

## CYTOSQUELETTE PARTIE 2 : LES MICROTUBULES

### I/ Microtubule

#### A) Généralité

J'ai repris le petit tableau récap de nos vieux qui est super bien fait !

Points communs avec les Microfilaments d'actine	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Polymère formé d'un assemblage de monomères (MF -&gt; Actine ; MT -&gt; Tubuline)</li><li>➤ La polymérisation nécessite de l'énergie (MF -&gt; ATP ; MT -&gt; GTP)</li><li>➤ Les filaments sont polarisés</li><li>➤ Fonction de transport vésiculaire</li></ul>
Caractéristiques propres aux Microtubules	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Ils émanent d'un point central dans la cellule : le centrosome</li><li>➤ Structure cylindrique (tube creux) de 24 nm de diamètre formé de sous-unité de tubuline</li></ul>

#### B) Tubuline et polymérisation

La tubuline, une protéine de **type globulaire** abondante dans les axones, peut présenter deux sous-unités :

➡ la tubuline  $\alpha$ , associée au **GTP**

➡ la tubuline  $\beta$ , associée soit à **GTP** soit à du **GDP**.

L'unité de base pour un MT, c'est un dimère  $\alpha \beta$  de tubuline : tubuline  $\alpha$ -GTP et tubuline  $\beta$ -GTP.

### Comment forme-t-on un MT ?

Les microtubules sont des structures hautement dynamiques ayant la capacité de croître par incorporation (polymérisation) de nouveaux hétérodimères de tubuline à leurs extrémités ou à l'inverse rétrécir par dissociation (dépolymérisation) desdits hétérodimères.

Ces processus de polymérisation/dépolymérisation de microtubules sont dépendants de l'hydrolyse d'une molécule de GTP sur les sous-unités tubuline. Accessoirement, ces MT, sont responsables de la composition du fuseau mitotique qui permet de séparer les chromosomes lors de la mitose.

Un protofilament = Association de plusieurs **hétérodimères  $\alpha \beta$**  de manière orientée avec un pôle positif et un pôle négatif.



**13 protofilaments** = microtubule polarisé



**Élongation** = polymérisation au pôle positif avec des dimères rentrants formés de GTP et une dépolymérisation au pôle négatif avec des dimères sortants formés de GDP.

Mémo : **DÉ**polymerisation = **GDP**

Pendant l'élongation, on a donc :



au pôle positif = la tubuline est associée au GTP

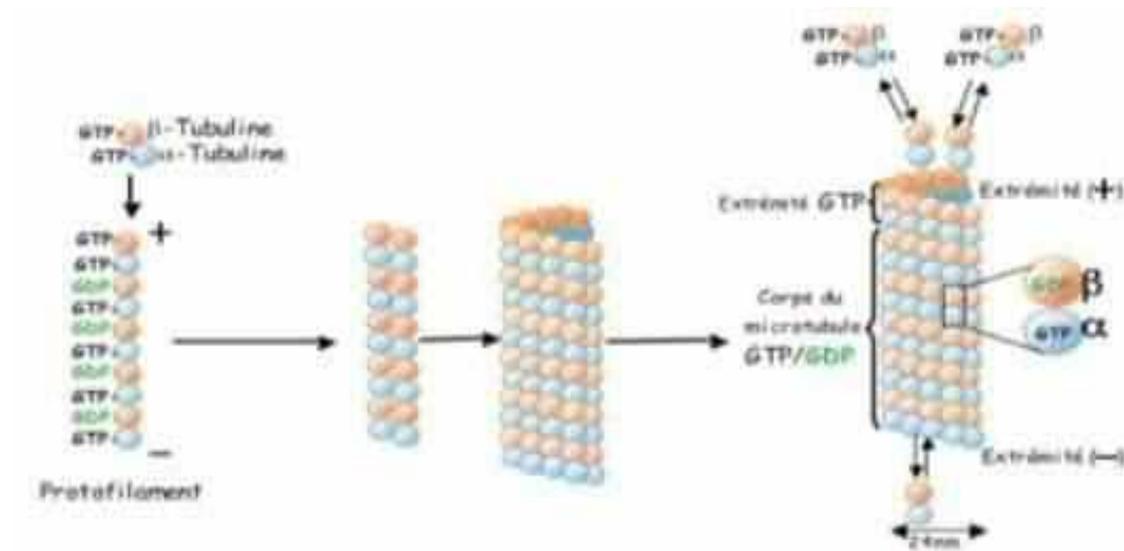


au pôle négatif = la tubuline associée au GDP.

