

CHAPITRE 5

LE CYTOSQUELETTE

C'est un ensemble de structures filamenteuses, microfilaments, micro tubules et filaments intermédiaires, de nature protéique. Ils interviennent dans le maintien de la forme de la cellule, de sa mobilité, et dans de multiples fonctions cellulaires. Ce sont tous des polymères.

I / THEORIE GENERALE ou LA PHILOSOPHIE DU CYTOSQUELETTE

1°) Intérêt d'une structure polymérique (voir Fig 5.1)

Les éléments du cytosquelette sont des polymères peu mobiles formés à partir de petites molécules très mobiles dans la cellule. Chaque **polymère est formé de plusieurs protofilaments**. Un protofilament est composé par la mise bout à bout de monomères.

Au sein du polymère, chaque monomère est relié à ses voisins par des liaisons faibles (liaison H, force de Van der Waals, ...), donc faciles à rompre, organisées en :

- liaisons longitudinales (entre monomères successifs d'un même protofilament)
- liaisons latérales (entre monomères appartenant à des protofilaments voisins)

La rupture d'un polymère nécessite de casser plusieurs groupes de liaisons (pour N protofilaments) :

N liaisons longitudinales + N (ou N-1) liaisons latérales

N = polymère cylindrique, N-1 = polymère plan

Par contre, la dissociation d'un monomère au niveau d'une extrémité ne nécessite que la rupture de :

1 liaison longitudinale + 1 (ou 2) liaison latérale

1 si monomère latéral dans un polymère plan, 2 dans les autres cas

En conséquence, ces **polymères** sont :

- **très résistants** en traction, nettement plus résistants que des groupes de protofilaments indépendants.
- **très dynamiques** (extrémités, mobilité des monomères), donc **permettant une adaptation de la cellule** aux différentes situations auxquelles elle sera confrontée.

a) Filaments intermédiaires (ou FI) :

- 8 protofilaments
- monomère = longue protéine fibreuse => liaisons latérales >> liaisons longitudinales

Les FI forment des polymères **très résistants mais peu dynamiques**. Ils constituent « le squelette cellulaire ».

b) Microtubules (ou MT) :

- 13 protofilaments
- monomère = protéine globulaire (tubuline) n'établissant que peu de liaisons latérales

Ils forment des polymères **peu résistants**, cassant facilement, mais **très dynamiques**.

c) Microfilaments d'actine (ou Actine F) :

- 2 protofilaments
- monomère = protéine globulaire, mais établissant des liaisons latérales plus importantes que les tubulines des MT.

Les microfilaments forment des structures **très dynamiques**, relativement résistantes. **Regroupés** en réseaux ou en faisceaux, ils forment des **structures extrêmement résistantes**, comme les sarcomères (éléments contractiles des muscles striés, cf. tissu musculaire).

N.B. : Lors de la polymérisation, les courts oligomères sont assimilables à de simples liaisons entre (2 ou 3) monomères et sont donc très instables. Dans le cas des microtubules ou des microfilaments, la cellule utilise des **complexes de nucléation** qui stabilisent ces courts oligomères :



Actine F : complexes **Arp 2 / 3**
 MT : γ **TuRC**, composé de tubuline γ

2°) Polarité structurale des polymères (voir Fig. 5.2)

Dans un polymère, les **monomères s'agencent de façon ordonnée**. Cela crée une **asymétrie** repérable à la surface du polymère. Elle est repérée par une extrémité dite + et -.

Elle est **mise à profit** par les moteurs moléculaires **pour faire du trafic orienté**.

Dans les FI, les monomères se disposent en dimères orientés, mais ensuite les dimères s'associent tête-bêche en tétramères. Il perd son asymétrie ce qui le rend inapte à un trafic orienté : **les FI ne sont pas utilisés par les moteurs moléculaires**.

3°) Polarité dynamique

Actine et tubuline, les monomères des microfilaments et microtubules, sont des **nucléotidases** (fixent et hydrolysent des nucléotides triphosphates) :

- **ATP pour Actine**
- **GTP pour les tubulines**

L'**hydrolyse** des nucléotides triphosphates, peu efficace, est accélérée par la polymérisation. L'énergie libérée est partiellement stockée sous forme de **contraintes structurales** qui **déstabilisent le polymère**. (voir Fig. 5. 3)

Dans un tube à essai, on peut générer des polymères à partir de monomères. La taille des polymères augmente jusqu'à une taille qui semble stable. En fait, à l'équilibre, les vitesses de polymérisation et dépolymérisation s'équilibrent.

Au niveau des extrémités, il existe une compétition entre vitesse de polymérisation et vitesse d'hydrolyse des nucléotides. Lorsque la vitesse de polymérisation l'emporte, l'extrémité fixe des monomères NTP et constitue une extrémité stable, sans contrainte structurale, donc apte à polymériser. Dans le cas inverse, elle aura tendance à dépolymériser.

Dans quel état se trouvent les extrémités ? il nous faut voir un peu de cinétique chimique !

