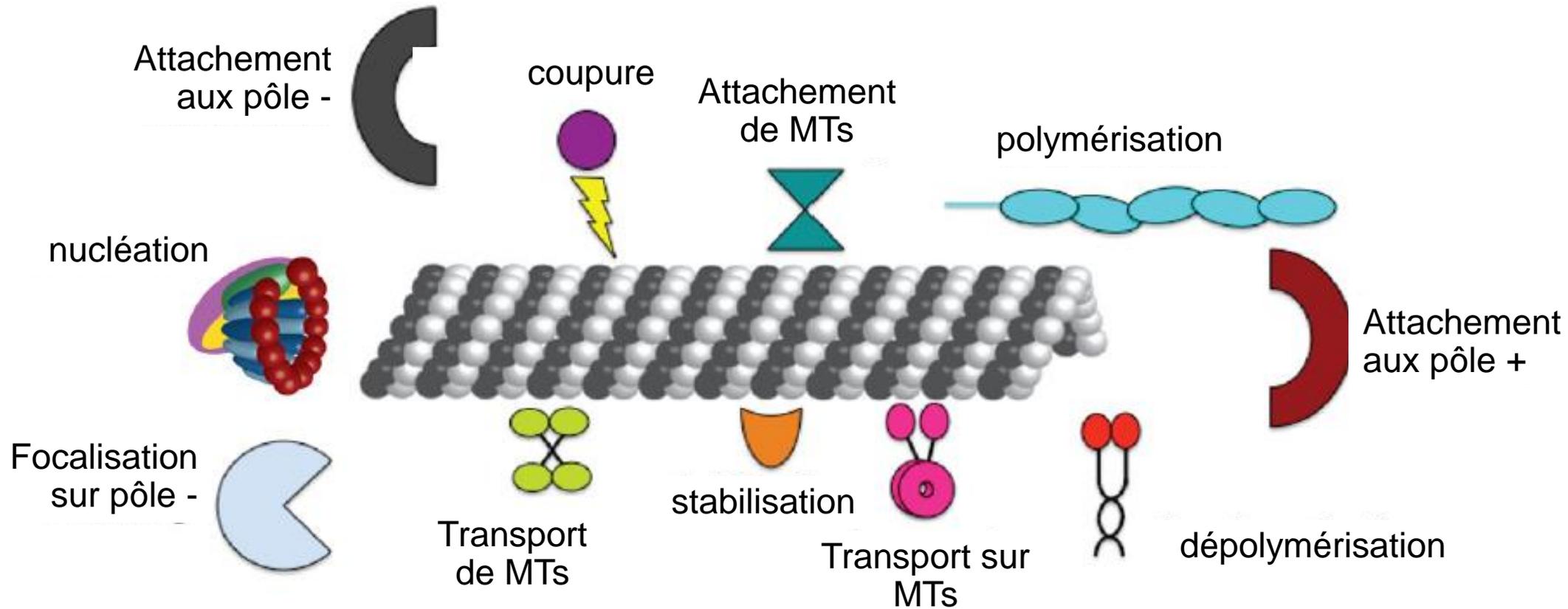
**Microtubules (vert) et chromosomes (bleu)  
pendant la mitose**



