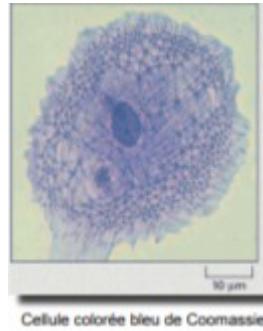


# CYTOSQUELETTE

## I. GÉNÉRALITÉS

Cytosquelette impliqué dans :

- l'organisation cellulaire : architecture + mouvements cellulaires
- interaction avec les cellules de l'environnement : résistance, déformation, déplacement, transmission force mécanique



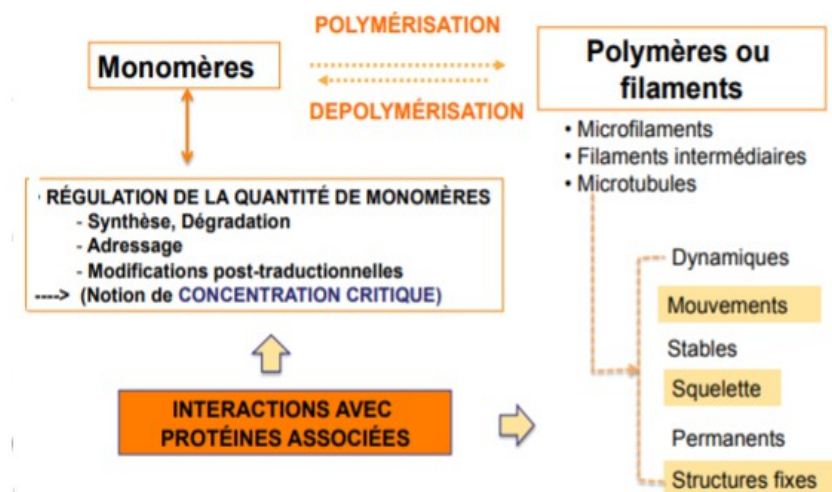
Cytosquelette → Réseau de polymères protéiques

- spé des eucaryotes : microtubules, microfilaments, filaments intermédiaires (il y a un cytosque différent chez les bactéries)
- retrouvé dans toute la cellule (cytoplasme et noyau)
- stable et dynamique
- remaniement imp +++ en mitose

Les protéines du cytosquelette sont sous forme de monomères et vont être capables de polymériser pour former des filaments : microfilaments, FI, Microtubules

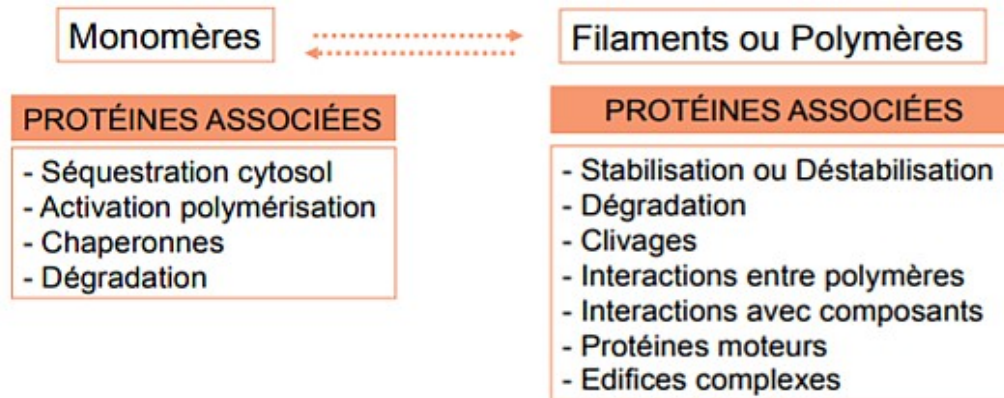
Régulation au niveau de la qté de monomères : concentration critique → concentration au dessous de laquelle les monomères sont incapables de s'associer

- synthèse ou dégradation
- adressage
- modifications post-traductionnelle



Les protéines associées soit au monomères soit aux filaments jouent aussi un rôle dans la régulation :

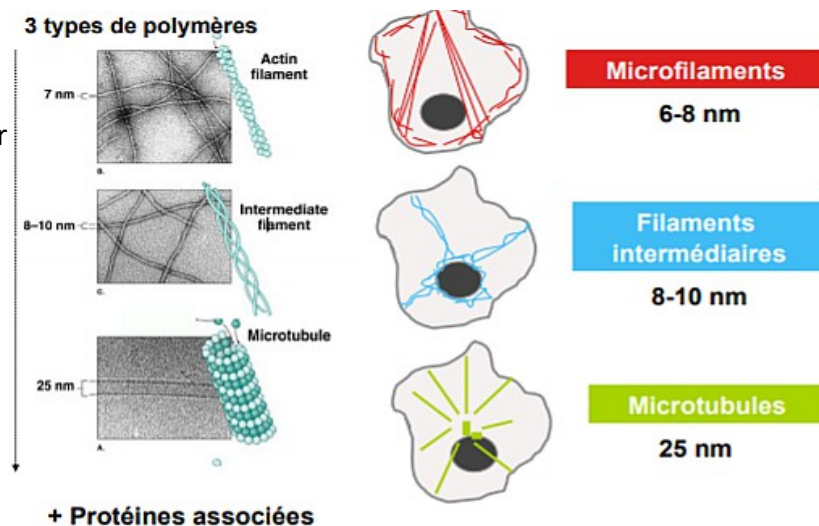
- participent à la structure organisée et à la dynamique du cytosquelette
- interagissent avec les monomères ou les filaments
- participent à la régulation des fonctions du cytosquelette
- sous l'influence de signaux extra ou intracellulaires



## II. DESCRIPTION DES DIFFÉRENTS CONSTITUANTS

Il y a 3 types de polymères, classés selon leur taille :

- microfilaments **6-8 nm**
- Filaments intermédiaires **8-10 nm**
- Microtubules **25 nm**



### II.A. Filaments intermédiaires

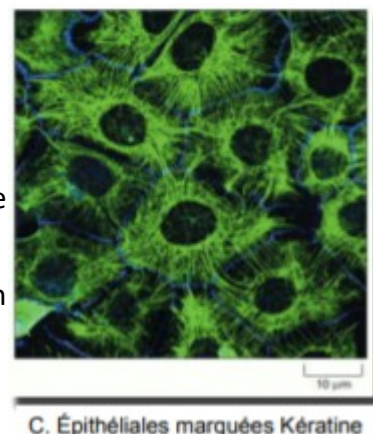
Photo : Fi marqués aux Ac anti Kératine

Caractéristiques:

- 8 – 10 nm
- très résistants aux sels et aux détergents : seuls les FI résistant dans une cellule
- spé des métazoaires (organismes pluricellulaires avec une organisation en tissus) : cohésion entre les cellules
- famille hétérogène : 50 gènes différents peuvent coder pour les FI

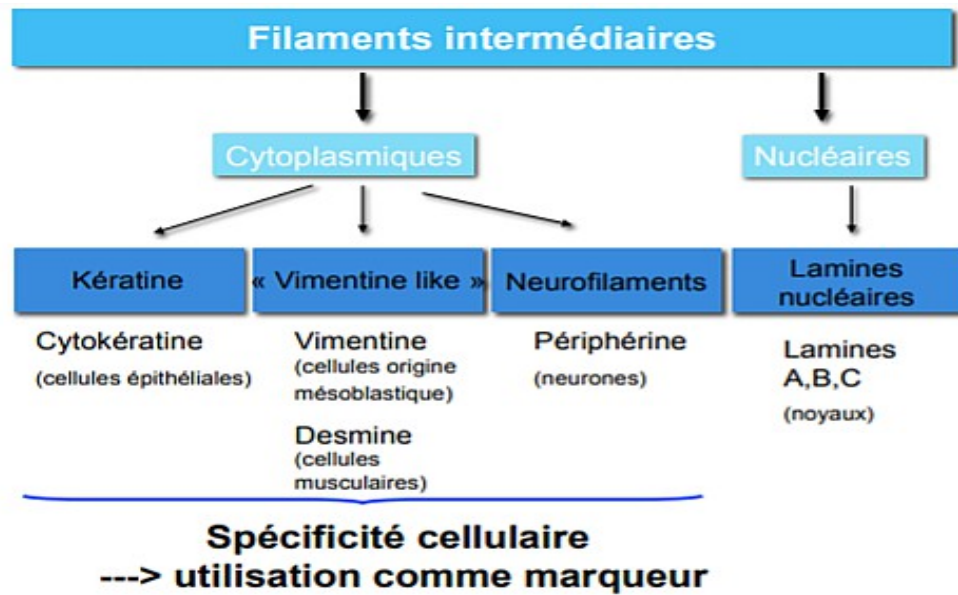
Rôle :

- organisation cellulaire et tissulaire
- régulation des contraintes mécaniques



C. Épithéliales marquées Kératine

## II.A.1. Familles de FI



## II.A.2. Structure des FI

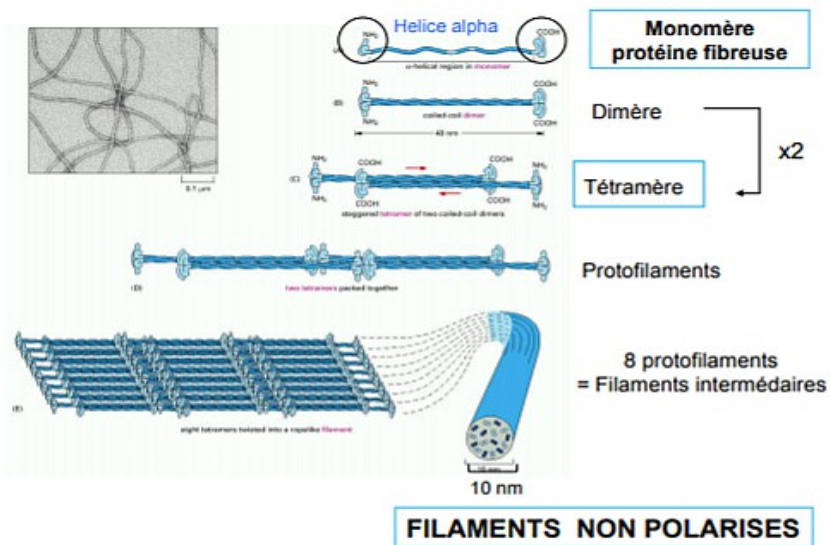
Monomère = protéine fibreuse compo de 2 domaines globulaires reliés par une hélice alpha

