

Rappel : une protéine dispose d'une extrémité NH noté N-ter et COOH noté C-ter.

Tous les moteurs moléculaires nécessitent de l'ATP pour fonctionner.

Méthode pour réaliser une étude de documents.

Objectif

Technique en précisant s'il s'agit d'une observation macro ou microscopique

Information/résultat

Interprétation

Hypothèse

Témoin ou référence standard contrôle

Perturbe

Attention il faut nuancer les résultats car il peut exister d'importantes différences entre les conditions expérimentales in vivo et in vitro.

Le cytosquelette assure le maintien de la forme de la cellule. Il joue un rôle majeur dans de nombreux mécanismes cellulaires :

- Mobilité cellulaire
- La division cellulaire
- Le transport intracellulaire
- Organisation de la cellule

Il est formé par trois réseaux (diamètre) :

Microtubule (24 nm)	Filament d'actine (7-9 nm)	Filament intermédiaire (10 nm)
---------------------	----------------------------	--------------------------------

Les microtubules

Les microtubules sont des tubes constitués de 13 filaments de polymères de dimères de tubuline.

Chaque hétérodimère est formé par deux sous unités instables :

Alpha	Béta
-------	------

Elles s'assemblent spontanément.

La tubuline

La tubuline a deux extrémités :

Une queue ou extrémité C-ter.	Molécule de GTP
-------------------------------	-----------------

L'extrémité C-ter est chargée négativement (glutamate). C'est généralement le lieu interaction avec les protéines régulatrices qui viennent supprimer des charges.

Il existe différentes versions de tubuline (isoformes) eux même possédant des variations (isotopes). Les isotopes se différencient par la constitution et la structure de leur extrémité C-ter.

Isoformes : alpha, bêta, gamma, etc.

Polymérisation

Deux dimères se lient en Alpha-béta par l'hydrolyse de GTP en GDP au niveau de l'extrémité Béta.

Propriété des microtubules

La dissymétrie du monomère se retrouve à l'échelle du microtubule. Elle confère au tout, une propriété structurale de polarité fonctionnelle. La polymérisation a lieu principalement au niveau de tubuline bêta (par opposition à l'extrémité alpha). Elle est appelée extrémité +.

Assemblage des protofilaments en microfilament

Généralement les microtubules sont formés de 13 protofilaments. Les interactions se font entre les tubulines du même type avec décalage dans l'espace ce qui confère un aspect en spirale.

Centrosome

Les microtubules se déploient à partir d'une zone localisée dans la cellule appelée centrosome. Il est formé de deux centroïdes positionnés perpendiculairement entourée d'un amas de protéines.

Centrosome centre organisateur des microtubules. Le centrosome se compose d'une épaisseur de tubuline gamma associée à des protéines de type GCPs. L'ensemble forme un complexe appelé gamma-TUSC. Au-dessus se trouve l'alternance des tubulines alpha et beta avec l'extrémité + dirigée vers l'extérieur de centrosome.

Rmq: la tubuline gamma est impliquée dans la biogénèse des microtubules.

Instabilité dynamique des microtubules.

La stabilité des microtubules dans le temps dépend :

De protéines régulatrices	De la concentration de tubulines
---------------------------	----------------------------------

Certaines protéines agissent sur la construction ou la déconstruction des réseaux de microtubules en modifiant la probabilité de polymérisation ou de dépolymérisation. Elles peuvent être classées en deux catégories en fonction de si elle augmente ou diminue l'instabilité des microtubules.

Rmq: Le rôle des protéines dépend des interactions avec d'autres protéines. Il peut changer au cours du temps.

Exemples de protéines régulatrices stabilisatrice :

- Protéines de type MAPS structurales ont une affinité qui diminue avec l'augmentation du nombre de phosphorylation.
- TIPS interagissent avec l'extrémité +.

Protéines déstabilisatrices ou promoteurs de catastrophes

Les promoteurs de catastrophes agissent de deux manières pour augmenter la probabilité de dépolymérisation en :

- Séquestrant la tubuline càd en diminuant la concentration de tubuline disponible au moins au niveau de l'extrémité du microtubule.
- Déstabilisant l'extrémité.

Quelques exemples de protéines de déstabilisation :

- Les stathmines s'associent aux dimères et bloquent la capacité d'interaction de ces derniers. L'affinité est régulée par leur degré de phosphorylation (corrélation positive).
- Katanine provoque le désassemblage par fragmentation du microtubule.