**Metaphase**

# Les rôles des protéines associées aux microtubules (MAP)

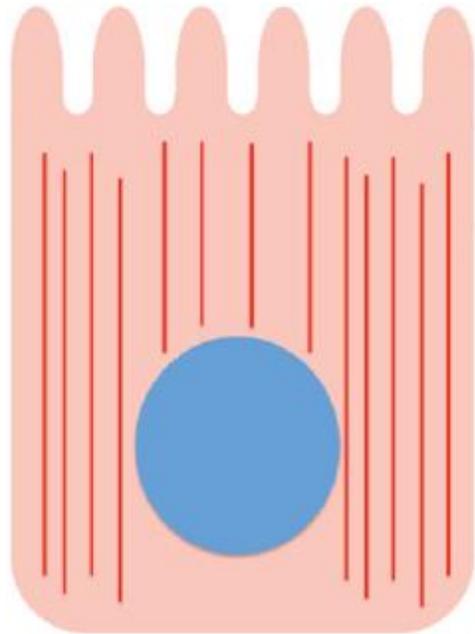
A



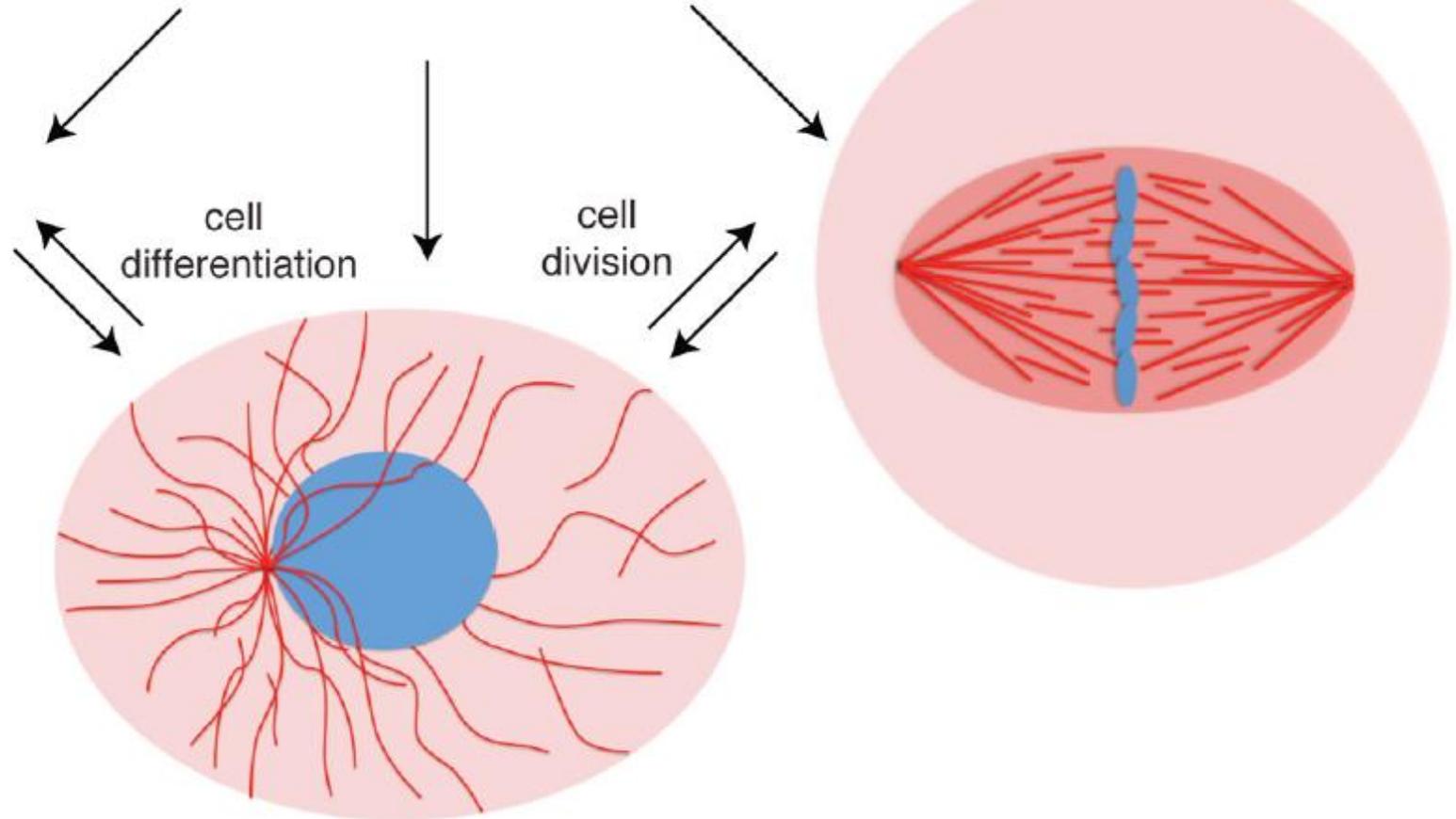
R

# Les MAPs pour créer des réseaux de microtubules

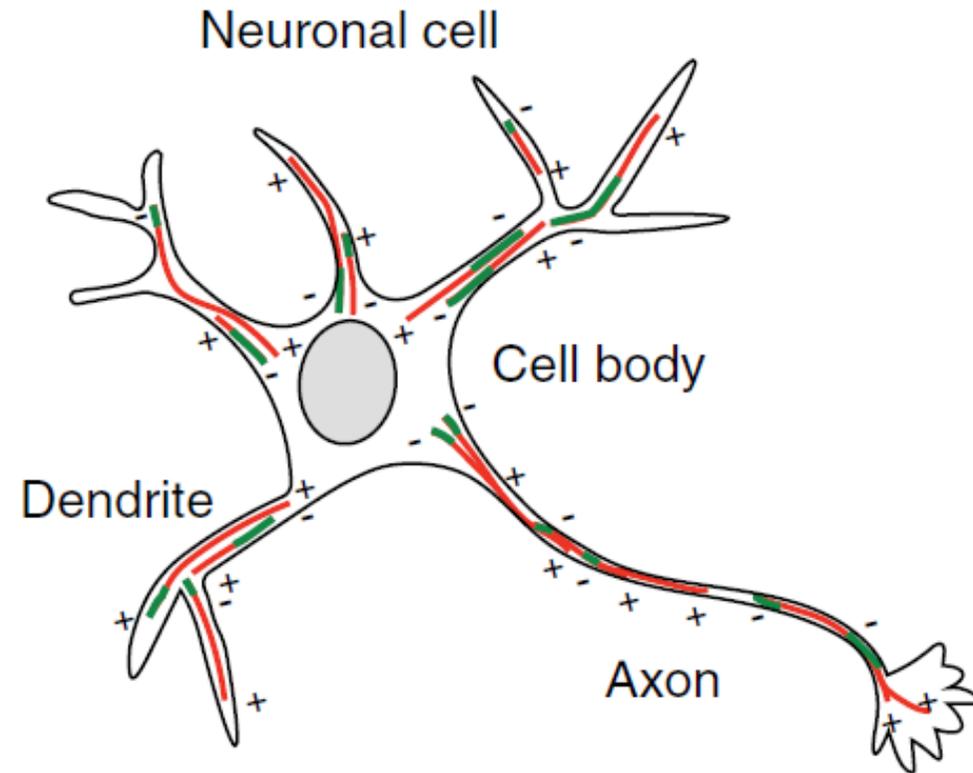
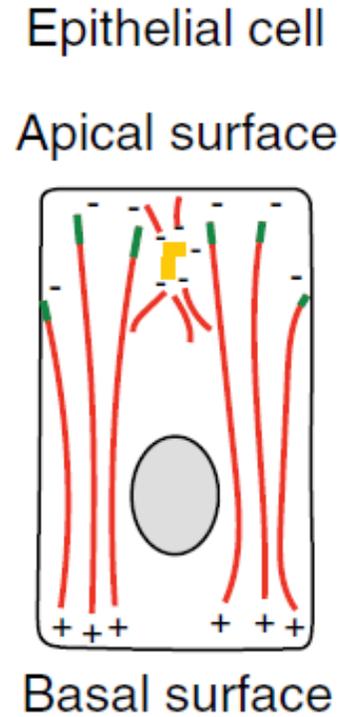
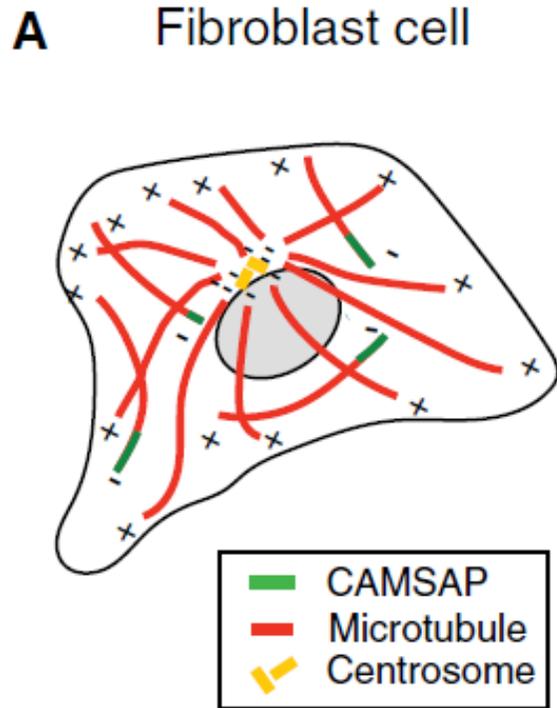
B