2 monomères vont s'associer en dimère

2 dimères vont s'associer en tétramère tête bêche → **non-polarisée** car d'un côté NH<sub>2</sub> et COOH et idem de l'autre coté

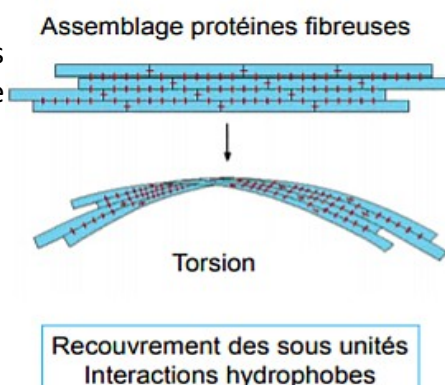
Les tétramères se mettent les uns à la suite des autres : ils s'associent en protofilaments

8 protofilaments s'enroulent pour former 1 filament (1 filament = 8x4 monomères = 32)

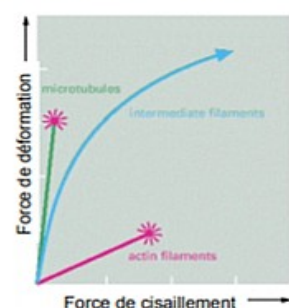


## II.A.3. Résistance des FI

Assemblage avec des interactions hydrophobes très résistantes : résistance mécanique et chimique !



Analyse de la déformation en fonction de la force appliquée



⇒ Forte résistance mécanique et chimique

## II.A.4. Assemblage des FI

### Réseau dynamique

Addition des sous-unités aux extrémités et dans le filament

**In vitro**

Auto-Assemblage

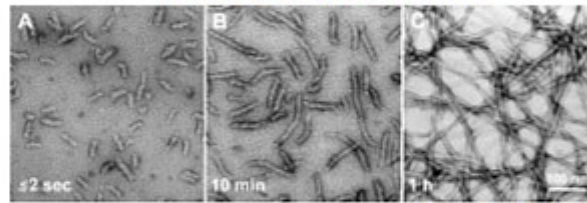
**In vivo**

Mécanismes d'assemblage/désassemblage mal connus

Cycle P/déPhosphorylation ?

Mécanisme de nucléation inconnu

Assemblage *in vitro* de vimentine



Strelkov et al. 2003

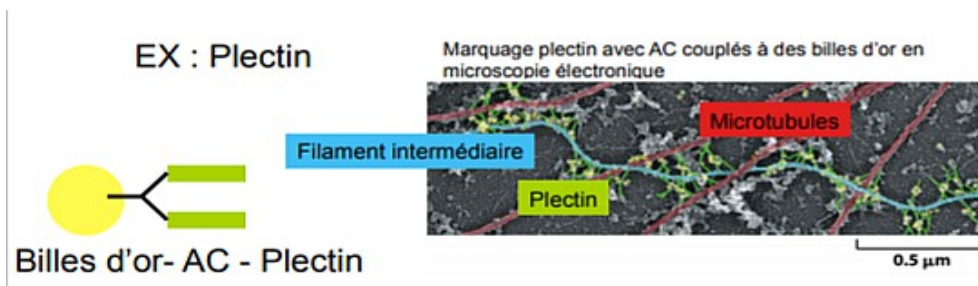
**Pas de poisons ciblant l'assemblage des filaments intermédiaires**

In vitro : s'auto-assemble

In vivo : on ne sait pas très bien, pas de poison ni de molécules qui les affectent : on n'a pas d'outil pour pouvoir les assembler ou désassembler

Cependant, on sait que les Lames s'assemblent et se désassemblent avec un cycle phosphorylation/déphosphorylation (en mitose : phosphorylation → désassemblage de la lamina nucléaire)

## II.A.5. Protéines associées aux FI



Rôle : structure

- Formation de réseaux et de faisceaux
- interaction avec microfilaments et microtubules
- Interaction avec les autres structures cellulaires
- Dégradation des FI
- **Pas de protéines moteurs associées aux FI !!** : ne servent pas de support de transport



Ex : Billes d'or couplées à des Ac anti Plectine (ME)

La Plectine fait des ponts entre les microtubules et les FI → fait des liens

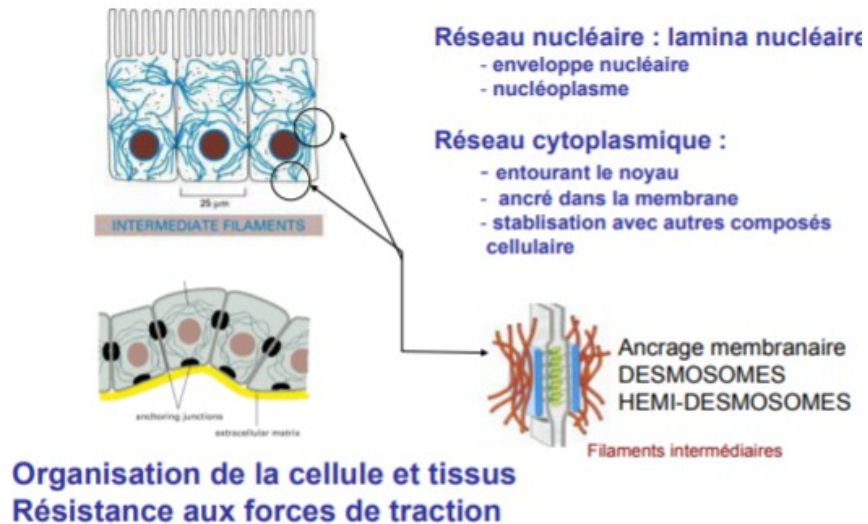
## II.A.6. Organisation cellulaire des Fi

Réseau nucléaire : Lamina nucléaire

- enveloppe nucléaire
- interaction avec nucléoplasme

Réseau cytoplasmique :

- entourent le noyau
- ancré la MP : fait des liaisons entre cellules grâce aux desmosomes et héli-desmosomes
- stabilisation avec les autres composés cellulaires



## II.B. Microfilaments = filaments d'actine (F)

Photo : Marquage de filaments d'actine dans les fibroblastes avec de la phalloïdine (poison de ces filaments d'actine) couplée à un fluorochrome

Longs prolongements dans la cellule = fibres de stress (tout le temps présentes mais aug si cellule stressée!)

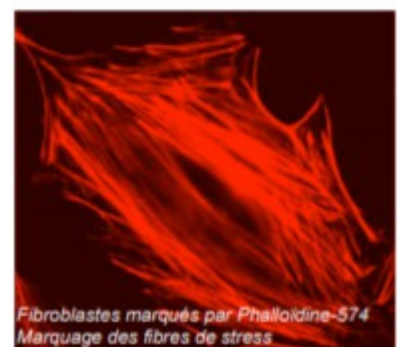
Sous la MP = cortex mb

Caractéristiques :

- 6 – 8 nm : les + petits
- Rigides
- Résistance à la tension

Rôle :

- Organisation cellulaire
- contraction
- Mouvement cellulaires

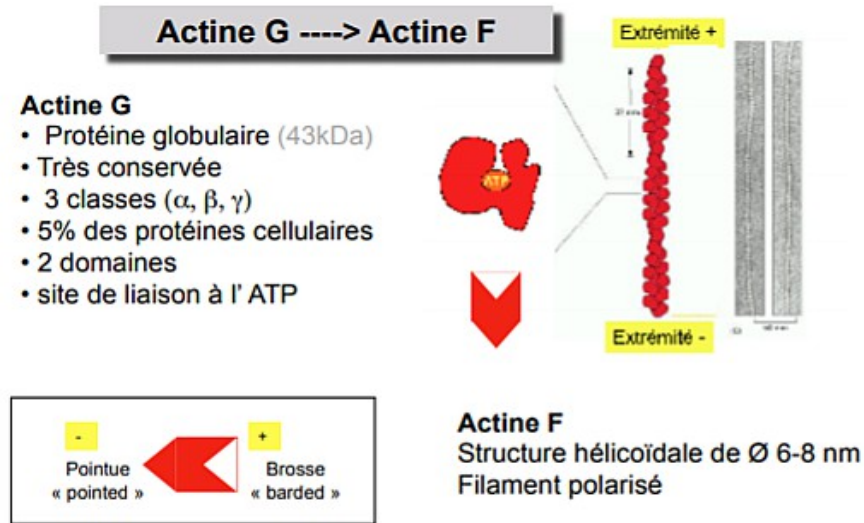


## II.B.1. Structure des microfilaments

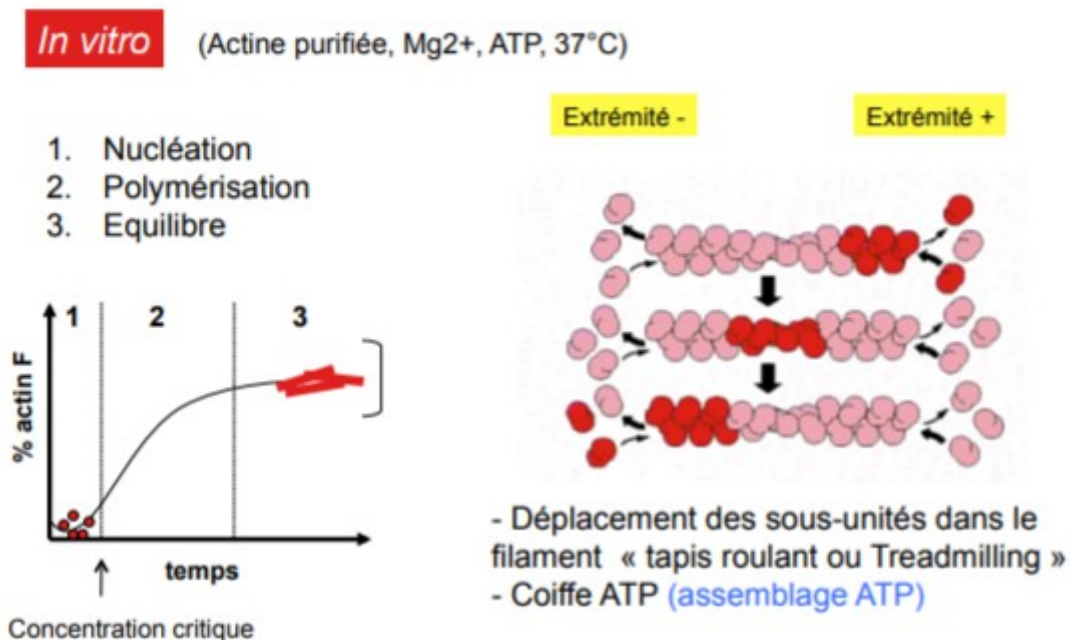
Monomères d'actine G (= Actine Globulaire) qui vont polymériser en (micro)filaments d'Actine F.