Les substances toxiques

Certaines substances toxiques qui agissent sur les microtubules pour causer la mort des cellules soit en :

- Induisant une dépolymérisation ou une polymérisation.
- Bloquant le microtubule dans sa conformation càd empêchant toutes activités de polymérisation ou de dépolymérisation.

Le rôle des microtubules

Quelques grandes fonctions de microtubules :

- le battement ciliaire et flagellaire
- Implication dans les transports intracellulaires et le maintien de la compartimentation intracellulaire.
- Dans la division cellulaire (mise en place du fuseau mitotique, séparation des chromosomes...).

Les moteurs moléculaires

Il existe deux types de moteurs moléculaires associés aux microtubules ou MAPs motrice :

les dynéines qui se déplacent vers l'extrémité -.

Les kinésines qui se déplacent vers l'extrémité +.

Par exemple, les neurotransmetteurs relâchés au niveau des synapses sont synthétisés dans le soma du neurone. Ils sont acheminés par un transport vésiculaire qui se déplace le long des microtubules de l'extrémité - vers celle +. Les vésicules sont équipées de kinésines et dynéines. Leur déplacement se fait par l'activation de l'une des deux protéines en fonction des protéines structurales associées aux microtubules qui sont-elles-même régulées par phosphorylation.

Les kinésines

Les kinésines sont formées de chaînes lo

La marche des kinésines

Méthode : étudier les dynéines, présentation d'une méthode pour purifier les dynéines

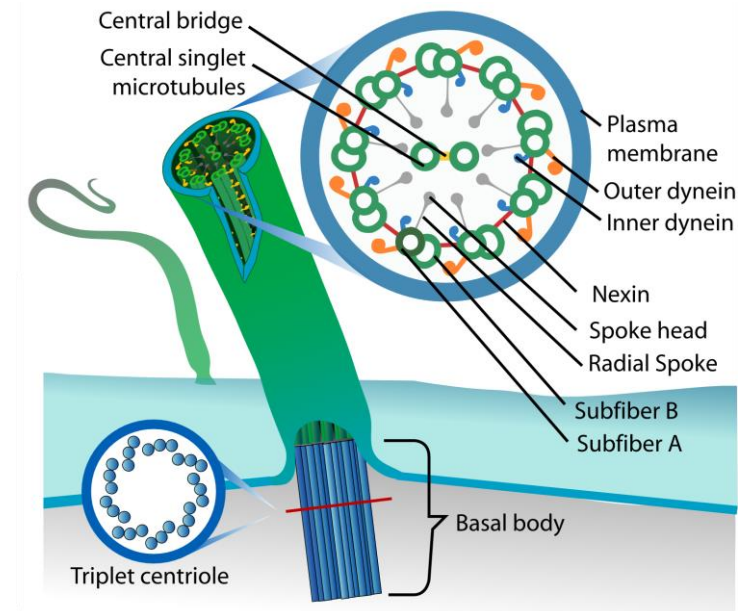
Les dynéines sont associées aux microtubules. Pour les étudier, on a besoin de pouvoir les isoler.

1. Dépolarisation des microtubules. Les microtubules sont décomposés en dimère d'actines.
2. Ajout d'ATP. Cela conduit à l'activation des dynéines qui arrivent rapidement en bout de chaîne et se détachent fragments d'actines

Fonctionnement des cils et des flagelles

La cils permettent un mouvement sur un plan tandis que la principale différence est la longueur. Le flagelle est beaucoup plus long. Le mouvement

Rmq : il existe des différences fondamentales entre les flagelles eucaryotes et procaryotes.



Les microfilaments

Les filaments d'actine ou microfilaments sont un polymère nommé actine F formé de monomère d'actine G.

L'actine G possède en son centre :

Un ATP ou un ADP (par hydrolyse ou remplacement)

Un cation bivalent Ca^{2+} ou Mg^{2+}

L'hydrolyse de l'ATP n'est pas spontanée. Elle nécessite l'action d'une enzyme.

L'actine G possède plusieurs isoformes. Il en existe 6 chez les mammifères.

Protéine associée à l'actine (Actin Related Proteins noté ARP) protéines dont la chaîne peptidique ressemble fortement à celle de l'actine G.

Polymérisation de G en F dépend de :

La concentration d'actine	Du pH	De la température	Mg ²⁺	Force ionique élevée.
---------------------------	-------	-------------------	------------------	-----------------------

Propriété

La polymérisation d'actines G en F est nommé mécanisme du tapis roulant. Les actines G s'alignent légèrement décaler (non rectiligne).