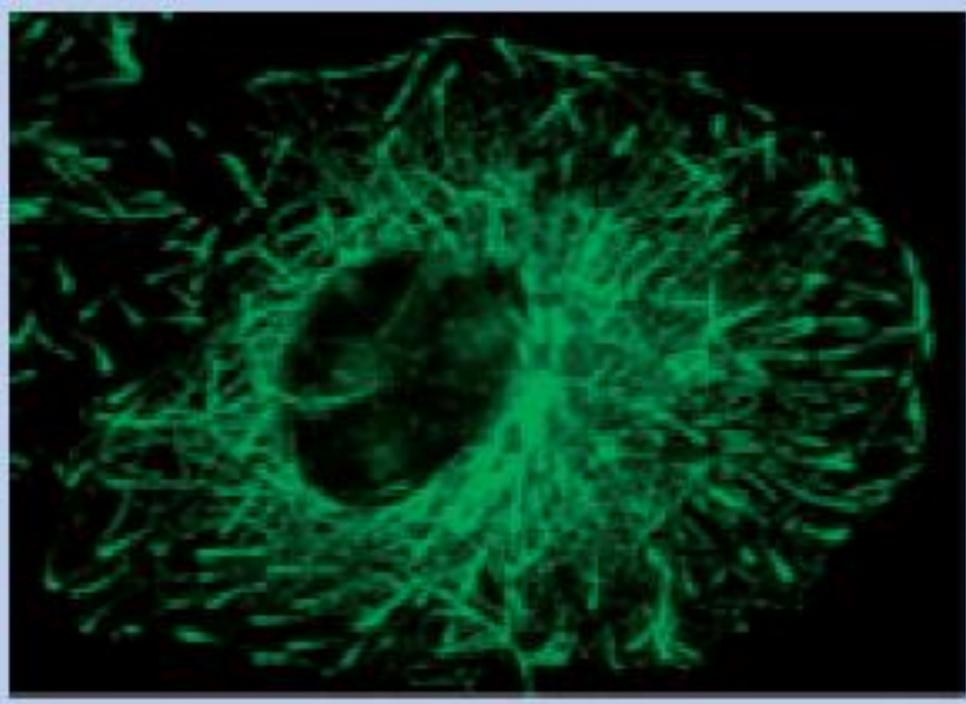
Des combinaisons de MAPs dirigent l'auto-organisation des microtubules en réseaux fonctionnels



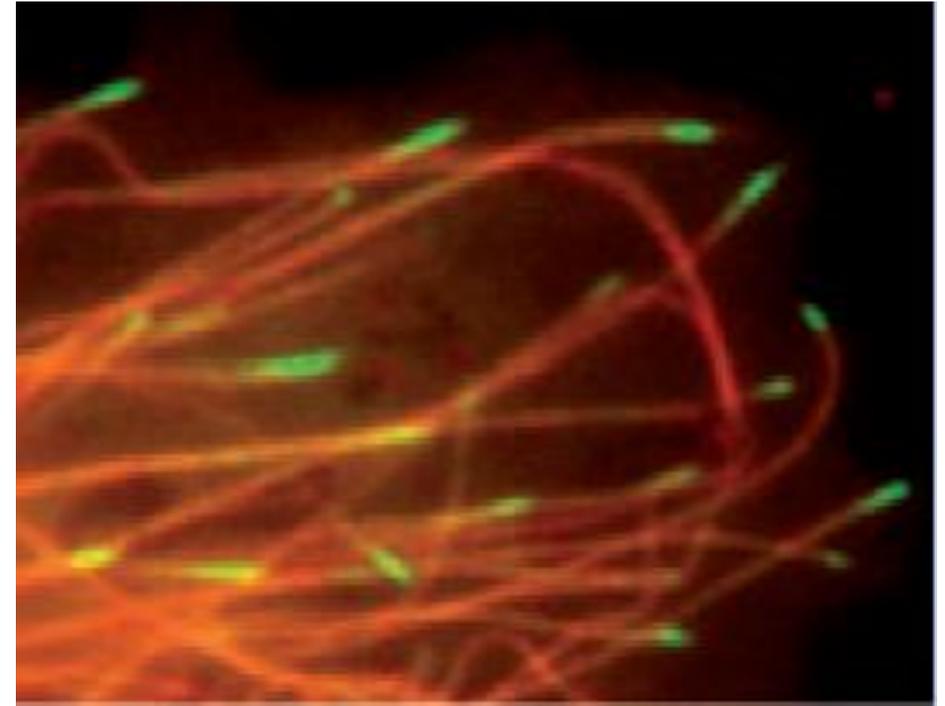
# Organisation centrosomale et non-centrosomale des microtubules