Actine G :

- protéine Globulaire
- Très conservée
- 3 classes :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (exprimées différemment en fonction des tissus)
- 5% des protéines cellulaires
- 2 domaines, à l'intersection de ces 2 domaines : site de liaison à l'ATP
- molécule asymétrique et polarisée :
  - un bout « pointu » (-)
  - un bout « en brosse » avec domaine ATP (+)



## II.B.2. Polymérisation des Filaments d'actine (F)



In vitro :

- Actine purifiée + Mg + ATP à 37°C
- Monomères s'associent difficilement si que Actine, facilité par Mg + ATP + 37°C

(1) nucléation : initiation de l'assemblage quand on a atteint la concentration critique

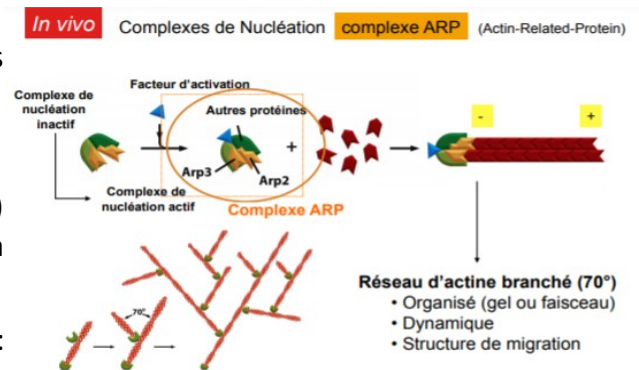
- (2) Aug de nb de filaments formés : polymérisation
- (3) Phase d'équilibre : filaments s'assemblent et se désassemblent aux 2 extrémité pour garder cet état d'équilibre : phénomène du « tapis roulant »
  - extrémité + = coiffe ATP : + d'assemblage que de désassemblage (extrémité dynamique)
    - Monomères arrivent lié à l'ATP : + facile de s'assembler (+ grand affinité)
  - extrémité - : + de désassemblage que d'assemblage
    - Monomères ont hydrolysé leur ATP : ils sont sous forme ADP et ont donc + tendance à sortir du filament (- d'affinité)

In vivo :

- concentration de monomères < concentration critique : monomères incapables de s'assembler
- Il faut l'intervention de complexes de nucléation : initient la nucléation des filaments
  - ARP : réseau d'actine branché à 70° (dynamique, structure de migration)
  - Formines : réseaux non réticulé = linéaires

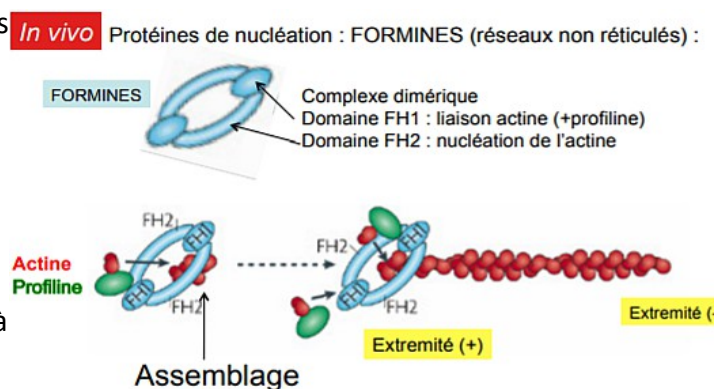
**ARP :**

- (1) complexe de nucléation sous forme inactive dans le cytosol
- (2) Facteur d'activation qui vient activer ARP
- (3) ARP peut fixer un monomère d'actine coté (-) (affinité de ARP pour le filament): initie la polymérisation + séquestre extrémité (-)
- (4) Arrivée des monomères(ATP) coté (+): polymérisation



**Formines** : complexe dimérique formé de 2 protéines avec chacune 2 domaines

- boule : FH1 : liaison à l'actine coté (+)  
(+profiline)
- tige : FH2 : nucléation de l'Actine



- (1) Actine liée à la profiline (protéine qui se lie à l'actine et qui favorise l'assemblage)
- (2) Formine se lie à l'Actine via son domaine FH1 (elle même liée à la profiline)
- (3) Transfert Actine-profiline sur FH2 : fixe le monomère

- (4) Un autre monomère d'Actine lié à la profiline se fixe sur FH1 et sera transféré sur FH2
- (5) etc

**Donc se ramifie et est lié par extrémité (+) et extrémité (-) libre**

### II.B.3. Régulation polymérisation Actine

Régulation par des signaux extra cellulaire +++

Intervention des GTPases monomériques (Rho)

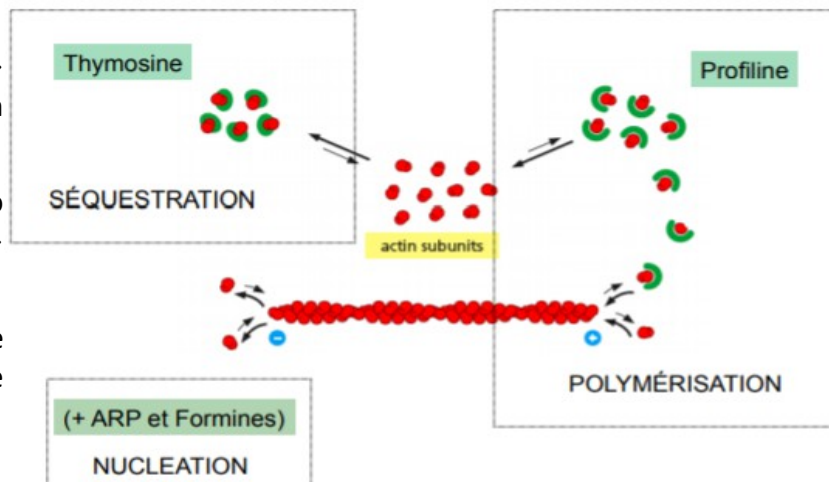
Régulation via :

- concentration critique + protéines de nucléation
- Stabilité via la famille des ABP
- Drogues spé :
  - **Cytochalasine** : inhibe polymérisation
  - **Latrunculine** : se lie à l'actine libre = séquestration → déclenche dépolymérisation
  - **Phalloïdine** : Stabilisation des filaments (utilisé pour le marquage si couplé à un fluorochrome)

### II.B.4. Famille des ABP

Protéines se liant à l'actine G (monomère) :

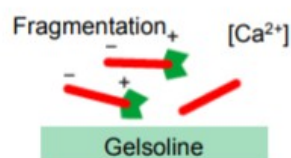
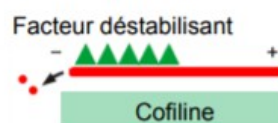
- **Thymosine** séquestre l'Actine → dépolymérisation pour rétablir un concentration suffisante d'Actine libre
- **Profiline** : se lie à l'Actine pour favoriser son assemblage via les Formines → Polymérisation
- **ARP** et **Formines** : complexes de nucléation qui lient le 1er monomère des filaments → polymérisation



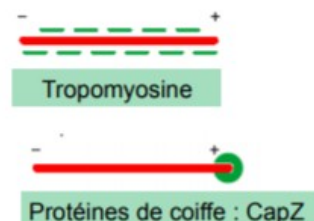
Protéines se liant à l'Actine F (filament)

- **Cofiline** : se lie sur toute la longueur du filament → dépolymérisation
  - **Gelsoline** : Si Activée par le Calcium : fragmente le réseau d'Actine → dépolymérisation
- ex : déstabilisation du cortex sous membranaire