Deux filaments d'actine s'assemblent pour former une hélice. Son demi pas c'est le nombre de monomères nécessaire pour le croisement des deux brins est de 13 monomères.

Propriétés structurales

La polarité de l'actine G se retrouve dans la structure fonctionnelle de l'actine avec deux extrémités :

Barbue (-)	Pointue (+)
------------	-------------

Rmq : La polymérisation a lieu plus rapidement à l'extrémité +.

La polarité structurale est définie par l'interaction avec les têtes de myosines. Elles sont orientées vers l'extrémité barbue.

Les protéines de polymérisation

Les protéines qui interagissent avec l'actine

Les protéines qui interagissent avec l'actine notées ABP (Actins Binding Protéins)

Quelques exemples d'ABP :

- Profilines activateurs de polymérisation.
- Hymosine Beta bloque les extrémités
- Cofiline inhibine la polymérisation en hydrolysant l'ATP de l'actine G.
- Gelsoline fragmente les polymérimères.
- Des protéines de coiffe qui protège et stabilise l'extrémité (coiffe).

Cap 2+ -tropospd

Notamment pour les cellules musculaires.

Nucléation ou biogénèse des microfilaments

La nucléation

- Complexe Arp 2/3 provoque une ramification ou coiffe d'activité - pour faire une extrémité plus.
- Formine recrutement de profiline pour polymériser l'actine.

Les myosines

Les myosines sont les moteurs moléculaires des filaments d'actines. Elles sont composées de trois parties :

Tête	Cou	Queue
------	-----	-------

Les myosines de type II se déplace vers l'extrémité plus.

Certaines myosine sont capables d'interagir avec les protéines membranaires. Par exemple, invagination cellulaire, microvillosité, myosine IV endocytose.

Il existe 20 classes différentes.

Protéines organisatrices de l'actine F

L'actine F est organisée par des protéines qui confèrent à l'ensemble une structure qui peut être de type :

- Les uns le long des autres :
 - Serré parallèle lorsqu'ils sont orientés dans le même sens.
 - Faisceau contractiles lorsqu'ils sont orientés polarité inverse
- Réseau, ou les finalement sont enchevêtrés :
 - Réseau lâche maille avec des intersections. Les filaments se croisent.
 - Réseau branchés ramification. Les filaments sont soudés les uns aux autres.

La structure est assurée par des protéines partenaires qui peuvent permettre soit :

- Le pontage. Elles lient les actines entre elles.
- D'ancrage (exemple : famille FERM). Elles permettent aux filaments d'actines d'être accrochés à la membrane plasmique.

Exemple du rôle des fonctions des microfilaments : la migration cellulaire

Les étapes sont :

1. Produire des extensions membranaires. Filopode dans l'organisme parallèle.
2. Apparition de nouvelles extensions.
3. Disparition des dernières extensions

Filaments intermédiaires

Le réseau le moins dynamique et le plus résistant dans la cellule.

Chaque cellule possède deux types de filaments intermédiaires :

- Réseau nucléaire des lamines
- Réseau cytoplasmique

La composition des filaments intermédiaire dépend de leur position dans la cellule et du type de cellule.

De très nombreuses protéines différentes. Structure commune avec une organisation en hélice alpha (comme un hélice d'ADN mais formé par un seul brin).

Dimère associé en antiparallèle s'associe par huit pour former une unité de filament.

L'extrémité N-term stabilisation et formation.

Photobleaching émission de lumière puissante qui sépare les liaisons covalentes et

C-term plutôt réarrangement des

Propriétés structurale

Pas de polarité. Autoassemblage

Les parties communes permettent l'assemblage entre différents types de protéines.

La régulation des filaments intermédiaires

La régulation des filaments intermédiaires se fait par des modifications post traductionnelles de type acétylation, ubiquitination et phosphorylation, cette dernière induisant une dépolymérisation.

Protéines associées aux filaments intermédiaires

Plakines organisent les jonctions entre les filaments intermédiaires ou avec les microtubules et les microfilaments.

Filaggrines agrége les filaments intermédiaires de kératine impliqué dans la protection de la peau contre les UV et son imperméabilisation.

Matrice extracellulaire

Matrice macromolécules extracellulaires sécrétés par les cellules organisés en réseau tridimensionnel.