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

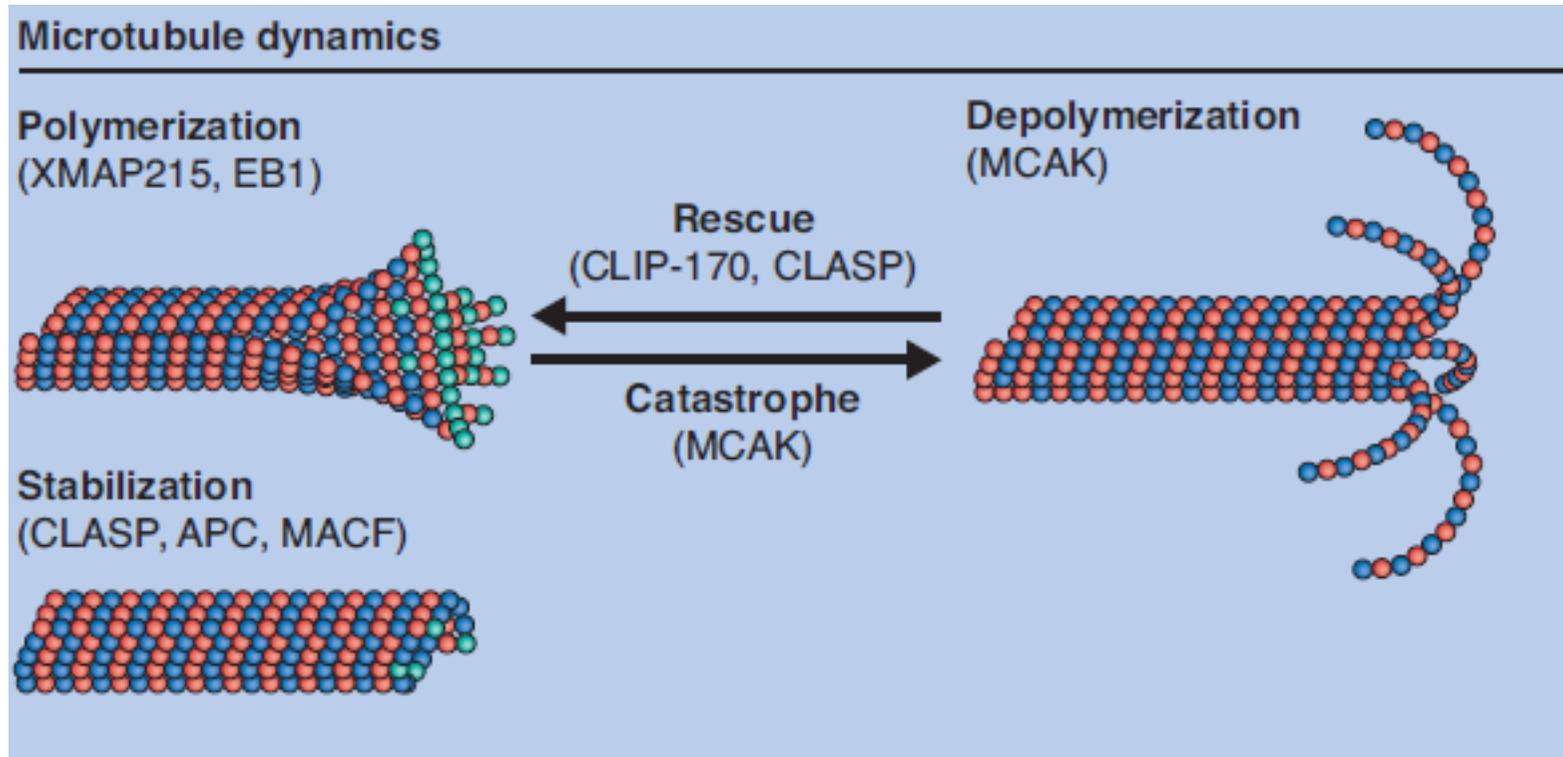


EB1, un +TIP dans une cellule de  
rein de singe en interphase



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



# 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**

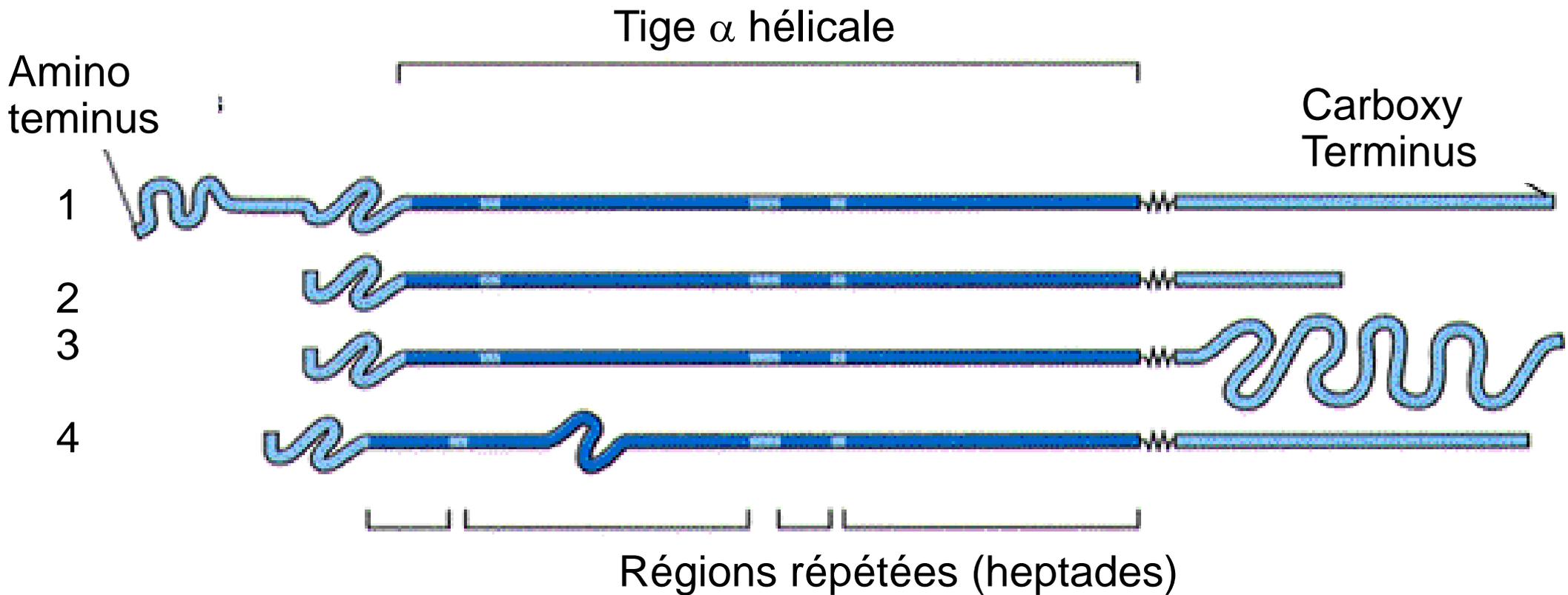


20  $\mu\text{m}$

## Réseau de filaments intermédiaires 2

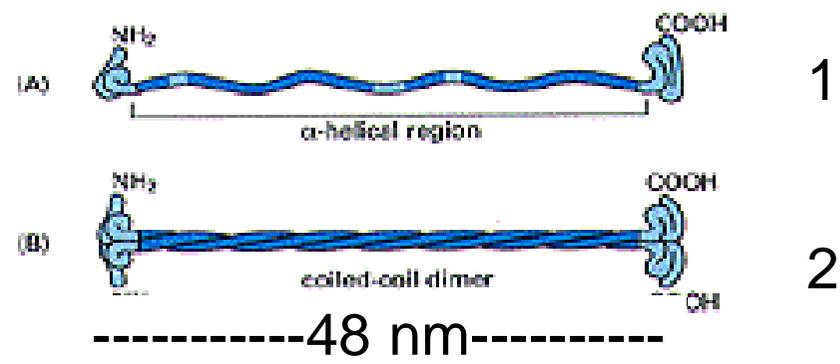
Cellules  
épithéliales  
(PtK2)  
Anticorps anti-  
kératine,