(voir Fig. 5. 4)

Réaction de dépolymérisation : c'est une réaction monomoléculaire, qui dépend exclusivement de l'instabilité intrinsèque du polymère (cinétique d'ordre 0) :

$$V_{\text{dépol}} = K_{\text{dépol}}$$

Réaction de polymérisation : réaction bimoléculaire. La vitesse est déterminée par la probabilité de rencontre entre les 2 molécules. Cette probabilité dépend de la concentration du composé le plus mobile, le monomère (cinétique d'ordre 1) :

$$V_{\text{pol}} = K_{\text{pol}} \times C_{\text{monomère}}$$

A l'équilibre,

$$\begin{aligned} V_{\text{pol}} &= V_{\text{dépol}} \\ K_{\text{pol}} \times C_{\text{monomère}} &= K_{\text{dépol}} \\ C_{\text{monomère}} &= K_{\text{dépol}} / K_{\text{pol}} \end{aligned}$$

Ainsi, on peut calculer des concentrations critiques en monomères sous forme NTP (CcT) et NDP (CcD) qui vont permettre de prévoir le comportement de chaque extrémité

$$CcT = K_{\text{dépol}}T / K_{\text{pol}}T \quad CcD = K_{\text{dépol}}D / K_{\text{pol}}D$$

Pour des raisons de contraintes stériques **CcT < CcD** ($K_{\text{dépol}}D > K_{\text{dépol}}T$ et $K_{\text{pol}}T > K_{\text{pol}}D$).

Si **CcT < C_{monomère} < CcD** (cas général) : (voir Fig. 5. 5)

L'**extrémité +**, sous forme NTP, **polymérise** et l'**extrémité -**, sous forme NDP **dépolymérise**. Autrement dit, un monomère rentre dans le polymère par l'extrémité + et en sort par l'extrémité - : principe du tapis roulant. Cela correspond au comportement général des microfilaments.

Les **microtubules**, en gérant la stabilité de leurs extrémités, **alternent phase de polymérisation et dépolymérisation** (on parle de sauvetage et catastrophe). Ce sont des éléments très dynamiques.



Tout ceci est de la physico-chimie pure, donc vérité générale. **Une cellule** se sert de ses propriétés, mais ne peut accepter d'être régie ainsi. Pour faire ce qu'elle doit au moment opportun, elle **va contrôler ces équilibres par des protéines qui interagissent avec** :

- **les monomères** pour modifier leur disponibilité
- **les polymères** pour gérer la stabilité des extrémités

De nombreuses toxines interviennent sur ces équilibres, certaines sont utilisées en médecine ou en biologie médicale :

- Phalloïdine (amanite phalloïde) : stabilise les microfilaments.
- Colchicine (colchique) : stabilise les tubulines, mis à profit pour réaliser des caryotypes et utilisé comme antigoutteux (*trafic vésiculaire lors de la phagocytose*).
- Vinblastine (pervenche) : stabilise les tubulines. Son effet sur la mitose sert de traitements anticancéreux.
- Taxol (if) : stabilise les microtubules, utilisé comme anticancéreux.



II / LES MICROFILAMENTS

ou microfilaments fins d'actine, actine F : \varnothing 5 nm.

Ce sont des structures filamentaires très fines, de longueur variable, pouvant exister sous forme dispersée, ou s'assembler en faisceaux ou en réseaux, stables ou labiles.

A. Morphologie

1°) Microscopie optique

Techniques classiques : invisibles (5 nm). Seuls les faisceaux très denses et épais sont visibles : cas des cellules musculaires striées ou lisses (la densité protéique donne une teinte éosinophile).

Techniques spéciales :

a). en fluorescence : des **anticorps anti-actine**, ou la **phalloïdine**, marqués par un **fluorochrome** révèlent la présence d'actine dans presque toutes les cellules eucaryotes. (voir Fig. 5. 6).

b). examen au microscope en lumière polarisée : utilisable pour les cellules musculaires.

2°) Microscope électronique.

Techniques classiques : ils se présentent sous forme de **structures très fines de longueur variable**, parfois très longues (une dizaine de microns) et **d'épaisseur constante : 5 nm**. Pour les caractériser, on peut se servir d'un fragment de myosine, moteur moléculaire spécifique de l'actine. Des fragments de myosine (méromyosine lourde ou fragment S1) se fixent sur les filaments d'actine et donnent une image caractéristique au M.E., de "décoration en pointe de flèches" (voir Fig. 5. 7). Cela permet de visualiser la polarité structurale des microfilaments :

- La **pointe** des flèches indique l'**extrémité -**
- L'**extrémité « barbelée »** désigne l'**extrémité +**

Les microfilaments (peu résistants isolés) sont **organisés en réseaux ou en faisceaux lâches ou serrés** (permet de développer une résistance importante) Ils sont principalement localisés en périphérie de la cellule, sous la membrane plasmique, formant le **cytosquelette cortical**. Les faisceaux traversant la cellule portent le nom de « **fibres de stress** » (« muscle cellulaire »). Ils sont en contact avec des différenciations de la membrane plasmique, comme les zonula occludens et adherens, ou les contacts focaux (qui seront vus en Biologie cellulaire).

Il existe des faisceaux **stables**, structures pérennes observées dans les cellules musculaires (cf. sarcomère), les autres formations sont dites **labiles** car susceptibles de dépolymériser en fonction des besoins de la cellule.

Cryodécapage : méthode de choix pour décrire le cytosquelette cortical.

B. Organisation moléculaire.

Les microfilaments sont formés d'actine et de protéines associées.

1°) L'actine :

Il existe 6 isoformes (variétés moléculaires) d'actine chez l'homme, les principales sont les actines α , β et γ .



- **Les actines β et γ** sont présentes dans les **cellules non musculaires**
- **L'actine α** est présente dans les **cellules musculaires lisses ou striées**.

Les actines sont des protéines **globulaires**. Les monomères d'actine G (G pour globulaire) sont très mobiles. Le site nucléotidique pour l'ATP est situé au niveau de l'extrémité -.