La matrice extracellulaire permet :

La matrice extracellulaire est composée de :

- Fibres notamment de collagènes (40%), élastines.
- Glycoprotéines : fibronectine, laminine (lamelle basale)

- Polysaccharides : glycosaminoglycanes, protéoglycanes
- Eau, ions, aa.

Rmq : une partie des substances est produite par les cellules puis relâchée dans le MEC.

La matrice extracellulaire (MEC) est impliquée dans :

- La nutrition cellulaire et le stockage.
- Dans la polarité des cellules.

Elle possède des propriétés :

- Soutient et assiste
- Pour permettre aux cellules de s'y déplacer (par exemple, aux cellules immunitaires pour rejoindre le lieu d'une infection).

Les cellules principales qui synthétisent les composants de la MEC sont :

- Les fibroblastes (cellules fusiforme).
- Les ostéoblastes dans l'os.
- Les chondroblastes dans le cartilage.

Interaction des cellules avec la MEC

Les cellules interagissent avec la MEC par l'intermédiaire de protéines transmembranaires. Toutes les cellules possèdent ces récepteurs.

Par exemple, les intégrines

La lame de basale

De nombreux tissus sont séparés de la MEC par une lame de basale, un assemblage de protéines et glycoprotéines extracellulaires fabriqué par les cellules épithéliales et celles du tissu conjonctif.

La membrane basale :

lame basale	lame réticulaire d'origine conjonctive.
-------------	---

Deux familles d'enzymes participent au remodelage de la MEC :

- MMP (métalloprotéases matricielles). Elles sont chargées de dégrader les composants de la matrice extracellulaire et interviennent dans de nombreux processus physiologiques : cicatrisation, angiogenèse, embryogenèse...
- ADAM (A disintegrin and metalloprotéinase).
 - Activité de protéase. Elles peuvent par exemple libérer des protéines accrochées sur la membrane plasmique coté extracellulaire.
 - Régulation des intégrines. Elles sont capables d'interagir avec les intégrines

Protéase (ou peptidase) protéine qui coupe des liaisons peptidiques.

Angiogenèse processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins

Adhésion cellulaire et milieu extracellulaire

Composition de la MEC

Le collagène

Le collagène constitue 25% des protéines total et jusqu'à 80% des protéines présentes dans les tissus conjonctifs. Il assure la cohésion entre les tissus et les organes en fournissant une résistance mécanique à l'étirement.

Chaque fibrille est formé de trois chaînes enroulées en hélice.

Le collagène peut s'organiser en différente structure qui lui confère une fonction particulière :

- Résistance à l'étirement fibres à striation périodique présente dans les os, tendons, dentine, peau.
- Support
- Liaison entre les molécules
- Liaison à la cellule

- En réseau support (lame basale)
- fibres à striation
- Associés aux fibrilles
- Liaisons entre molécules
- Jonction derme-épiderme liaison à la cellule Transmembranaire Hémidesmosomes
- derme-épiderme

Plusieurs fibrilles interagissent pour former des fibres de collagène. Elles sont associées :

- En longueur (les unes à la suite des autres)
- En largeur (épaisseur ou diamètre).

L'association décalée des fibrilles donnent un aspect strié.

Les élastines

Les fibres élastiques sont particulièrement présentes dans la MEC des organes qui varient de volume (comme les poumons, les artères). Elles sont synthétisées par les fibroblastes ou les cellules musculaires.

Les fibres élastiques sont organisées en réseau. L'élastine est associée en fibrille avec des glycoprotéines (fibrilline). Les fibrilles sont associées grâce à des glycoprotéines de type MAGP pour former des fibres.

Glycoprotéine

Elles assurent :

- les interactions entre les constituants de la MEC
- adhérence entre les cellules et la MEC.

Communication et adhésion cellulaires

Les cellules regroupées en tissu adhèrent les unes aux autres. Communiquent

Chez les animaux il existe trois types de jonctions intercellulaires :

BMC

Jonctions serrées	Desmosomes	Jonctions ouvertes
-------------------	------------	--------------------

Jonctions serrées

Les jonctions serrées sont formées d'un réseau de protéines qui ceinture la cellule.

Par exemple dans l'intestin les jonctions serrées obligent le contenu alimentaire à passer par les entérocytes pour entrer dans l'organisme et empêche les sucs digestifs d'abimer les

Desmosomes

Desmosomes (ou jonction d'ancrage) retenir collée deux cellules. Deux disques de chaque dans chaque cytosol traverser par des filaments intermédiaire. Surface pour maintenir les deux cellules ensemble.