# Organisation des protéines des filaments intermédiaires



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

# Construction des filaments intermédiaires



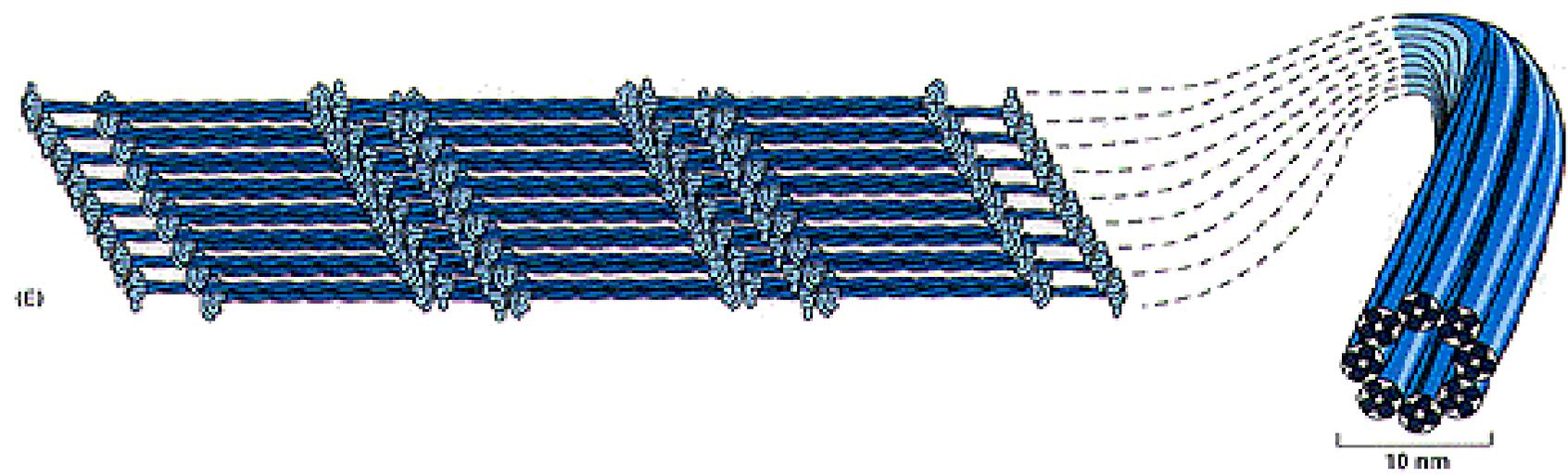
1  
2



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

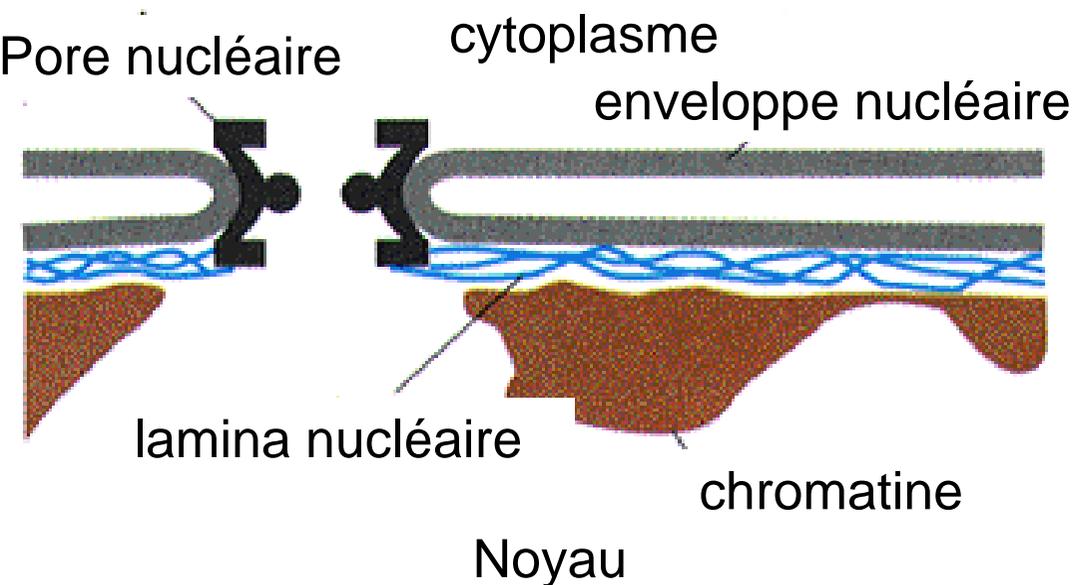
Type IV :

Neurofilamines (NF-L, -M, -H, 60 – 130 kDa)      cellules neuronales

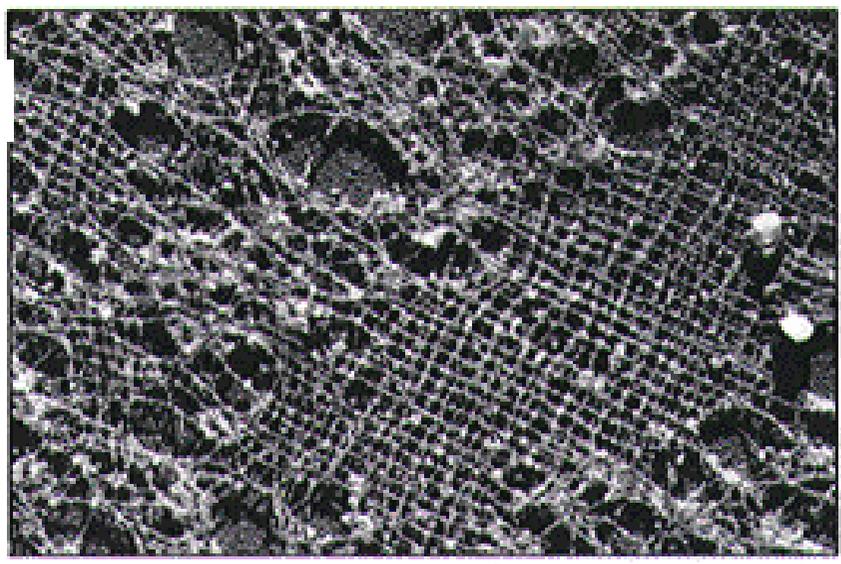
syncoline      cellules musculaires

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

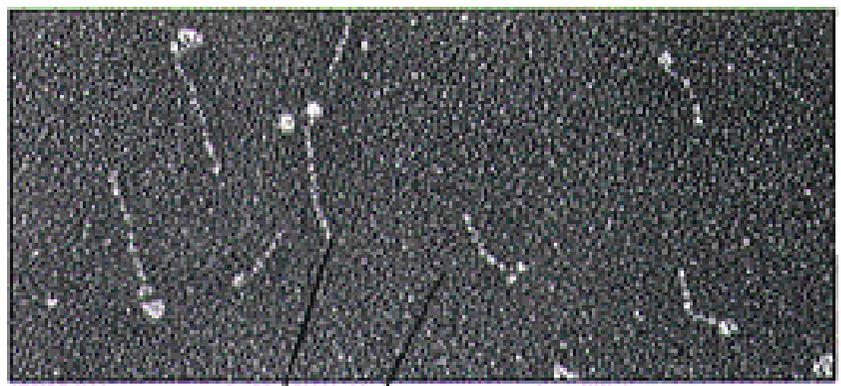
?? : phakinine et filensine      lentille



(A)

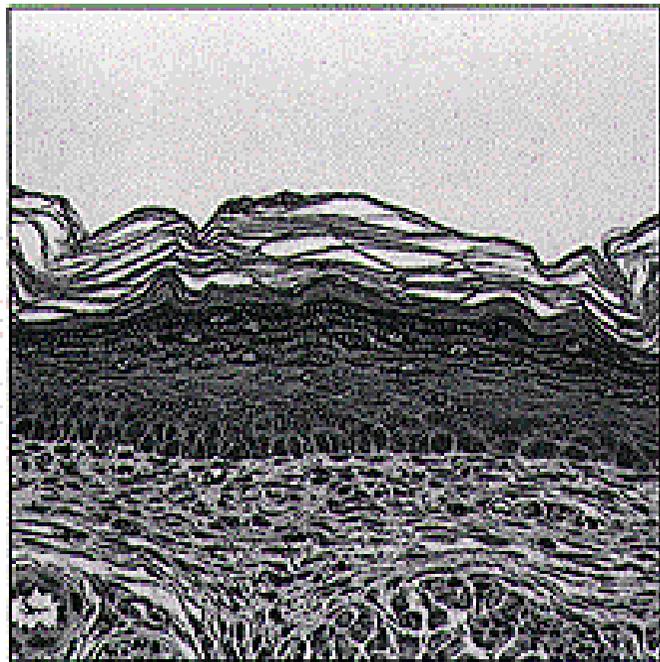


(B)