Un filament d'**actine F** (pour filamenteuse) est formé de **deux chaînes d'actine G enroulées l'une sur l'autre en hélice (voir Fig. 5. 8)**.

2°. les protéines associées à l'actine :

(ou ABP = actine binding protéins). Elles sont très nombreuses et possèdent toutes au moins un domaine d'association à l'actine (ou ABD = actin binding domain) (**voir Fig. 5. 9**). Ces protéines ont des rôles cruciaux pour les microfilaments. Elles interviennent dans :

- la **dynamique** : nucléation, élongation et stabilité (cf. I)
- l'**organisation structurale** : protéines de fasciculation et de réticulation
- le **mouvement** : moteurs moléculaires spécifiques de l'actine, les myosines.

Il est hors de question d'étudier le catalogue sans fin de ces ABP, nous verrons les principales au travers de quelques exemples.

a) Dynamique des microfilaments

Nucléation : nécessite un complexe formé des protéines **Arp 2 et Arp 3** (*Actin related protein*) associées à d'autres protéines. **Les actines G se fixent sur les Arp par leur face -**.

Ces complexes sont situés au niveau des membranes plasmiques ou sur les faces latérales des microfilaments : (**voir Fig. 5. 10**)

- **localisation préférentielle** des microfilaments.
- **orientation préférentielle** : les extrémités - sont périphériques, les extrémités + sont plus centrales.
- Ils favorisent la **formation de réseau** : complexes fixés sur les faces des actines F.

Elongation : dans les concentrations usuelles en actine G ($CcT < \text{Actine G} < CcD$), l'élongation s'effectue par fixation des faces - des monomères sur l'extrémité + des polymères. Dans les cellules non musculaires, la concentration en actine G est largement supérieure aux besoins. (**voir Fig. 5. 11**)

L'actine G est séquestrée par diverses protéines cytosoliques dont la plus abondante est la **thymosine**. Elle fixe une actine G par la face - :

- site nucléotidique obstrué : **incapable d'échanger son ADP** par un ATP.
- face - masquée, donc **inapte à la polymérisation** (dans les conditions usuelles !).

Sur commande cellulaire, la **profiline** se fixe sur la face + des actines G complexée à la thymosine, libérant l'actine G. La face - libre peut échanger son nucléotide et venir se fixer sur l'extrémité + des polymères en élongation. L'intégration détache la profiline, régénérant une extrémité disponible pour recevoir de nouveaux monomères.

Stabilité : de nombreuses ABP stabilisent les polymères. Certaines se fixent sur les faces latérales des actines F, ce qui est stoechiométriquement peu efficace : la **tropomyosine**, protéine fibrillaire, couvre 7 actines G. (**voir Fig 5. 12**)

Les protéines les plus efficaces se fixent directement sur les extrémités :

- **Extrémité -** : **complexes de nucléation, tropomoduline** des sarcomères.
- **Extrémité +** : **Cap Z**, une protéine découverte dans les disques Z des sarcomères.

Curieusement, plusieurs de ces protéines sont retrouvées au niveau des sarcomères composés de microfilaments stables !

D'autres protéines sont capables de **couper les actines F**, générant de nouvelles extrémités libres donc très dynamiques : dans les conditions usuelles, ils vont **dépolymériser** (actine G $< CcD$) :

- **Gelsoline** : activée par une augmentation du Ca^{++} . Elle autorise les **transitions gels sols (gelsoline)** : gel = cytoplasme visqueux par réseau d'actine F, sol (solution) = cytoplasme fluide par déstabilisation du réseau. (**voir Fig. 5. 13**) Cela modifie l'organisation du cytosquelette cortical pour permettre des mouvements comme l'émission de pseudopodes, ...

- **Cofiline** : se fixe sur les faces des actines F et force l'enroulement des protofilaments. Cette augmentation de contraintes structurales déstabilise les actines F. Se fixant préférentiellement sur les actines ADP des polymères, cela permet de détruire « les vieux microfilaments ».

b) Les protéines de fasciculation et de réticulation



Ces protéines disposent de 2 ABD ou agissent sous forme de dimères (filamine, α actinine) ou tétramères (spectrine). (**voir Fig. 5. 14**)

Faisceaux d'actine F : les protéines de fasciculation pontent entre eux les microfilaments disposés en faisceaux parallèles. Suivant la distance entre les ABD, elles formeront des faisceaux serrés ou lâches.

Faisceaux serrés : la distance entre 2 actines F ne permet pas le passage des myosines ($< 15 \text{ nm}$). Ces faisceaux n'ont donc qu'un **rôle structural**. Deux protéines à retenir sont utilisées (parmi d'autres) :

- **Fimbrine** : principalement retrouvée dans les **filopodes**, extension filaire de la membrane plasmique (*on les appelle aussi fimbriae !*).
- **Villine** : composant principal des **microvillosités**.

Microvillosité : (**voir Fig. 5. 15**) Le cytosquelette est formé par une trentaine d'actines F associés principalement par de la **villine**. Les extrémités + des polymères sont stabilisées dans une structure mal connue située au sommet de la villosité et contenant de la **myosine V**. Les extrémités – sont reliées au cytosquelette cortical, entre autres par de la **spectrine**. Latéralement, le faisceau est relié à la membrane plasmique par différentes protéines membranaires dont la **myosine I** et l'**ezrine**.

