

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

Pertubre

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 a 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 d'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.

### Polimérisation

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 centrides 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 c-à-d 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 régulé par leur degré de phosphorylation (corrélation positive).
- Katanine provoque le désassemblage par fragmentation du microtubule.

## **Les substances toxiques**

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

- Induisant une dépolimérisation ou une polymérisation.
- Bloquant le microtubule dans sa conformation c-à-d 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 kynésines 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

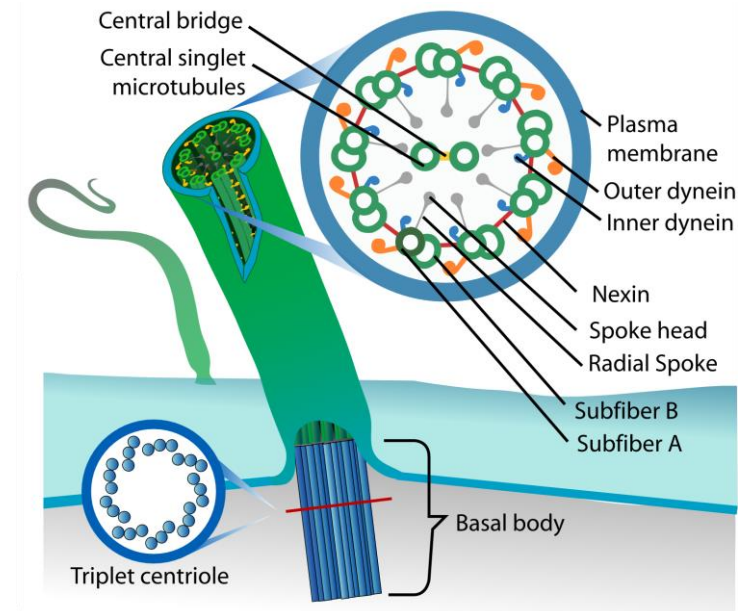
Les dynéines sont associées aux microtubules. Pour les étudier, on a besoin de pouvoir les isoler.

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'actines

Les filaments d'actines 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  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$

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 <sup>2+</sup>	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'assemble 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 inhibite la polymérisation en hydrolysant l'ATP de l'actine G.
- Gelsoline fragmente les polymérimères.
- Des protéines de coiffe qui protège et stabilie l'extrémité (coiffe).

Cap 2+ -troposspd

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 polymérisé 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 un le long des autres :
  - Serré parallèle lorsque ils sont orientés dans le même sens.
  - Faisceau contractiles lorsqu'ils sont orientés polarité inverse
- Réseau, ou les finalement sont enchevêtrés :
  - Réseau lâches 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. Auto assemblage

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.

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

---

### **Matrice extracellulaire**

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 sont produites par les cellules puis relâchées 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 fusiformes)
- Les ostéoblastes dans l'os
- Les chondroblastes dans le cartilage

### Intéraction 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 metalloproteinase).
  - 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 totales 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 formée de trois chaînes enroulées en hélice.

Le collagène peut s'organiser en différentes structures qui lui confèrent 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 Trans-membranaire Hémi-desmosomes
- 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 présent 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 associés 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 :

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 empêchent les sucs digestifs d'abîmer les

### **Desmosomes**

Desmosomes (ou jonction d'ancrage) relient deux cellules. Deux disques de chaque côté dans chaque cytosole traversés par des filaments intermédiaires. Suffisent pour maintenir les deux cellules ensemble.

Les déchirures musculaires sont liées à une rupture des desmosomes.

### **Jonctions ouvertes**

Jonction ouverte (ou jonction communicante) composée 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.

## **Adressage des protéines**

Les protéines peuvent être classées en trois types :

Fibreuse

Pour déplier une protéine, deux types de substances :

- Des agents réducteurs qui suppriment les ponts disulfures
- Dénaturants chargés de supprimer les liaisons non covalentes.

La conformation des protéines est

Protéine adopte la confirmation active

Leur chaîne peptidique est suffisante

Par clivage (exemple : l'insuline)

Grâce à des protéines qui aident au repliement appelé protéines chaperonnes.

Les protéines chaperonnes ;

Générale

Spécifique

**Transloquer** déplacer d'un endroit à un endroit différent

Protéine chaperon

Heat shock proteins – Hsp

Les chaperonines

Adressage des protéines

facteurs d'adressage sont des séquences de la chaîne peptique qui contiennent les informations nécessaires à l'adressage des protéines.

Modification

Les modifications traductionnelles 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 au noyau**

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

NES

Nucléoporines

Importines

Adressage des protéines :

En cours de traduction vers RE ou les mitochondries ou non replié

Complètement traduite peroxysome, noyaux, cytosol.

Translocon protéine membranaire