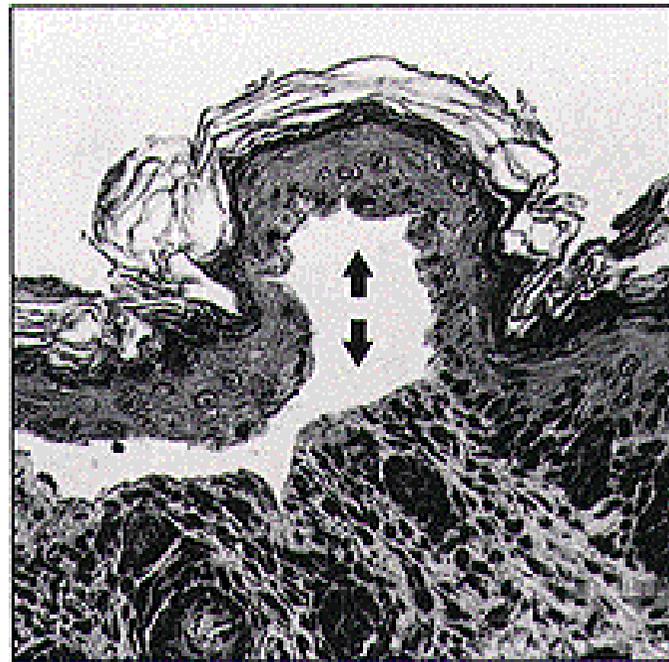


(C)

# Lamina nucléaire



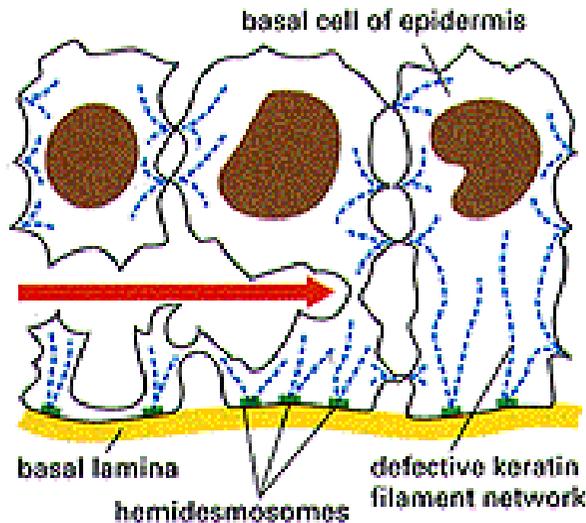
(A)



(B)

40  $\mu$ m

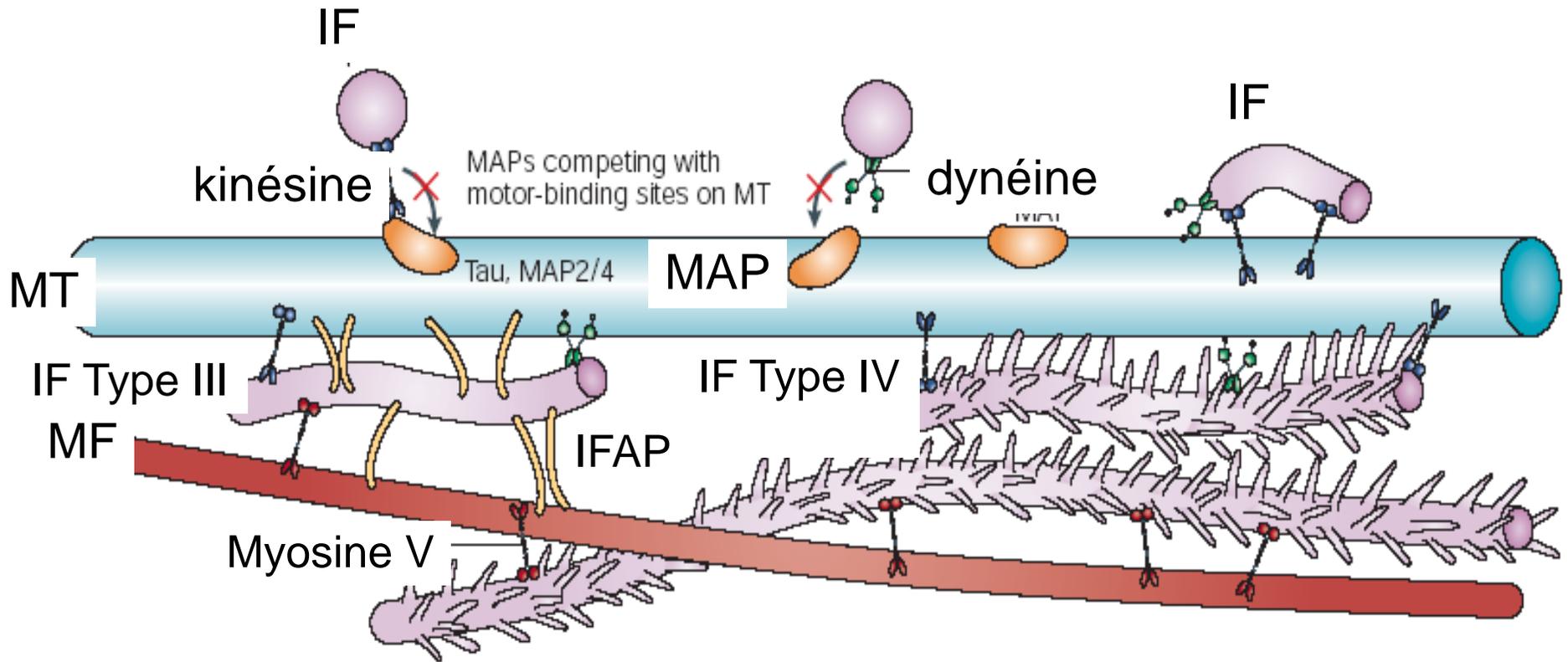
# Détachement de la peau due à une mutation du kératine