Faisceaux lâches : la distance plus grande entre les microfilaments permet le passage de la myosine M2. Certains de ces faisceaux pourront donc développer des forces motrices. Parmi les protéines de fasciculation, on retiendra l' α **actinine** (*distance = 30 nm*). Elle organise les microfilaments dans les sarcomères, au niveau des **disques Z**, où l'on trouve aussi la CapZ. Elle intervient aussi dans la **fixation membranaire** des microfilaments : cf. les zonula adherens avec la séquence cadhérine- β caténine- α caténine- α actinine- actine.

Queues d'actines : (voir Fig. 5. 16)

En pénétrant dans des cellules, certaines bactéries telles que *Shigella* provoquent une polymérisation d'actine cytoplasmique sous la forme de faisceaux, ou **queues d'actine**, qui propulsent la bactérie à travers le cytoplasme, puis l'aident à quitter la cellule par exocytose.

En fait, la formation de queues d'actine est un phénomène banal, qui se produit lors de l'endocytose et de la transcytose.

Réseaux d'actine F : les protéines de réticulation permettent de relier des microfilaments se croisant. Deux sont à retenir :

- **Filamine** : principale protéine de réticulation impliquée dans la formation des réseaux formant les **gels** : **lamellipodes** (voile membranaire)

Spectrine : composant principal du **cytosquelette des globules rouges**, mais aussi microvillosités, ...

c) Fixation aux membranes

De nombreuses protéines permettent la fixation des microfilaments aux membranes. Le rattachement aux cadhérines (zonula adherens et contacts focaux) a été vu. De même, vous verrez des structures spécifiques dans les muscles striés : dystrophines, costamères. Enfin les myosines I et V disposant d'une extrémité hydrophobe servent au trafic vésiculaire.

3°) Les moteurs moléculaires spécifiques de l'actine : les myosines (*myo = muscle*)

Ces ABP au rôle majeur font l'objet d'un chapitre spécifique, mais elles sont des ABP au même titre que les précédentes. Les **moteurs moléculaires** (de l'actine comme de la tubuline) ont 2 applications principales :

- génération de **forces**
- transport d'organites : **trafic vésiculaire**

Tous **convertissent** l'énergie chimique, l'**ATP**, en **énergie mécanique** (et éventuellement thermique).

Globalement, la structure des moteurs moléculaires comporte 2 domaines : (**voir Fig. 5.17**)

- Un **domaine moteur** globulaire, responsable de l'identification du filament et de la direction du mouvement. Pour les myosines, il est N-terminal (*équivalent à la méromyosine ou fragment S1*).
- Un **domaine linéaire** responsable de l'identification du chargement (donc des fonctions biologiques).

Il existe 18 familles de myosine. Nous ne verrons que les principales, M1 et M2, ainsi que succinctement les M5 et M6.



Le domaine moteur des myosines possède l'**ABD**, un **site ATPasique** et le **domaine de conversion**. Ce dernier transforme les petites modifications structurales induites par l'hydrolyse de l'ATP en rotation du bras de levier (partie antérieure du domaine linéaire) : le domaine ABD se déplace de 5 nm, la taille d'une actine G !

Les **myosines** se déplacent toujours **du – vers le +**, **sauf la myosine VI**, dont le domaine de conversion « monté à l'envers » en fait une myosine **à marche inverse** (+ vers -).

Les domaines moteurs ou « têtes des myosines » sont composés d'une chaîne lourde qui se poursuit dans le domaine linéaire et de chaînes légères (2 pour M2) qui régulent l'activité de la myosine.

Myosine I ou M1 : monomérique, son domaine linéaire se termine par une région hydrophobe qui permet une insertion membranaire, d'où son rôle :

- **transport cytoplasmique des vésicules et organites membranaires** (à plusieurs, la marche est difficile pour un unijambiste). (voir Fig. 5. 18 et 5. 19)
- **Insertion membranaire** des actines : cf. microvillosités

Leur activation est assurée par une **kinase Ca⁺⁺ calmoduline dépendante** (cf. Cours de Biologie cellulaire) qui phosphoryle les chaînes légères.

Myosine II ou M2 : dimérique (*on marche mieux avec 2 jambes !*). Chaque monomère est formé d'une chaîne lourde associée à 2 chaînes légères (à la base du domaine moteur). Le domaine linéaire, plus long, ne possède pas de domaine hydrophobe, mais leur permet de s'associer entre elles.

M2 est typiquement une « myosine musculaire », générant une force mécanique. Elle forme des structures différentes suivant les types cellulaires :

- **Muscle strié** : les M2 s'associent latéralement puis 2 paquets de M2 s'associent tête-bêche par l'extrémité de leur domaine linéaire, générant un **filament épais** de myosine (voir Fig. 5. 20 et 5. 21) : 1,5 µm de long x 15 nm Ø. Cela explique pourquoi les faisceaux serrés ne peuvent pas faire de la contraction !

- **Cellule non musculaire** : Les **filaments de myosine se forment en cas de besoin**. Sous l'effet d'un signal Ca⁺⁺, une kinase Ca⁺⁺ calmoduline dépendante, la **MLCK** (*Myosin Light Chain Kinase*) phosphoryle les chaînes légères. Les M2 s'associent alors tête-bêche, par petit nombre, pour former des filaments de myosine qui s'insèrent entre les microfilaments des faisceaux lâches :

- **fibre de stress**
- **anneau contractile** responsable de la cytodièrese, lors de la phase terminale

de la mitose.

Myosine V ou M5 : dimérique, avec des domaines hydrophobes à l'extrémité de chaque domaine linéaire. Elle est donc particulièrement taillée pour faire du trafic vésiculaire : transport des mélanosomes, ...