#### DÉPOLYMERISATION



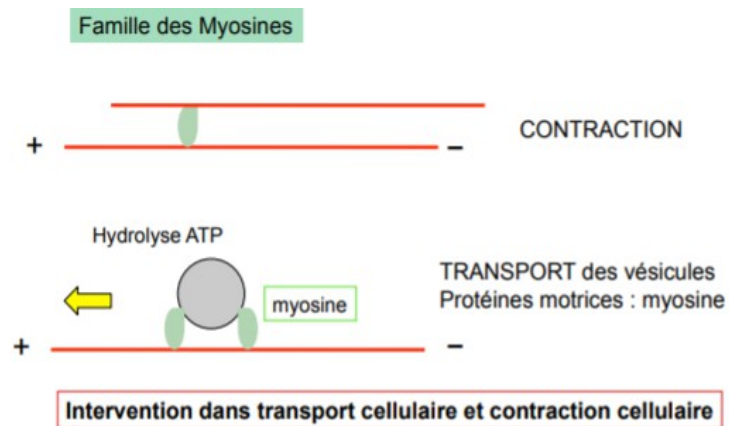
#### STABILISATION



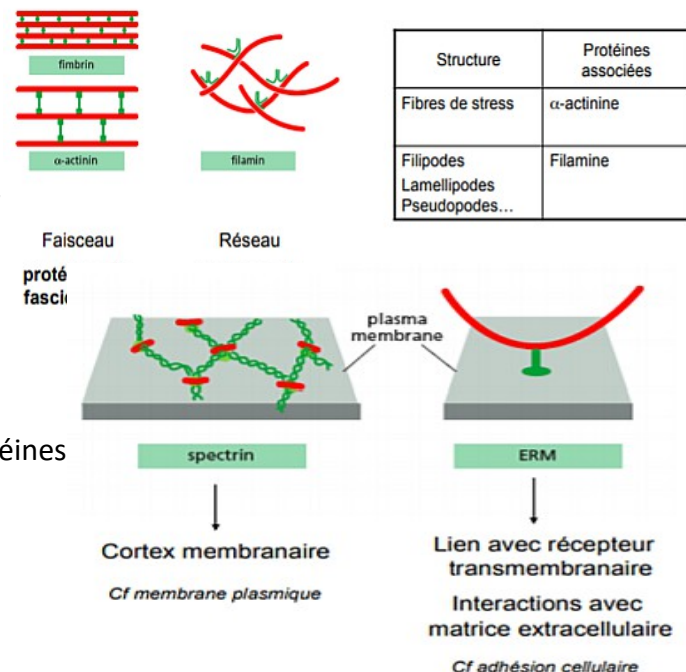


- **Tropomyosine** : dans les cellules musculaires → Stabilisation
- **Protéines de coiffe (CapZ)** : se lient à la coiffe ATP (extrémité +) → Stabilisation

- Protéines moteur (Myosines) : se déplacent sur les filaments
  - contraction : glissement des filaments entre eux
  - transport de vésicules reliés à la myosine



- ABP permettant la formation de :
    - réseau = protéines de fasciculation
    - faisceau = protéines de réticulation
- ex : Alpha Actinine dans les fibres de stress, Filamine dans les structures de migration

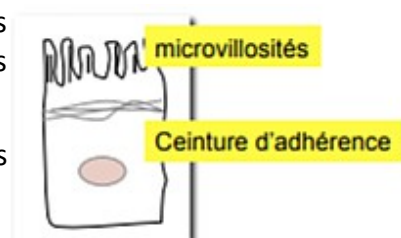


- ABP permettant l'association avec la MP :
  - Spectrine : cortex mb
  - ERM : adhésion cellulaire, interaction des protéines d'adhésion avec la MP

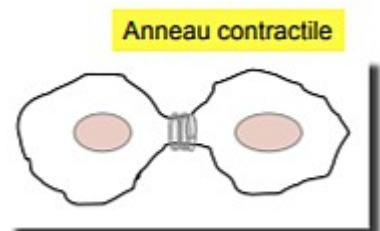
## II.B.5. Structures associées aux microfilaments dans la cellule

Au niveau de certains épithéliums, il y a des microvillosités. Au niveau de ces cellules il y a aussi une ceinture d'adhérence qui va permettre de relier ces cellules entre elles → cohérence

La ceinture d'adhérence et les microvillosités présentent des microfilaments particuliers .

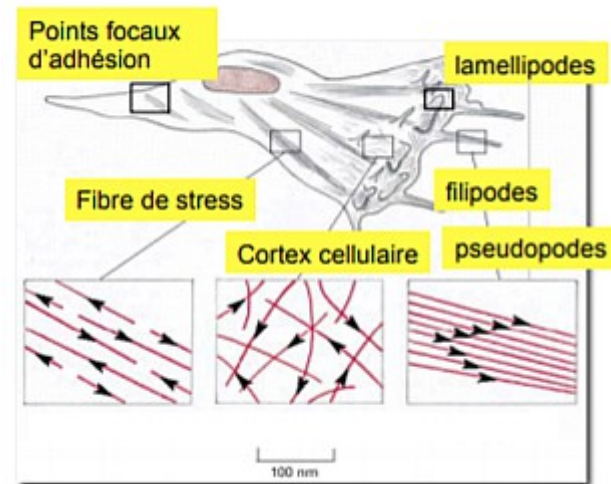


Lors de la cytodierèse : formation d'un anneau contractile qui va permettre de séparer les 2 cytoplasmes à la fin de la mitose.

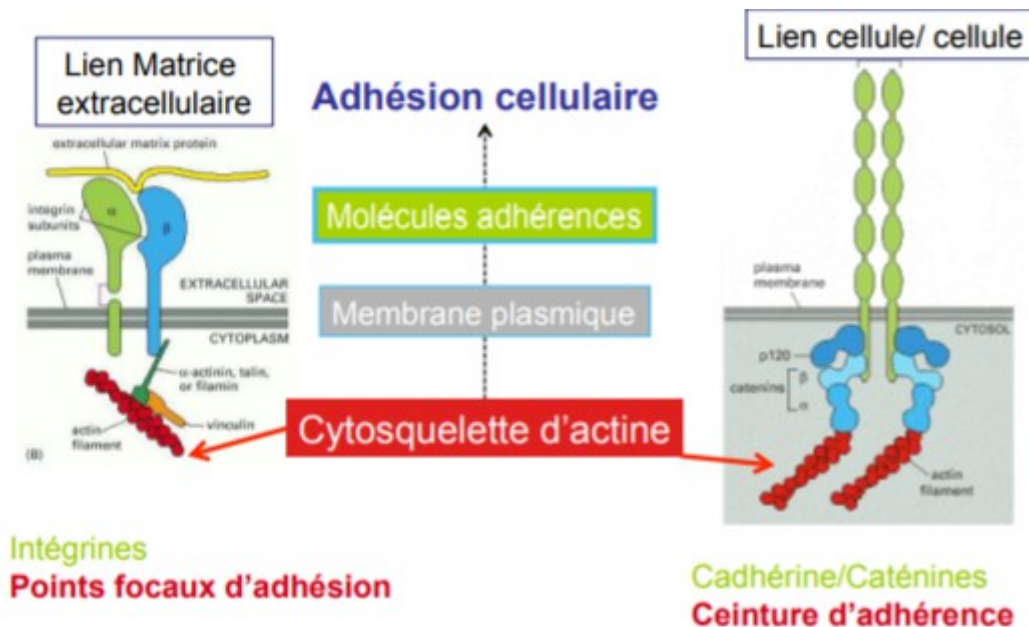


Dans les cellules, on retrouve plusieurs structures associées à l'Actine :

- fibres de stress : longs prolongements attachés à la mb/au support par des points focaux d'adhésion( = base des fibres de stress)
- !! Tjrs présentes !! si stress de la cellule : augmentation des fibres de stress
- cortex cellulaire sous la MP
- structures de migration : en réseau ou en faisceau
  - lamellipodes : lame
  - filipodes : longs prolongements fins
  - Pseudopodes : longs prolongements épais



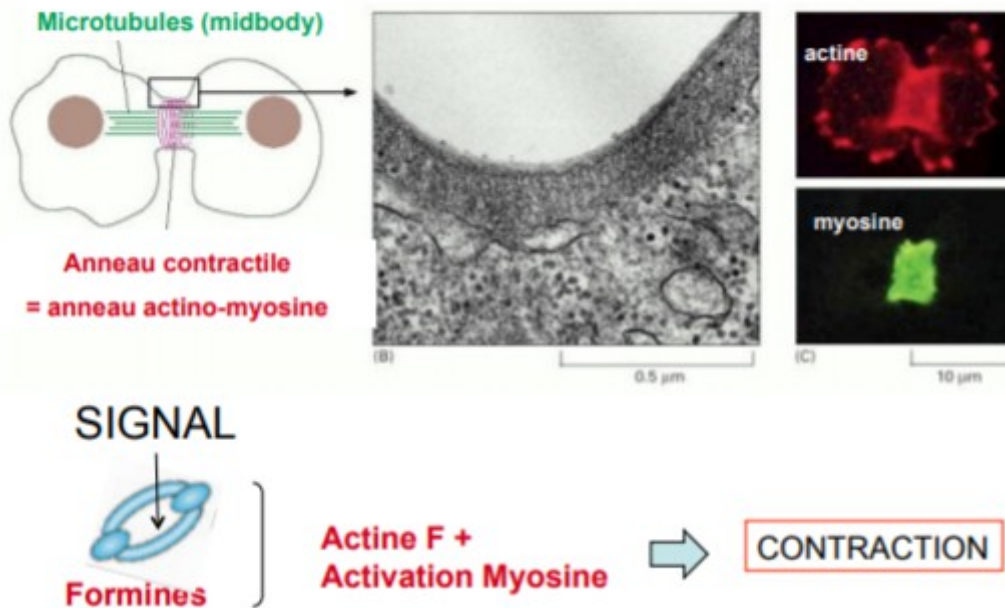
Ex : Interaction microfilaments d'Actine/ molécules d'adhérences au nv de la MP



Au nv des points focaux d'adhésion (contacts focaux), les fibres de stress ( filaments d'actine F) seront reliés avec des Intégrines (protéines de la MP).

Au nv de la ceinture d'adhésion (zonula adherens), les filaments d'actine seront reliés à des Cadhérines ou à des Caténines (Protéines de la MP).

Ex : Cytodiérèse : mise en place de l'anneau contractile

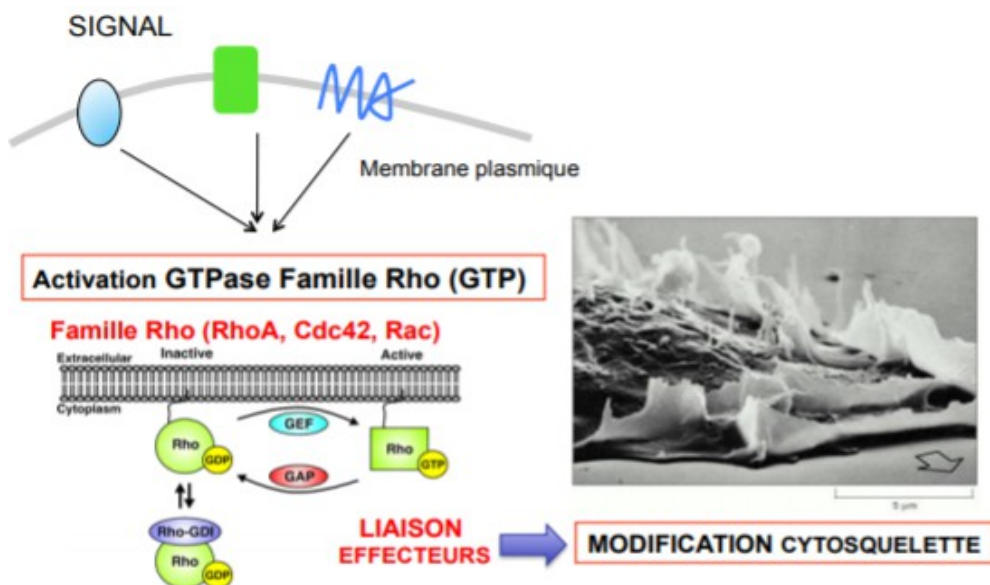


Les cellules se divisent en fin de mitose, au moment de la cytotdiérèse.