La tubuline polymérise spontanément avec ajout de **Mg<sup>2+</sup>** et de **GTP**.

L'extrémité positive est distale, alors que l'extrémité négative est plutôt vers le COMT (ce centrosome est souvent proche du noyau, au niveau de l'appareil de Golgi).

**Le microtubule formé possède une structure cylindrique de 24nm de diamètre formé de sous-unité de tubuline.**



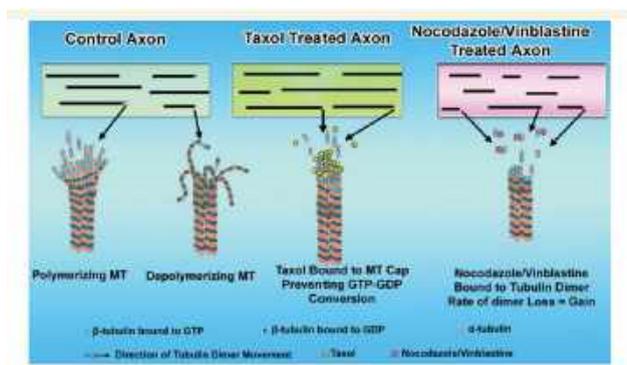
### Drogues et microtubules

On peut agir sur ces dimères par des **drogues** comme :

- ⇒ Le taxol = stabilise les microtubules (normalement dynamiques) et bloque la division cellulaire. Utilisé en chimiothérapie **LE TAXOL STOPPE TOUTE DEPOLYMERISATION.**
- ⇒ La colchicine et la vinblastine = empêche la polymérisation en se fixant sur des dimères libres. Utilisé en chimiothérapie. **INHIBITION DE LA POLYMERISATION**

En agissant sur les microtubules, ces drogues sont utilisés comme **anti-mitotiques majeurs** (pour lutter contre le cancer notamment).

Malheureusement, les chimiothérapies atteignent aussi les cellules saines, d'où les précautions à prendre en cas d'utilisation de ces produits toxiques.



### C) Instabilité des microtubules

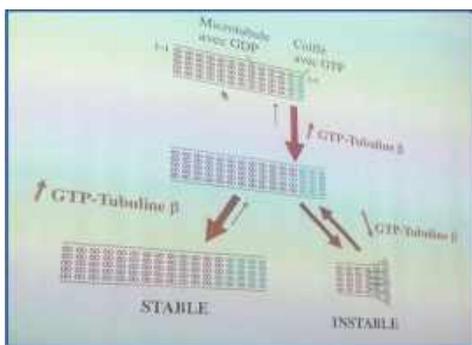
Le tutorat est gratuit. Toute reproduction ou vente est interdite.

Le GTP, par ses échanges, permet d'assurer la **stabilité des MT**.

Si on **diminue** la concentration intracellulaire en **GTP-tubuline  $\beta$** , on perdra la coiffe de GTP et donc toute stabilité, **le microtubule se dépolymérise**.

Si au contraire on **augmente** la concentration en **GTP-tubuline  $\beta$** , le nombre de tubulines à l'extrémité positive augmente et de facto, on observe une **stabilisation du MT**.

On parle **d'instabilité dynamique**.



## II/ Centrosome

**QU'EST CE QUE C'EST ?** Centre de formation unique et très dense.

**OÙ ?** Proche du noyau, proche de l'appareil de Golgi.

**QUELLE EST SA STRUCTURE ?** 2 centrioles orientées perpendiculairement composés chacun de 9 triplets de microtubules, entourés d'une matrice péri-centriolaire (MT).