C. Les microfilaments dans le muscle strié

Ce sont des cellules spécialisées dans la production de force, donc ne comportant **que des éléments stables**, prêt à intervenir à la moindre sollicitation. Le mouvement produit par l'interaction actine – myosine doit être instantané et très exactement régulé. Cela nécessite l'intervention de **nombreuses protéines pour** :

- **stabiliser et positionner** les différents filaments.
- **contrôler** très précisément l'interaction.

Les structures participant à ce ballet méticuleusement organisé seront vues dans le cours sur le tissu musculaire. Nous ne développerons ici que le contrôle de l'interaction.

La génération de force repose sur le **contact transitoire actine myosine**.

L'actine F se présente comme un ruban torsadé formé de la juxtaposition de 2 protofilaments. **Chacune de ses faces est parcourue par un long filament de tropomyosine – troponine qui recouvre les sites de fixation de la tête de myosine sur chaque actine G** de chaque protofilament (sur une face du ruban). (Voir Fig. 5.22)

Les polymères de tropomyosines comportent des complexes troponine.

La **troponine** est composée de **3 sous unités** :

- T (TnT) : assure la liaison avec la Tropomyosine (*la troponine T cardiaque est l'indicateur le plus précoce d'une destruction des cardiomyocytes observée dans l'infarctus du myocarde*)
- C (TnC) : fixe le Ca⁺⁺
- I (TnI) : assure la connexion entre les 2



L'activation est déclenchée par la libération de Ca^{++} qui **se fixe sur TnC**. Troponine- Ca^{++} entraîne un **basculement des filaments de tropomyosine – troponine dans la gorge** entre les protofilaments, **démasquant les sites de fixation** des têtes de myosine. La tropomyosine a donc 2 rôles importants : stabilisation des actines F (cf. B 2° Stabilité) et régulation de la contraction. (**voir Fig. 5. 23**)

Mécanisme de la génération de force :

Le principe général est simple : une étape va entraîner de légères modifications de la structure du domaine moteur qui vont permettre le passage à l'étape suivante, en jouant sur le site ATP ou l'affinité actine myosine. (**Voir Fig. 5.24**)

1 - Domaine moteur ou **S1 sans nucléotide** : forte affinité pour l'actine (responsable de la rigidité cadavérique !). Mais le site nucléotidique est grand ouvert, ce qui permet la fixation d'ATP (en large excès dans le cytoplasme : nombreuses mitochondries !).

2 - **S1 ATP** : la fixation d'ATP provoque une modification de conformation de S1 qui n'a plus d'affinité pour l'actine : **détachement**.

3 – **S1 ADP + Pi** : le détachement de l'actine ferme le site nucléotidique et active l'hydrolyse de l'ATP. L'énergie libérée permet le pivotement de S1 (*de 5nm, soit exactement la distance d'une actine G*). Mais S1 ADP présente une affinité faible pour l'actine G, ce qui permet **l'attachement sur l'actine suivante**.

4 – **S1 ADP** : la fixation sur l'actine ouvre la fente nucléotidique, permettant la libération du Pi responsable du « coup de force ». l'affinité pour l'actine augmente, ce qui permettra la transmission d'une force (stockée dans la structure de la myosine). La sortie de Pi (comme l'action sur une gâchette) provoque le retour de S1 à sa position de repos, entraînant avec elle le microfilament.

Le retour à la position de repos ouvre encore plus le site nucléotidique, permettant l'éjection de l'ADP : on se retrouve au point de départ (mais une actine plus loin !).

Pour atteindre le niveau de performance attendu, tous ces éléments sont rigoureusement disposés par centaine de milliers dans des unités de contraction : les sarcomères (**voir Fig. 5. 24**). Tous les filaments d'actine (myofilaments fins) sont attachés par leur extrémité + aux deux extrémités des sarcomères sur des disques Z. Les myofilaments épais de myosine sont au milieu du sarcomère chacun d'eux étant entouré de 6 filaments d'actine. Pendant la contraction, le filament de myosine reste fixe car il est soumis à deux groupes de forces égales et opposées. C'est l'actine qui est attirée vers le centre du sarcomère provoquant le rapprochement des deux disques Z donc le raccourcissement du sarcomère. Des milliers de sarcomères mis bout à bout forment une myofibrille. (Voir cours d'histologie).



III / LES MICROTUBULES

Ce sont des cylindres épais : \varnothing **25 nm**. Ils sont donc moins flexibles, cassants, très dynamiques (donc forte adaptabilité), mais résistants en compression (ils positionnent les organites dans la cellule : cf. Golgi).

A Morphologie

1°) Microscopie optique

Techniques classiques : invisibles ($\varnothing <$ pouvoir de résolution). Seuls les faisceaux de microtubules sont visibles, mais mal colorables par les colorants topologiques : fuseau achromatique mitotique.

Techniques spéciales :

a) Immuno-fluorescence : les MT sont présents dans toutes les cellules. Dans une « cellule typique », ils sont globalement rayonnants à partir « d'un centre cellulaire » vers la périphérie (**voir Fig. 5. 25**). Ils sont très abondants dans certaines structures spécialisées :

- cils vibratiles et flagelles ; : axonème
- dendrites et axone des neurones.

b) Microscope en lumière polarisée : a permis une observation sur cellule vivante, lors de la mitose (actuellement on lui préfère les protéines GFP).

2°) Microscopie électronique : (voir Fig. 5. 26)

- à faible grossissement, ils forment de petits **cylindres très allongés**.
- à fort grossissement, ils forment des cylindres **creux** de **25 nm** \varnothing composés de **13 protofilaments** de 5 nm \varnothing chacun.