- (1) Formation d'un pont de microtubules en vert (=midbody)
- (2) Signal : Microtubules recrutent des Formines
- (3) Formines recrutent Actine G
- (4) Polymérisation en filaments d'Actine F
- (5) Filaments d'Actine F activent des Myosine
- (6) Mise en place de l'anneau contractile formé d'Actine F + Myosine → contraction qui permet la séparation des 2 cytoplasmes.

ME : marquage Actine et marquage Myosine

## II.B.6. Signalisation et modification du cytosquelette Actine



Le cytosquelette d'Actine répond à des signaux de l'extérieur qui arrivent à la MP.

Ces signaux activent des GTPases Rho :

- actives liées au GTP, peuvent être liées à leurs effecteurs et modifier le cytosquelette d'Actine
- inactives liées au GDP, peuvent être décrochée de la MP grâce aux GDI

### GTPases Rho :

- Famille avec 3 chefs de sous-familles :
  - RhoA
  - Cdc 42
  - Rac
- Étude des protéines Rho : on a pris des cellules quiescentes (=au repos) et on a injecté des protéines purifiées mutées pour être tjrs actives (Rho ou cdc42 ou Rac).

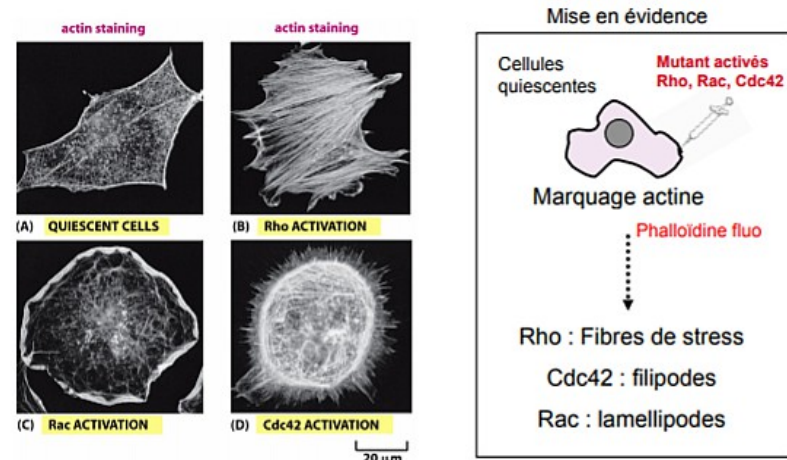
On a regardé ensuite dans quel état se trouvait le cytosquelette en marquant l'Actine grâce à de la Phalloïdine fluorescente.

RhoA activé : formation de fibres de stress

Cdc 42 activé : Filipodes

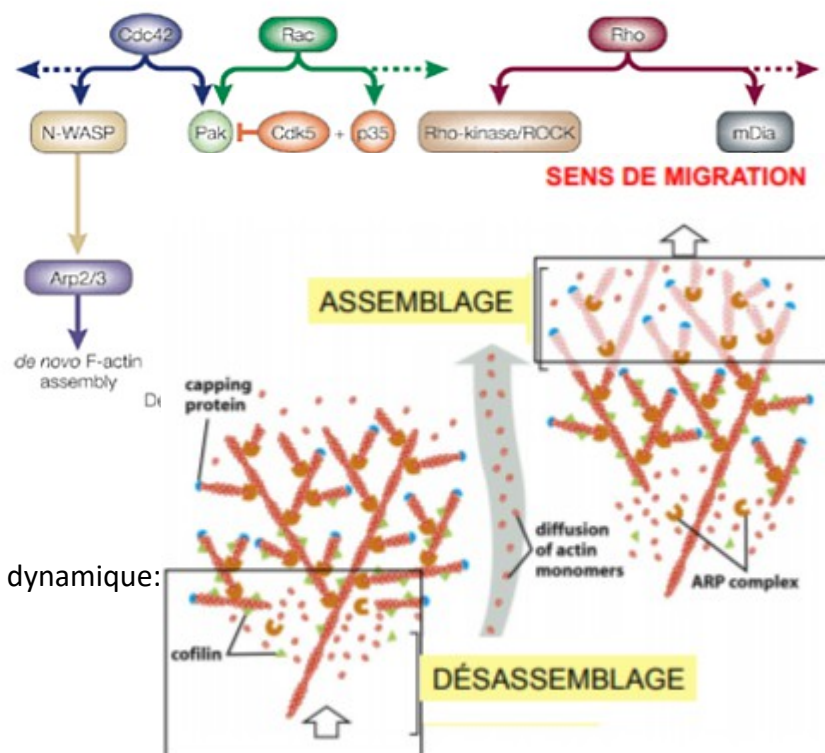
Rac activé : Lamellipodes

- On peut aussi injecter des vecteurs d'expression = des plasmides codant pour ces protéines activées : même résultat



Rho, Cdc42 et Rac, créent des cascades de signalisation aboutissant à l'activation de protéines spécifiques :

- RhoA : Profiline → Polymérisation des fibres de stress avec la Formine
- Cdc42 : Arp2/3 → protéines de nucléation
- Rac : Cofiline → Dépolymérisation des filaments d'Actine F



Ex : Formation d'une structure de migration dynamique: les Lamellipodes



Complexe Arp se fixent à l'extrémité (-) pour créer une structure de migration ramifiée (à 70°C), polymérisation du côté de l'extrémité (+) (= coiffe ATP).

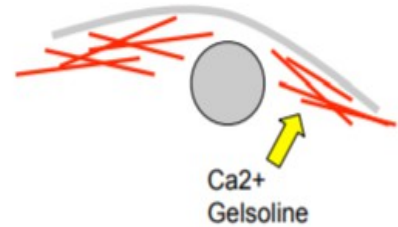
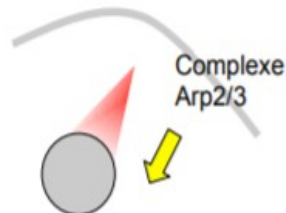
La cofiline vient se fixer à l'extrémité (-) pour dépolymériser les filaments d'Actine F

Ex : Cytosquelette Actine et transport vésiculaire

Endocytose : Complexe Arp2/3 qui forme une queue d'actine propulsant la vésicule et donc permet le déplacement de la vésicule

Exocytose : Calcium active la Gelsoline → cortex se fragmente pour laisser passer les vésicules d'exocytose

ENDOCYTOSE des vésicules  
Propulsion « queue d'actine »



EXOCYTOSE des vésicules  
Déassemblage Cortex cellulaire

## II.C. Microtubules

Photo : Ac anti tubuline

Rôle différents selon phase du cycle :

Interphase :

- Formation du réseau
- Distribution des organites
- Circulation des vésicules

Mitose :

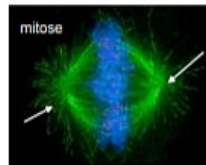
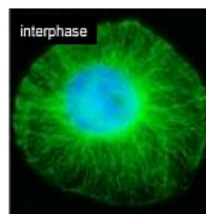
- Fuseau mitotique → ségrégation des chromosomes
- MidBody = microtubules inter zonaux au centre de l'anneau contractile → séparation des 2 cellules filles pndt la cytotdiérèse

On en retrouve aussi dans les cils et flagelles.

Rôle :

- Organisation cellulaire
- Soutien
- Transport cellulaire (rails)

Marquage :  
AC anti-tubuline  
ADN



### 3-Microtubules

Microtubules  
Centrosome

#### INTERPHASE

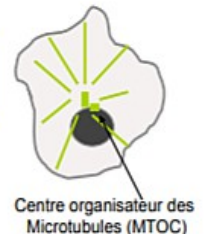
- Réseau
- Distribution des organites
- Circulation vésicules

#### MITOSE

- Fuseau mitotique
- Ségrégation des chromosomes
- « Midbody » ou microtubules interzonaux
- Séparation des deux cellules filles

#### CIL FLAGELLES

ORGANISATION CELLULAIRE  
ROLE DE SOUTIEN  
TRANSPORT CELLULAIRE (RAILS)



## II.C.1. Structure des microtubules

Tube creux de 25 nm

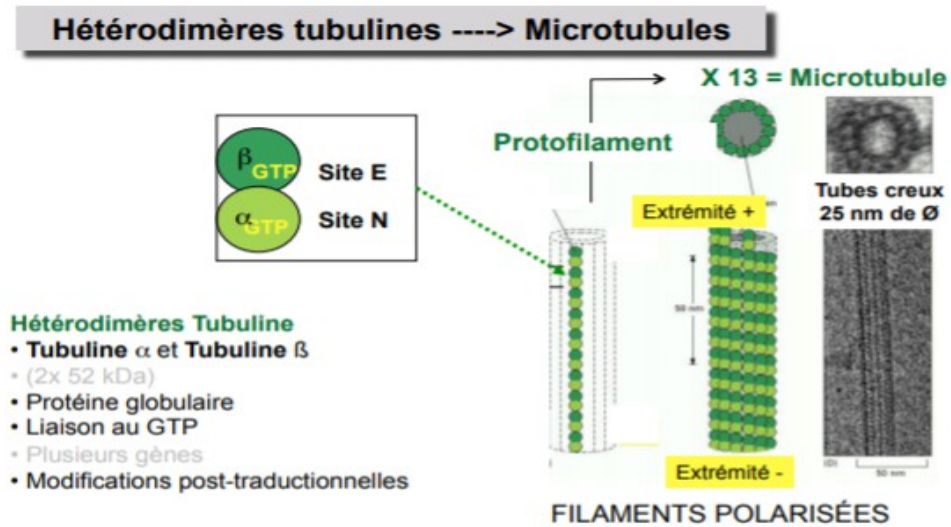
Polarisé :