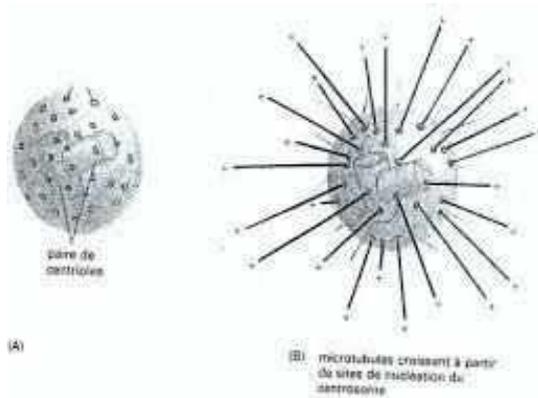
**Le centrosome n'est pas délimité par une membrane.**

### **COMMENT SE DÉROULE LA POLYMÉRISATION DES MTs ?**

Pôle + = distal (= polymérisation)

Pôle - = adjacent au centrosome (= dépolymérisation)

Polymérisation permise par la présence au niveau du centrosomes de tubulines  $\gamma$  qui interviennent dans la formation des MTs.



Il n'y a **qu'un centrosome par cellule** placé généralement près du noyau. Il sera dupliqué en phase S pour qu'il y ait 2 centrosomes lors de la mitose et ainsi un par cellule à la fin de la division.

### III/ Fonctions des microtubules

Les MT permettent le **transport intracellulaire** des organites (mitochondries, lysosomes...), des vésicules et également des granules pigmentaires.

Ils sont très présents au niveau des neurones afin de **véhiculer les neurotransmetteurs** dans les vésicules.

Au cours de la **mitose** ils ont un rôle très important que nous allons étudier tout de suite.

#### *A) Forme de la cellule*

Deux conformations sont possibles :

- Cellules **non polarisées** = microtubules instables
- Cellules **polarisées** = microtubules entrent en interaction avec les protéines de la coiffe et sont stabilisées.

#### *B) Transport axonal*

Le transport axonal permet le **transport des vésicules synaptiques** le long de l'axe de l'axone et est permis grâce à des **moteurs moléculaires**.

*Rappel : La vésicule se recharge en neurotransmetteurs au niveau du Golgi et elle déverse son contenu au niveau de la synapse.*

Deux sens de transport sont possibles :

*Le tutorat est gratuit. Toute reproduction ou vente est interdite.*

- Un sens **antérograde** : du pôle - vers le pôle +, vers l'extérieur de la cellule, (du CC vers la synapse) = vésicule pleine.
- Un sens **rétrograde** : du pôle + vers le pôle -, vers l'intérieur de la cellule = vésicule vide.

Ce transport ne peut pas avoir lieu sans des moteurs des MTs.

### Moteur des microtubules

Ces moteurs des MTs sont la **kinésine** et la **dynéine**.

*Structure de base commune :*

- **une tige** constituée de deux chaînes légères (possédant la spécificité d'action) car pouvant se lier à l'organite à déplacer
- **deux têtes globulaires** constituées de deux chaînes lourdes, fixées au MTs, hydrolysant l'ATP.

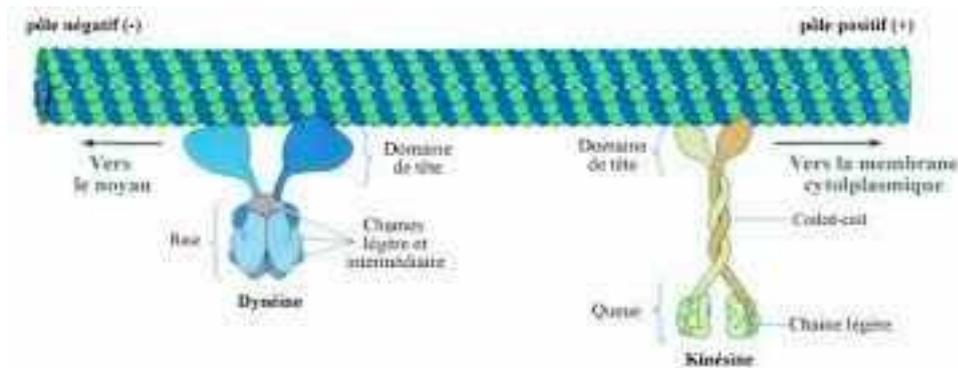
La tige possède la **spécificité d'action** et les **têtes globulaires** permettent grâce à l'hydrolyse de l'ATP, le déplacement le long des microtubules.