Le fuseau mitotique apparaît formé de faisceaux de MT.

B Structure moléculaire

Tout comme les microfilaments, les microtubules sont formés de tubulines et de protéines associées.

1°) La tubuline

Il existe 7 types de tubulines dont les 3 principales sont les tubulines α , β et γ . Ce sont des **protéines globulaires** de \varnothing 5 nm (comme les actines).

Les tubulines α et β sont les plus abondantes et s'associent pour former un **dimère** $\alpha\beta$ cytoplasmique **stable**. Il constitue le monomère de base dans la polymérisation des MT. Chacune fixe un **GTP au niveau de la face +**. Seul le GTP des tubulines β est échangeable (à cause de la stabilité des dimères $\alpha\beta$). (**voir Fig. 5. 27**)

L'excès de dimères cytosoliques est complexé par la **stathmine** (rôle analogue de la thymosine), par contre il n'existe pas d'homologue de la profiline, la libération des dimères pour permettre leur incorporation résulte d'une régulation directe de la stathmine (*phosphorylation*).

La tubuline γ plus rare n'est retrouvée qu'au niveau des **sites de nucléation des MT**, les **γ TuRC** (γ Tubulin Ring Complex).

Le MT est un cylindre creux formé de 13 protofilaments. Chaque protofilament résulte de la polymérisation de dimères $\alpha\beta$. Cet arrangement est responsable de la polarité structurale des MT :

- o **Extrémité -** : composée de tubulines α



- **Extrémité +** : composées de tubulines β

Un léger décalage des protofilaments les uns par rapport aux autres génère une disposition quasiment hélicoïdale des tubulines de même nature. (**Voir Fig. 5.27**)

Les MT peuvent « fusionner » en partageant certains protofilaments pour former des

- **doublés** : axonèmes (**voir Fig. 5. 28**)
- **triplets** : centriole

2°) Les protéines associées aux MT : plusieurs catégories

a) Protéine de stabilisation : rôle majeur compte tenu de l'instabilité intrinsèque des MT. Elles se fixent sur les faces latérales des MT et ont aussi un rôle sur leur organisation structurale. Elles sont appelées **MAP** (Microtubule Associated Protein) :

Tau : « courte », formant les faisceaux serrés des axones (spécifique de l'axone)

MAP2 : plus « longue », responsable des faisceaux lâches des dendrites (spécifique des dendrites).

Les protéines de coiffe sont moins nombreuses que pour l'actine F. On peut citer la tubuline γ qui stabilise l'extrémité -, les **catastrophines** qui déstabilisent les extrémités +.

b) Protéines de liaison des MT : les **nexines** des axonèmes, certaines MAP.

c) Moteurs de la tubuline : il existe 2 familles de moteurs, utilisant l'ATP comme source d'énergie : (**voir Fig. 5. 29**).

Kinésines : se déplacent **du - vers le +** (comme les myosines)

Dynéines : se déplacent **du + vers le -**

Durant l'interphase, ces moteurs sont impliqués dans le **positionnement des organites** et le **trafic vésiculaire**. Un réseau de protéines arriment l'extrémité linéaire des moteurs aux protéines intrinsèques de membrane des vésicules.

Compte tenu de l'orientation préférentielle des MT :

- **Kinésines** : **transport centrifuge**, du centre de la cellule vers la périphérie
- **Dynéines** : **transport centripète**

Durant la **mitose**, ces moteurs vont assurer **plusieurs fonctions importantes** (elles seront détaillées lors de l'étude la mitose) :

- des kinésines multimériques permettent le coulisement des MT chevauchants (anaphase B)
- des dynéines multimériques permettent l'agencement des microtubules au niveau des asters. Des dynéines membranaires participent à l'ascension des pôles en marchant sur les fibres astériennes.

C Rapport avec les autres organites

1°) Les Centres Organisateur des MT ou COMT :

a) durant l'intercinèse : dans la plupart des cellules animales, les MT rayonnent à partir d'une région centrale, le COMT, où se trouvent localisés les **centrioles**. On y trouve des **anneaux de tubuline γ ou γ TuRC** associées à d'autres protéines (pour structurer l'anneau) et qui servent de **site de nucléation** stabilisant l'extrémité - des MT. Les γ **TuRC** sont situés dans le matériel péricentriolaire et sur les satellites (cf. centrioles).



b) durant la mitose : autour des centrioles répliqués, dans le matériel péricentriolaire de la centrosphère. Cette structure rayonnante constitue les **asters**.

c). Dans les cils vibratiles, les doublets de microtubules sont en rapports avec une structure très proche du centriole, le **blépharoplaste**, par l'intermédiaire d'une plaque basale.

2°) Avec les autres constituants du cytosquelette microfilaments et filaments intermédiaires. Des protéines comme la **plectine** peuvent relier entre eux les 3 types de filaments. Les microtubules et les microfilaments interviennent souvent ensemble dans la motilité cellulaire.

3°) Avec la membrane plasmique, par des protéines d'ancrage.

4°) Avec les vésicules, grains de sécrétion, lysosomes etc... Ils interviennent dans le transport de ces vésicules : trafic vésiculaire.

5°). Avec les chromosomes : au cours de la mitose les chromosomes sont séparés, transportés et répartis dans les deux cellules-filles par un système complexe de faisceaux (fibre) de microtubules. D'autres moteurs moléculaires entrent en jeu et seront étudiés avec la mitose.