→ extrémité (+) : dynamique

→ extrémité (-) : - dynamique

Hétérodimères de tubuline formés de 2 protéines globulaires capables de lier le GTP, cibles de modif post-trad:

- Tubuline  $\alpha$  : site N (Non-échangeable) → GTP reste fixé
- Tubuline  $\beta$  : site E (échangeable) → GTP peut s'hydrolyser en GDP



Assemblage d'hétérodimères à la queue leu-leu → formation d'un proto-filament

13 proto-filaments = 1 microtubule

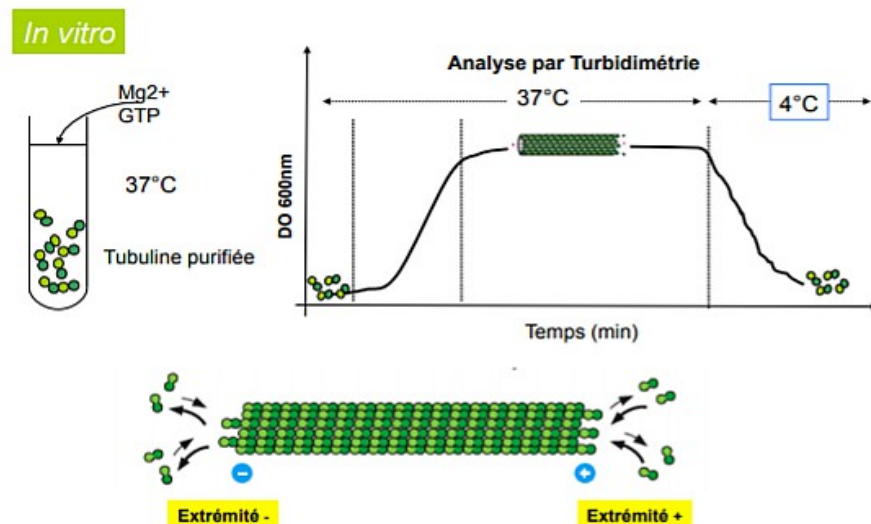
## II.C.2. Polymérisation des Microtubules

In vitro :

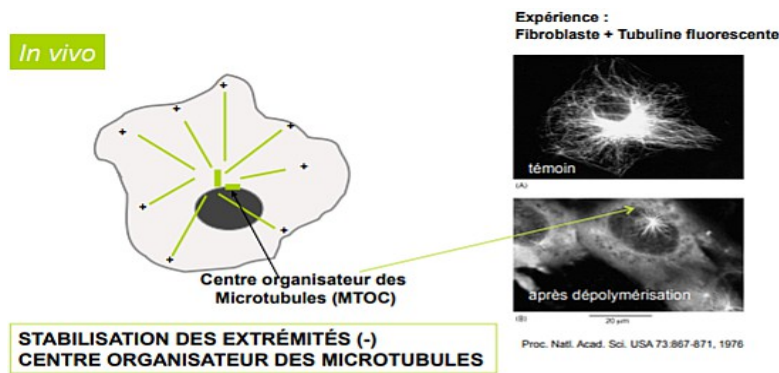
Tubuline purifiée + Mg + GTP à 37°C

Analyse de l'assemblage par turbidimétrie → mesure du trouble par formation des micro tubules par mesure de la DO

- (1) phase d'initiation de la polymérisation = nucléation (Aug DO)
- (2) Assemblage
- (3) Équilibre



Sensibles à la température : Si on passe à +4°C → désassemblage des SU : dépolymérisation



### In vivo :

Centre de nucléation au nv du MTOC  
(Centre Organisateur des MicroTubules)  
→ Stabilise l'extrémité (-)

C'est en fait un centrosome à 2 centrioles  
entouré de matériel péri-centriolaire de  
nature protéique et renferme des petits  
anneaux de nucléation : les Gamma-TuRc  
(Gamma Tubuling Ring Complex) →  
initient la nucléation.

### Composition Gamma-TuRc :

- Tubuline  $\alpha$
- Tubuline  $\beta$
- Tubuline  $\gamma$  Gamma, extrémité (-) : fixe + initie la polymérisation

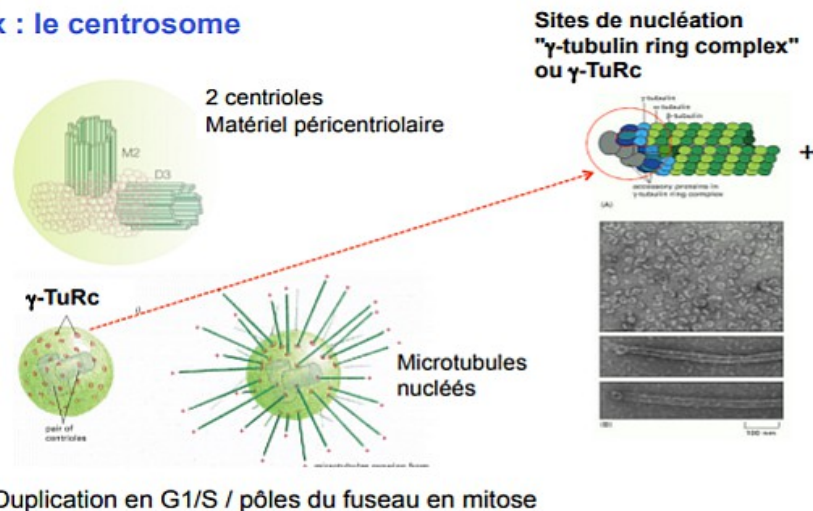
Mise en évidence du centre de nucléation :

- (1) on place les cellules à 4°C → dépolymérisation des microtubules
- (2) on remet les cellules à 37°C → microtubules re-polymérisent à partir de ce centrosome

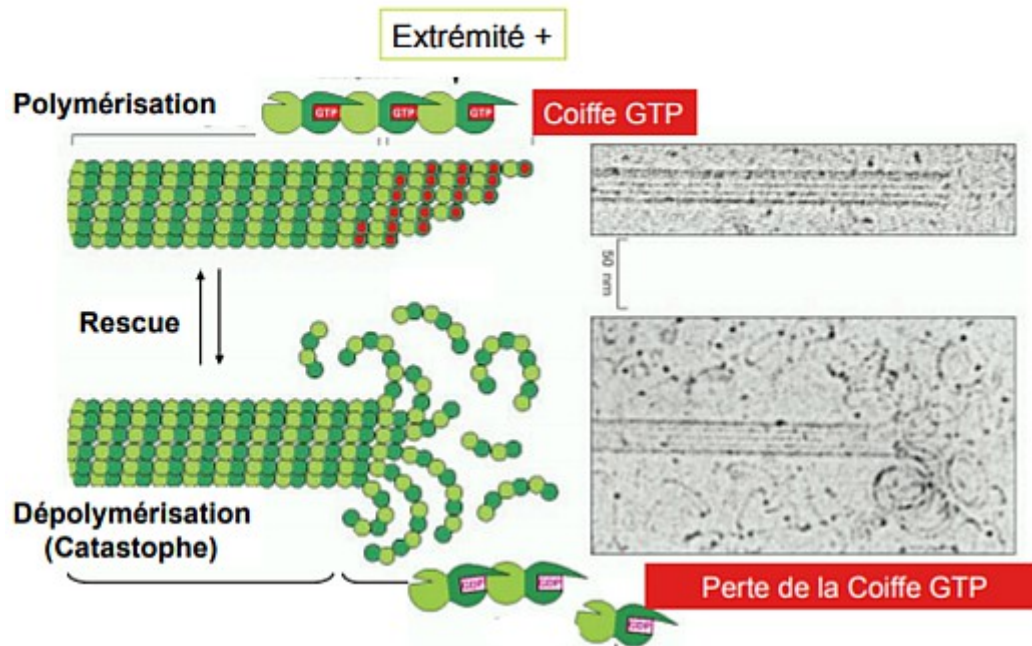
En mitose, le centriole est dupliqué pour formé les pôles du fuseau : les centrosomes se doublent en phase G1.

A la fin de la mitose chaque cellule récupère un centriole.

### **Ex : le centrosome**



### II.C.3. Instabilité dynamique des micro-tubules in vivo



Dans la cellule, les microtubules vont soit :

- s'allonger extrémité (+): coiffe GTP qui favorise l'allongement du micro-tubule
- se dépolymériser extrémité (-)

Il peut y avoir un signal qui induit la perte de la coiffe GTP (hydrolyse de tout le GTP): dépolymérisation brutale. Suite à cela, la dépolymérisation peut s'arrêter rapidement : Rescue, et continuer à polymériser

Cela permet une dynamique de mouvement au nv des organites.