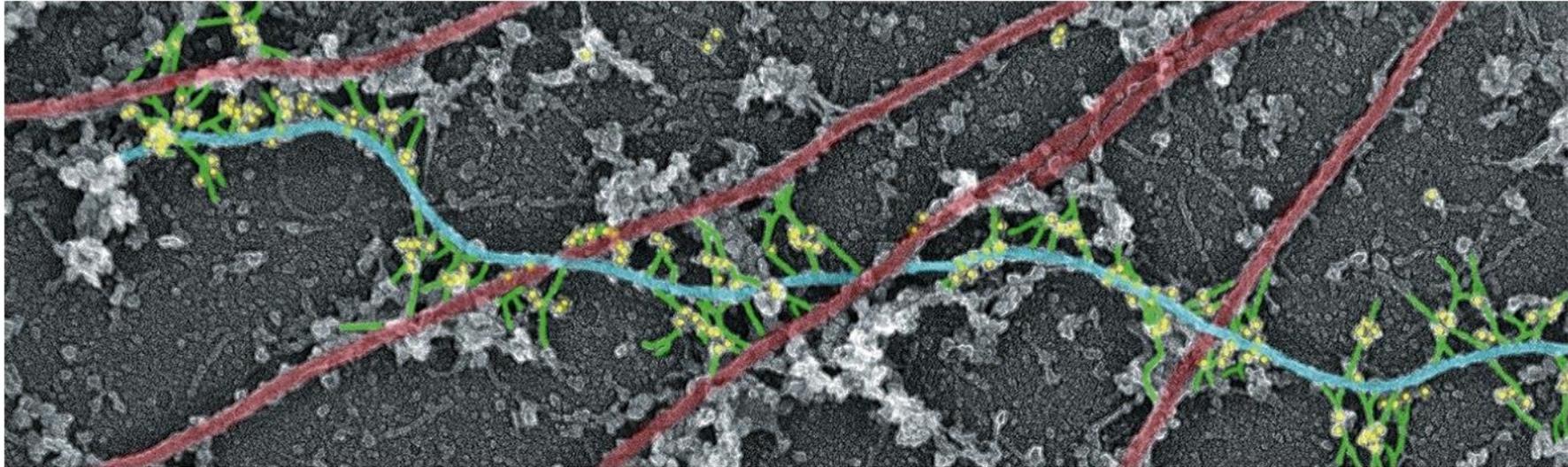
(C)

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  $\mu\text{m}$

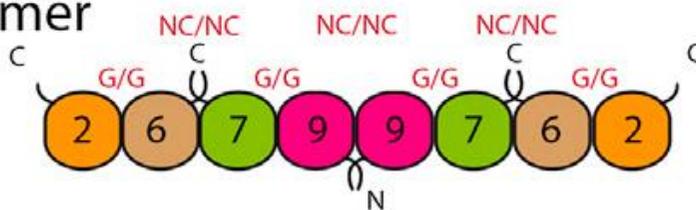
Anticorps anti-plectine marqués avec particules d'or (jaune)  
Les filaments d'actine ont été éliminé dans cet échantillon

# Septines, la quatrième composante du cytosquelette?

Hexamer



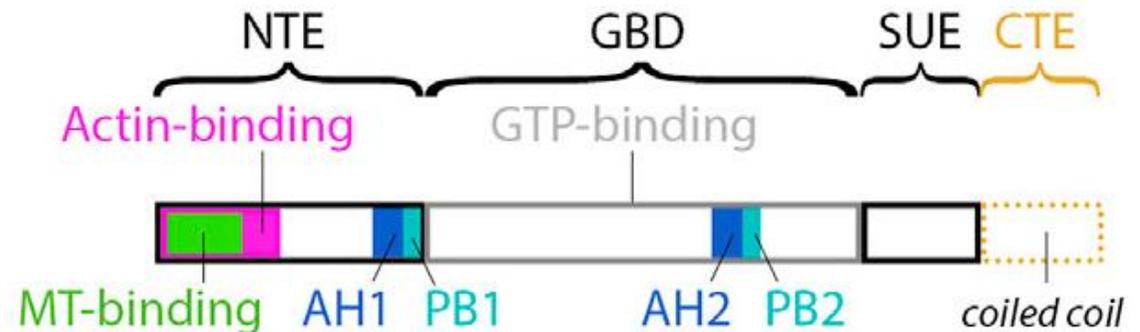
Octamer



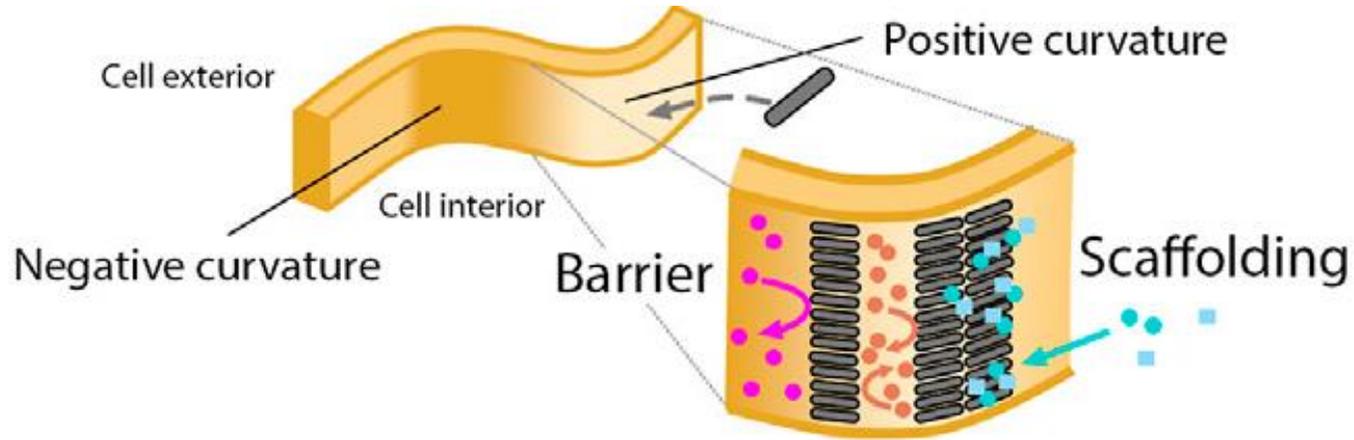
13 gènes chez l'homme  
polymérisation en filaments ou  
anneaux