Les déchirures musculaires sont liées à une rupture des desmosomes.

Jonctions ouvertes

Jonction ouverte (ou jonction communicante) composé de protéines membranaires qui forment un canal. Elles permettent le passage de petites molécules comme les ions, aa, glucides. Elles sont impliquées dans les voies de communication cellulaire.

Les protéines

Transloquer déplacer d'un endroit à un endroit différent.

Les protéines peuvent être classées en trois types :

- Fibreuse
- Globuleuse
- Membranaire

La chaîne peptidique est suffisante pour donner la formation active aux protéines. Dans certains cas, la conformation est adoptée à la suite du clivage d'une partie de la séquence de aa comme pour l'insuline.

Pour faciliter et augmenter la mise en conformation des protéines, des protéines de repliement comme les protéines chaperonnes.

Heat shock proteins (Hsp) type de protéines chaperonne produites en condition de stress cellulaire par exemple thermique.

Modification post traduction

Les modifications traductionnel des protéines permettent :

- réguler l'activité des protéines.
- Les "étiqueter" afin qu'elles soient reconnues par d'autres molécules ou par des systèmes de dégradation.
- Les ancrer dans une membrane.
- Les intégrer à une cascade de signalisation.
- Les "adresser" à un compartiment cellulaire.
- Définir une identité immunologique (groupes sanguins).
- Conférer de nouvelles propriétés.

L'adressage des protéines

Les protéines possèdent des facteurs d'adressage càd des séquences peptique qui contiennent les informations nécessaire à leur adressage à leur compartiments de destination.

Les protéines sont adressées au compartiment de destination grâce à une séquence de leur chaine peptidique appelé séquence signale qui se situe généralement en N-term.

Destination	Séquence signale	
Réticulum endoplasmique	SRF	
Mitochondrie	MSF	
Noyau	NLS	
	peroxysome	

L'adressage au noyau

Pour qu'une protéine puisse intégrer le noyau, il faut qu'elle possède une séquence signal appelée NLS (Nuclear localization signal).

1. Une protéines appelée importine vient se fixer pour sur la protéine à destination du noyau.
2. Le complexe est transloqué par le pore nucléaire appelé nucléoporines.

Adressage aux mitochondries

Les membranes des mitochondries sont imperméables. Pour

Membrane externe et interne 2 systèmes de transport

La chaine de polypeptides est déroulée. Elle est maintenue dans cette conformation par des protéines chaperonnes. Avec motif terminal.

Membrane interne TIM (In)	Membrane externe TOM (Out)
---------------------------	----------------------------

Adressage au réticulum endoplasmique

L'adressage des protéines au RE est appelé voie de sécrétion. La translocation peut se faire :

Post traductionnelle	Co traductionnelle (en même temps que la synthèse)
----------------------	--

Rmq : la translocation co-traductionnelle est présente essentiellement chez les eucaryotes complexes.

L'entrée se faire par un complexe protéique appelé sec 61 ou translocon. Il est inséré dans la membrane du RE et il possède des plusieurs sites pouvant servir à :

- Cliver la séquence signale. Une fois que la chaine peptidique a pénétrée dans la lumière du RE, la séquence signale est clivée.
- Réaliser une modification post traductionnel.

Le translocon est toujours obstrué pour permettre le maintien de concentrations différentes de petites molécules entre le cytosol et le lumen du RE par exemple, de proton ou de Ca^{2+} . Il l'est soit par :

- Par le ribosome lors de la translocation.
- Une protéine BIP lorsque par défaut.

Des modifications post traductionnelles que peut subir la chaîne peptidique au niveau du translocon sont notamment :

- Ponts disulfure.
- L'ajout d'un polysaccharide. Elle a lieu lors de la présence d'une séquence particulière dans la chaîne peptidique.

L'ajout d'un motif de N-glycosylation permet :

- De sites de reconnaissance par des protéines qui aideront la séquence peptidique à acquérir sa conformation.
- Ajouter une information d'adressage.
- De protéger notamment contre les protéolyses.
- D'adhésion cellulaire.

Le sucre subit ensuite un processus de maturation 2 grands types :

Oligosaccharides	Complexes qui sont riches en mannose et sont adressés aux lysosomes.
------------------	--

Les protéines du RE sont :

Transportées vers l'appareil de Golgi	Résidentes du RE si elles possèdent la séquence KDER.
---------------------------------------	---

Exocytose système protéines type clé-serrure.