D Variétés de MT

On distingue deux types de MT : selon leur sensibilité aux agents physiques (froid 0° - 4°C) et aux agents chimiques comme la COLCHICINE et la VINBLASTINE.

1°). Les microtubules labiles : composés de MT cytosoliques extrêmement dynamiques. A l'intérieur de structures microtubulaires apparemment stables, chaque MT peut croître ou décroître. Cette instabilité

- est mise à profit pour une réorganisation partielle des MT en fonction des besoins de la cellule, ou totale lors de la mitose
- explique la sensibilité au froid ou à des substances comme la colchicine ou la vinblastine qui détournent les dimères de tubuline libérés par les MT en dépolymérisation : les MT finissent par disparaître.

2°). Les microtubules stables ne dépolymérisent jamais : ce sont les MT des structures spécifiques axonèmes et centrioles. Ils sont stabilisés par des protéines spécifiques et sont donc insensibles aux agents précédents.

a) Axonème : (voir Fig. 5.28)

Structure spécifique des cils vibratiles et flagelles (éléments moteurs), l'axonème est composé d'une **paire centrale entourée de 9 paires périphériques** (dans les paires périphériques, le MT complet est appelé A, l'incomplet B). De nombreuses protéines organisent cette structure (plus de 200 !). En bref :

- Les paires périphériques sont reliées entre elles par les **nexines**. Elles sont reliées au manchon central (structure entourant la paire centrale) par un **bras radiaire** (partant du MT A).
- Les **dynéines ciliaires** sont attachées aux MT A et se projettent vers le MT B de la paire voisine

Les MT centraux des axonèmes sont implantés par leurs extrémités – dans la plaque basale, les MT périphériques sont la prolongation des MT A et B de l'extrémité ciliogénétique des blépharoplastes (cf. COMT). Leurs extrémité + sont distales.

Expérimentalement, en absence de plaque basale les doublets de MT glissent les uns sur les autres après activation des dynéines. Le rattachement à la plaque basale et au blépharoplaste



empêche ce glissement et provoque un gauchissement coordonné des paires, responsable de la flexion des cils (**voir Fig. 5. 30**).

b) centrioles : voir le chapitre spécifique.



IV / FILAMENTS INTERMÉDIAIRES

Ils doivent leur appellation à leur diamètre (\varnothing 10 nm) intermédiaires entre celui des microfilaments (5 nm) et des microtubules (25 nm). Ils forment une structure peu dynamique, mais souple et extrêmement résistante.

A Morphologie

1°) Microscopie optique

Techniques classiques : ils ne sont visibles que sous forme de gros faisceaux appelés

Fibrilles :

Tonofilaments	^	Tonofibrilles
Neurofilaments	^	Neurofibrilles

Techniques spéciales :

Immuno-fluorescence : présents dans le noyau ou le cytoplasme.

- Les FI **nucléaires** sont tous des **lamines**.

- La plupart des cellules n'expriment qu'un **type de FI cytoplasmique**.

Ceci est mis à profit pour typer les tumeurs ou les métastases, en anatomopathologie.

Les FI cytoplasmiques sont organisés en un réseau ou corbeille périnucléaire, puis s'étendent vers la membrane plasmique.

2°) Microscopie électronique

Techniques classiques : Filaments de 10 nm \varnothing .

Cryodécoupage :

Cette technique permet de mettre en évidence l'organisation spatiale des FI et des autres éléments du cytosquelette, formant un réseau tridimensionnel, le **squelette microtrabéculaire** qui sillonne tous l'espace cytoplasmique. Il est utilisé pour positionner et véhiculer les différents éléments.

B Classification (voir Fig. 5.31)

Chez les vertébrés, il existe une cinquantaine de gènes de FI répartis en 5 grandes familles :

1 – Lamines nucléaires A, B et C : cf. enveloppe nucléaire (*1^{er} type de FI apparus dans l'évolution*)

2 – Kératines : FI spécifiques des **cellules épithéliales**.

Une trentaine de gènes différents sont connus qui se répartissent en 2 grands groupes : les kératines **acides** (ou *groupe I*) et **basiques** (*groupe II*). Leur expression varie suivant :

- le type de cellule épithéliale (typage des tumeurs)
- le degré de différenciation
- l'état physiologique

Des modifications des tonofibrilles donne naissance à la « kératine » des épithéliums kératinisés.

3 – Desmine : des cellules musculaires

4 – Vimentine : des cellules mésenchymateuses (fibroblaste, cellule endothéliale, ...)

5 – Neurofilaments : des neurones

C Organisation moléculaire



1°) Monomère :

Quel que soit le type de FI, les monomères présentent une organisation moléculaire similaire. Ce sont des **protéines fibrillaires** comportant :

- Un **domaine central** formé de 4 domaines α **hélicoïdaux** séparés par des régions non hélicoïdales. Cette région, très conservée, est **indispensable à la structuration des dimères**.
- Des **domaines N et C terminaux**, moins structurés et très divergents entre les différents FI.

Les domaines α hélicoïdaux permettent la formation de superhélices (hélices d'hélices α). Ils sont **composés de la répétition** d'un motif de 7 acides aminés ou **heptapeptide** favorisant les interactions entre monomères.