### II.C.4. Régulation de la dynamique des microtubules

Il va y avoir une variation de la dynamique des microtubules avec microtubules :

- longs et stables en interphase
- dynamiques +++ en mitose

Dépend de :

- la concentration en tubuline : qté de tubuline libre et concentration critique
- régulation de la synthèse de tubuline

La stabilité des microtubules dépend de :

- Modif post-trad des tubulines
- Association avec les protéines associées aux Microtubules



Drogues des Microtubules = « Poisons du fuseau » ciblent les microtubules et le fuseau mitotique

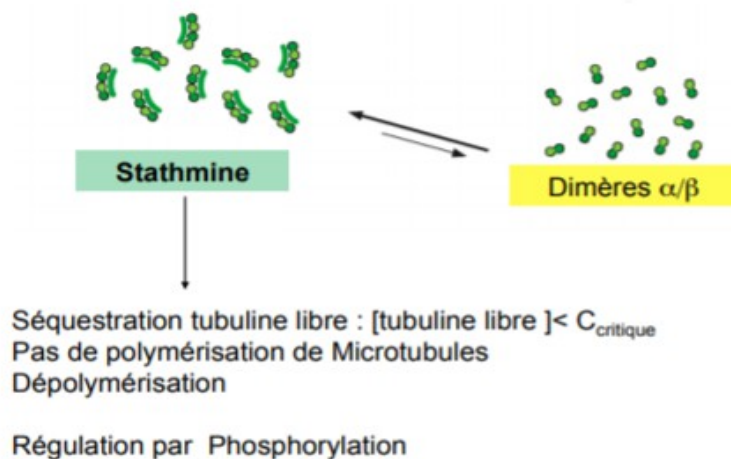
- **Colchicine** (Goutte) , **Vinblastine** (Anti KC) : inhibiteur de la polymérisation
- **Taxol** (anti KC): Stabilisent les Microtubules

### II.C.5. Protéines associées

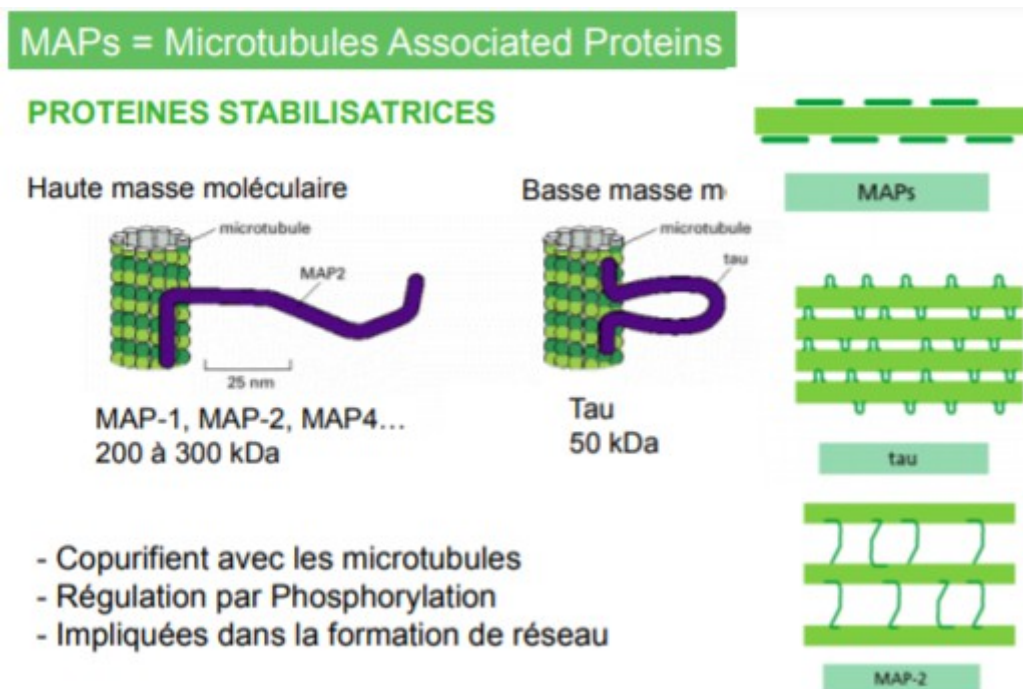
#### Avec les hétérodimères de tubuline libre :

- **Stathmine** : séquestre la tubuline libre → empêche la polymérisation de la tubuline (fait diminuer la concentration critique) → dépolymérisation

Régulée par Phosphorylation (modif post-trad)



#### Associées aux MicroTubules MAP :



2 types : Stabilisatrices ou Déstabilisatrices, Régulées par phosphorylation et impliquées dans la formation de réseaux

- Haute Masses moléculaires (200 – 300 KDa) :  
S'accrochent aux microtubules et interagissent avec :  
→ autre microtubules

→ autres protéines

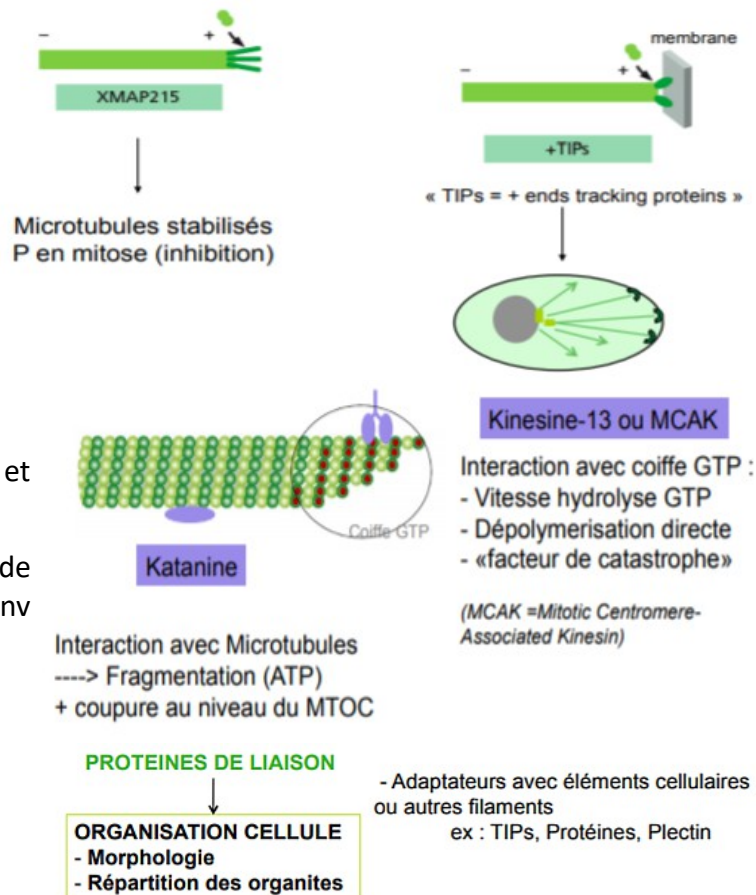
- Basse Masses Moléculaires (50KDa) :
- S'accrochent aux microtubules
- Co-purifiées avec la tubuline

### Protéines stabilisatrices :

- Haute MM ex : MAP1, MAP2, MAP4
- Basse MM ex : Tau
- Protéines qui se lient à l'Extrémité (+)

### Protéines déstabilisantes : entraînent une dépolymérisation

- Katanine : interagit avec le microtubule et provoque sa fragmentation (Katana)
- MCAK ou Kinésine 13 = « facteur de catastrophe » : interagit à l'extrémité (+) au nv de la coiffe GTP → dépolymérisation rapide



### Protéines de liaison :

Ex : Plectine

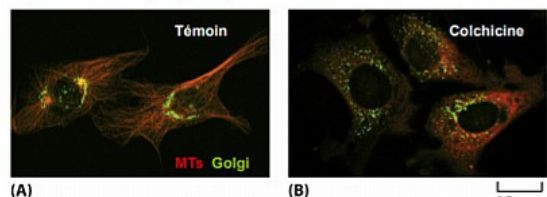
Font le lien entre microtubules et organites

Mise en évidence :

- Microtubules en rouge
- App. De Golgi en vert
- On traite à la Colchicine → dépolymérise les microtubules

Le Golgi s'éparpille dans la cellule et n'a plus une bonne organisation au nv du noyau → Le réseau microtubulaire participe à l'organisation du Golgi

Expérience : Marquage Golgi et Microtubules avec et sans Colchicine



### Protéines moteurs :

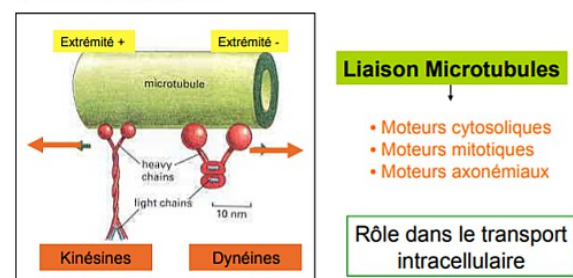
Se lient au microtubules et se déplacent sur les microtubules → transport intra cellulaire.

- Kinésines : vers l'extrémité (+)
- Dynéines : vers l'extrémité (-)

En mitose : séparation des 2 lots de chromosomes

Cils et flagelles : dans les axonèmes pour que le cil puisse battre

### **PROTEINES MOTEURS**



## II.C.6. Les microtubules dans la cellule

### En Interphase :

Réseau de microtubules qui part du centrosome vers la MP dans toute la cellule

### En Mitose :

Centrosome se dupliquent en Phase G1/S et forment les 2 pôles du fuseau qui vont permettre d'organiser la plaque métaphasique et de séparer les 2 lots de chromosomes.

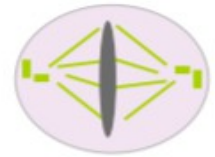
En fin de mitose : le réseau se transforme pour former le MidBody → pont de microtubules au niveau duquel l'anneau contractile d'Actine va se mettre en place pour la cytodierèse

Cellule en interphase



- Centrosomes
- Réseau cytoplasmique

Cellule en Mitose



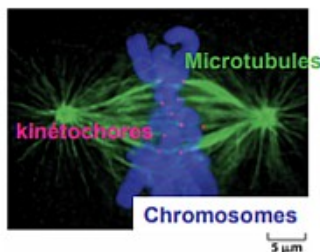
- Fuseau mitotique
- Pôles du fuseau
- « Midbody » ou microtubules interzonaux

+ Cas particuliers des cellules ciliées ou avec un flagelle

On les retrouve aussi dans les cils et les flagelles.