Interaction avec :  
actine, microtubules,  
membranes

GTPase



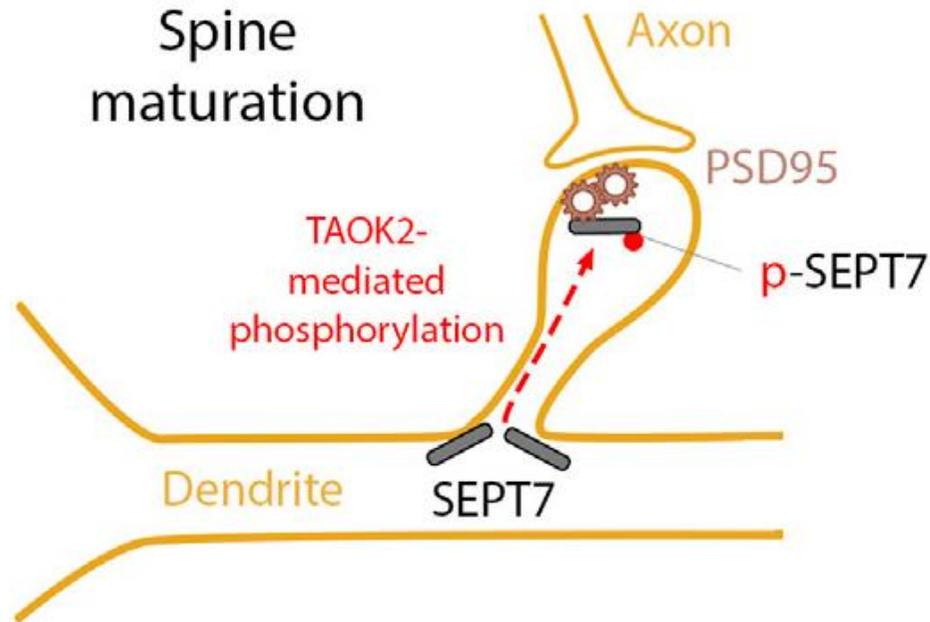
# Septines, Interaction avec membranes, rôles divers



Barrières de diffusion  
et points d'attache

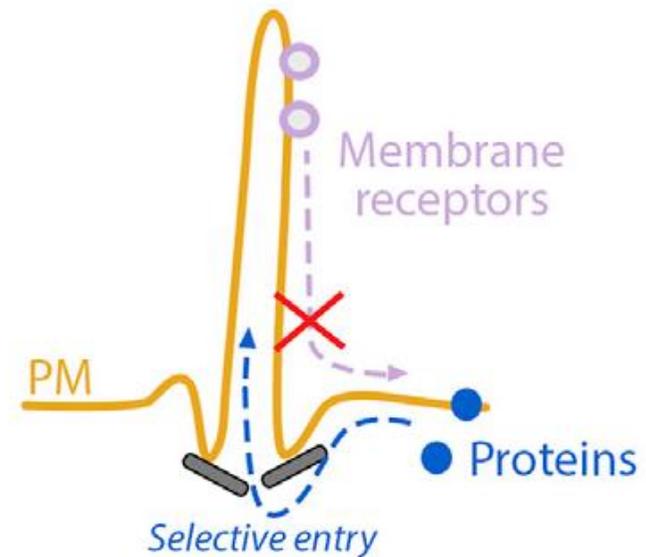
# Septines peuvent séparer des domaines membranaires

Exemples :  
épines dendritiques et

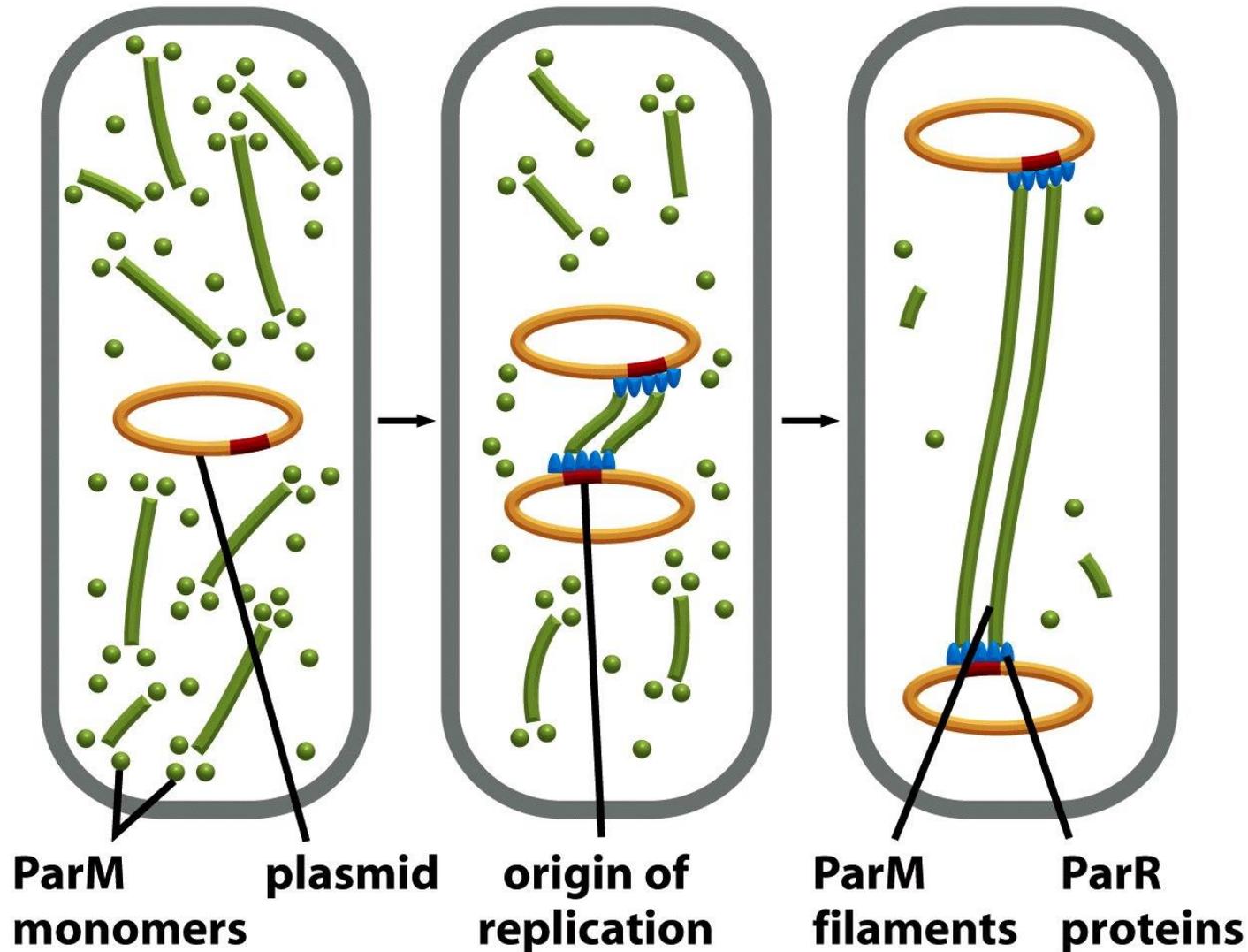


cils primaires

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?