Le taux d'homologie de ces heptapeptides (a \wedge g) est de 25%, tous FI confondus, et de **75%** pour **des hexapeptides (b \wedge g)**. (voir Fig. 5. 32)

2°) Polymère : (voir Fig. 5. 33)

- 2 monomères s'associent de façon parallèle pour former un **dimère**, par leurs domaines centraux α hélicoïdaux. Les kératines sont des hétérodimères associant une kératine acide avec une basique. Les autres FI sont formés d'homodimères.
- 2 dimères s'associent de façon antiparallèle, avec un décalage, pour former un **tétramère** (*les extrémités N terminales sont distales*).
 - o Cette disposition antiparallèle rend le tétramère symétrique et détruit la polarité éventuelle du polymère (inaptitude au trafic vésiculaire).
 - o Le décalage permet à 2 tétramères consécutifs une association stable par les liaisons latérales (cf. introduction).
- La mise bout à bout des tétramères permet la formation d'un **protofilament**.
- 8 protofilaments s'associent pour former un **FI**.

3°) Structures d'ordre supérieur

Plusieurs FI parallèles constituent des **tonofilaments**, les tonofibrilles étant des associations plus importantes.

Les FI sont en relation avec les autres éléments du cytosquelette par des protéines comme la plectine. Ils sont en rapport avec la membrane plasmique par diverses structures :

- complexes jonctionnels : desmosomes et hémidesmosomes
- costamères : desmine entre disques Z et costamères au niveau du muscle strié.



V / CENTRE CELLULAIRE, CENTROSOME et CENTRIOLE

Le centre cellulaire ou centrosome est le lieu où se trouvent concentrés les extrémités – de la majorité des MT labiles (= COMT : centre organisateur des MT). Dans la plupart des cellules, l'élément le plus caractéristique du centrosome sont les centrioles.

Chez les végétaux, le centrosome constitué par l'enveloppe nucléaire, est dépourvu de centrioles. Les cellules musculaires sont dépourvues de centrosomes, d'autres, mégacaryocytes ou ostéoclastes, disposent de plusieurs centrosomes.

1°. Au microscope optique (voir Fig. 5. 34).

Le centre cellulaire est particulièrement visible chez les précurseurs des granulocytes où il forme une zone centrale, décolorée, encochant le noyau et appelée arcoplasme, après coloration au MGG.

Au microscope à lumière polarisées, il semble contenir 2 minuscules grains ou diplocentre noyés dans un matériel brillant, le matériel péricentriolaire.

2°. Au microscope électronique : (voir Fig. 5. 35)

Le centrosome est composé de 2 centrioles noyés dans un matériel finement granuleux formant le matériel péricentriolaire.

Le centriole est un cylindre ($0,5 \mu\text{m} / 0,2 \mu\text{m} \varnothing$) composé de 9 triplets de MT stables. Cette structure est stabilisée par différentes protéines : (voir Fig. 5. 36)

- reliant le MT central (A) d'un triplet au MT périphérique (C) du triplet voisin (comme la nexine dans l'axonème)
- formant une structure « en roue à rayons » centrale organisant spatialement les triplets (analogue aux bras radiaux et gaine centrale de l'axonème)

Les centrioles sont disposés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre (en L), ce qui détermine une polarité avec des extrémités proximales et distales. (voir Fig. 5. 35) L'extrémité distale d'un des 2 centrioles (le centriole parental) présente une couronne de 9 satellites (1 par triplet).

3°) Composition moléculaire

Les centrioles sont composés de tubulines α , β (mais aussi δ et ϵ), des protéines stabilisatrices et organisant la structure. De très nombreuses protéines (*plus de 100*) constituent le matériel péricentriolaire. Les γ TuRC sont situés au niveau des satellites et dans le matériel péricentriolaire.

4°. Rapports avec les autres organites. Les centrioles sont en rapport :

- avec les microtubules cytoplasmiques, pour lesquels ils sont des COMT
- des microfilaments et des filaments intermédiaires qui les rattacherait au noyau. (isolement des noyaux entraînant avec eux les centrioles).

5°. Variations. Les **blépharoplastes ou corpuscules basaux** sont des centrioles d'où émerge l'axonème des cils et flagelles.

L'extrémité distale du centriole situé dans le prolongement du cil est l'extrémité CILIOGENETIQUE (voir Fig. 5. 37). En fait, les MT des doublets périphériques de l'axonème sont le prolongement des 2 MT centraux (A et B) des triplets du centriole.

- Lors de la phase S du cycle cellulaire, les 2 centrioles se dissocient et se répliquent. Les 4 centrioles se séparent par groupe de 2 au cours de la mitose : un centriole parental avec sa couronne de satellites et un centriole fils. On note la disparition des satellites.



MOUVEMENTS DES VESICULES ET DES ORGANITES ORGANISES PAR LE CYTOSQUELETTE

Le schéma (voir Fig. 5. 38) résume ces principaux mouvements.

Système microtubulaire avec une direction **centrifuge** : participation de la **kinésine**

Système microtubulaire avec une direction **centripète** : participation de la **dynéine**

Système microfilamentaire: participation des **myosine M1 et M5**,
centrifuge lors de l'exocytose
centripète dans d'autres cas.

VI / LE HYALOPLASME

-C'est l'espace cytoplasmique vidé de tous ces organites optiquement vide au microscope optique, il montre au microscope électronique un matériel plus ou moins dense, floconneux. Il contient en solution de très nombreux constituants chimiques : c'est le CYTOSOL des biochimistes (voir Fig. 5. 39).

Remarque : le paraplasme regroupe des produits d'élaboration des cellules. Il ne fait pas partie des éléments constants des cellules : ce sont des inclusions de diverses substances métaboliques (glycogènes α et β , gouttelettes lipidiques) ou des pigments (mélanine, hémoglobine), qui n'ont pas valeur d'organites.