Ex : Cytosquelette tubulaire et mitose

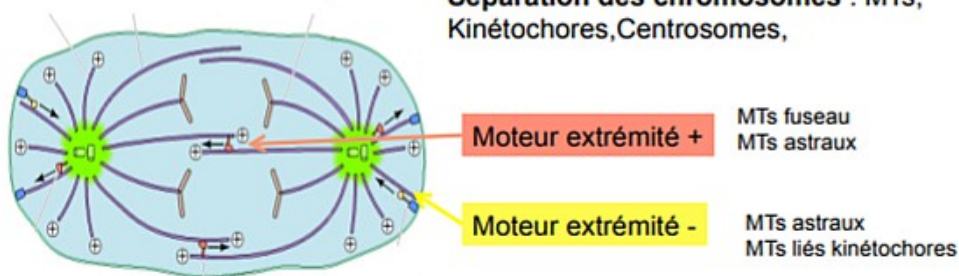
### Ex 1 : Cytosquelette microtubulaire et mitose



**Changement de dynamique des MTs :**  
Interphase longs et stables / Mitose courts et dynamiques

**Mise en place du fuseau :** centrosomes, et microtubules (astraux, du fuseau et liés aux kinétochores)

**Séparation des chromosomes :** MTs, Kinétochores, Centrosomes,



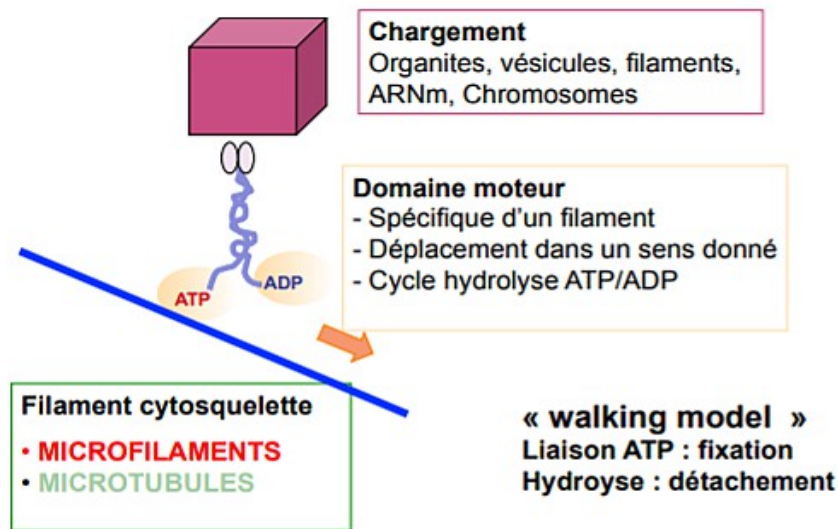
Du centrosome partent :

- des microtubules astraux : forment des asters
- des microtubules du fuseau : associés aux chromosomes au nv des kinétochores

2 types de moteurs interviennent : permet le glissement des microtubules et la séparation des chromosomes

- se déplacent vers l'extrémité (+) : Microtubules du fuseau + Microtubules astraux
- se déplacent vers l'extrémité (-) : Microtubules liés aux kinétochores + Microtubules astraux

## II.D. Protéines moteurs associées au cytosquelette



Les protéines moteurs sont impliquées dans le transport. Elles se fixent soit sur :

- Microfilaments d'Actine F : Myosines
- Microtubules : Kinésines (vers +), Dynéines (vers -)

1 domaine moteur ATPasique + chaînes lourdes variables + 1 domaine de chargement (chaînes légères)

2 domaines :

- Se fixent par un domaine moteur avec activité ATPasique

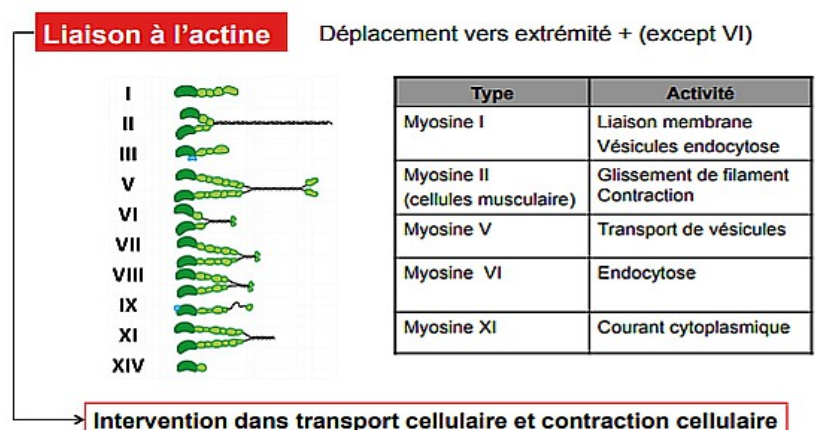
Spécifique d'un type de filament, se déplace dans un sens donné grâce à un cycle d'hydrolyse ATP/ADP → transforment énergie chimique en énergie mécanique:

- ATP : protéine moteur liée au filament
- ADP : pas liée

C'est le « Walking Model ».

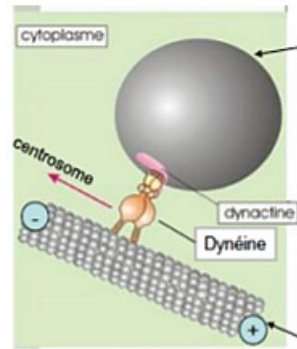
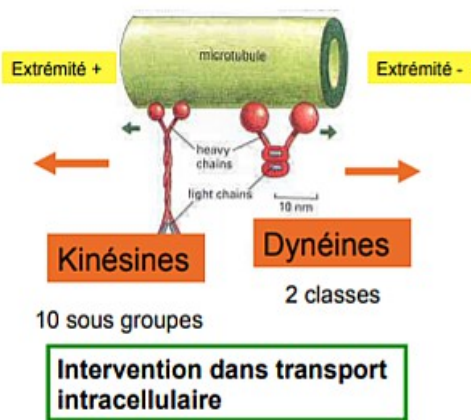
- Domaine de chargement : fixe des organites, des vésicules, des filaments, des ARNm, des chromosomes

(il faut juste retenir qu'il a plusieurs types de Myosine qui se déplacent en général vers l'extrémité (+) )

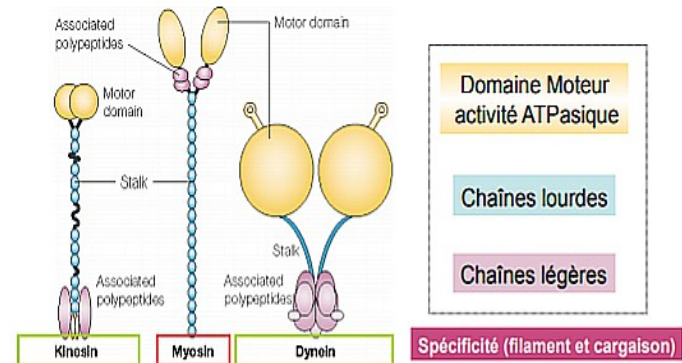




## Liaison Microtubules



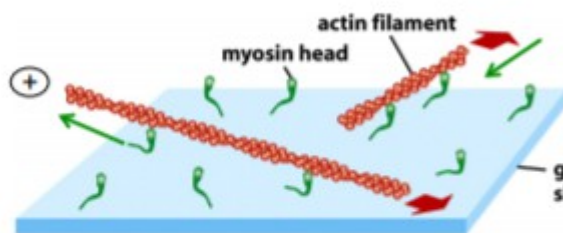
EX : Transport rétrograde (dyneine)



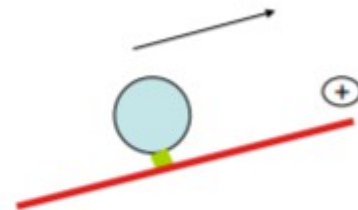
- Déplacement le long des filaments polarisés (microtubules, microfilaments)
- Déplacement de vésicules, organites, molécules ou complexes
- Organisation du cytosol

Etude des protéines motrices : Tests de mobilité in vitro

## Test de mobilité *in vitro*



Filament Actine fluorescente  
Myosine purifiée fixée sur la lamelle  
+ ATP



Filament Actine  
Billes recouvertes de Myosine  
+ ATP

**Analyse en microscopie vidéo :** (sens, pas réalisé et détermination de la vitesse)

2 techniques d'analyse en microscopie vidéo (mesure vitesse) :

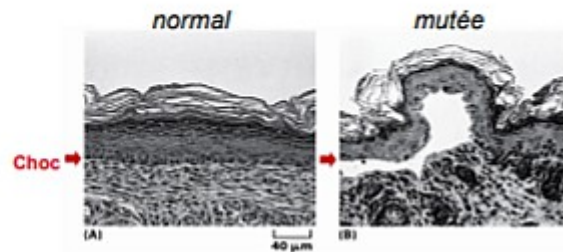
- Plaque de verre sur laquelle on fixe des protéines motrices + filaments fluorescents spécifiques à la protéine + ATP et on regarde son déplacement.  
Ex : Myosine fixe va faire avancer le filaments d'actine F : filament va aller vers l'extrémité (+)
- On purifie des filaments auxquels on ajoute des billes recouvertes de protéines motrices + ATP et on mesure le déplacement de la bille le long du filament.

### III. PATHOLOGIES ASSOCIÉES AU CYTOSQUELETTE



Ex1 : Pathologies associées aux **filaments intermédiaires** :  
Maladies de l'épiderme

Ex : mutation kératine  
(coupe épiderme souris  
transgénique)



Ex2 : Pathologie associée au **cytosquelette microtubulaire** :  
Maladie d'Alzheimer : Accumulation de protéines Tau hyperphosphorylée

Ex3 : Pathologie associée au **cytosquelette d'actine**  
Syndrome de Griscelli de type 1 : Mutation d'une myosine (défaut de transport des mélanosomes)

Ex : Maladie de l'épiderme liée aux FI

Kératine mutée ce qui ne permet pas la cohésion cellulaire

Ex : Maladie d'Alzheimer liée aux Microtubules

Protéine Tau (associée aux microtubules) hyperphosphorylée → agrégats → maladies neuro dégénératives

Ex : Sd de Griscelli lié aux filaments d'Actine F

Myosine (protéine moteur) mutée → mélanosomes (vésicules contenant la mélanine) se déplacent mal → défaut de pigmentation de la peau