⇒ La kinésine assure le transport **antérograde** (vers le pôle +), donc vers la membrane plasmique. Elle permet ainsi l'**exocytose** des neurotransmetteurs dans la fente synaptique.

⇒ La dynéine assure le transport **rétrograde** (vers le pôle -) pour se recharger en neurotransmetteurs au niveau du Golgi. Elle part de la synapse vers le corps cellulaire.

**La kinésine et la dynéine se différencient donc par l'orientation du déplacement des vésicules.**

Mémo : Je sors chez le kiné et je rentre dîner.



### C) Mitose (phase M)

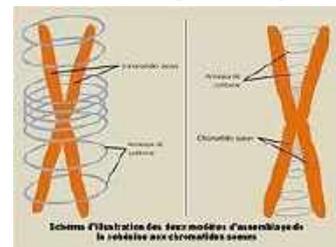
La mitose est une phase du cycle cellulaire permettant de séparer les chromosomes d'une cellule mère en deux cellules-filles.

La mitose se déroule en deux événements distincts :

- la **caryocinèse** => division du **noyau** selon 4 phases (prophase, métaphase, anaphase, télophase).
- la **cytocinèse** => division du **cytoplasme**

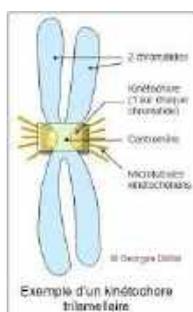
Rappelons qu'il s'est déjà déroulé la phase S de **réplication du matériel génétique** qui nous permet d'obtenir une cellule à chromosomes doubles.

*Rappel : en phase G1 nous avons donc deux chromosomes homologues, en phase S, deux chromosomes à chromatide sœur.*



Lors de la phase S, les chromatides sœurs vont être rassemblées par des protéines, appelées **cohésines** présentes au niveau du centromère et des bras.

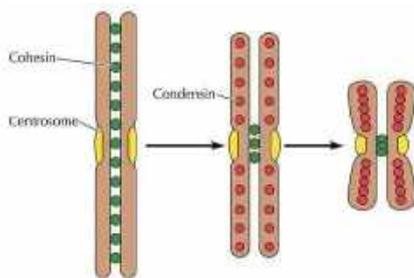
A la fin de la prométaphase, les cohésines sur les bras disparaissent et juste avant la séparation des chromatides sœurs, les cohésines du centromère disparaissent.



Pour faciliter ce voyage, les chromosomes vont se **condenser** très fortement. Cette forme condensée nous permet de voir des **zones de constriction** (comme s'ils étaient saucissonnés) appelés **kinétochore (structure particulière des centromères)**.

Ces derniers vont être un point d'accroche pour des microtubules favorisant ainsi une bonne répartition des chromosomes.

Ce phénomène de condensation est dû à des protéines, appelés des **condensines** qui vont faire des boucles au sein de la chromatide.



L'action cumulée des **condensines** et des **cohésines** permet de faciliter le transport des chromatides pendant la mitose.

### Étapes de la caryocinèse

Comme cette partie du cours n'est pas la plus facile à retenir et à comprendre, je me propose de vous donner une version sous forme texte et une autre sous forme de tableau. Je vous conseille cependant de bien lire la version texte.

#### *MPF (Maturation Promoting Factor) :*

MPF est une kinase permettant de contrôler l'entrée en mitose lors de la transition de G2 vers la mitose. MPF est composé de la cycline B et de CDC2, une kinase. La kinase CDC2 (ensuite rebaptisée CDK1) doit être associée à la cycline B pour être activée.



#### *La prophase*

Dans cette phase, les chromosomes ont chacun deux chromatides, sont condensés par la **condensine** et possèdent **deux centrosomes** (car déjà dupliqués en interphase).

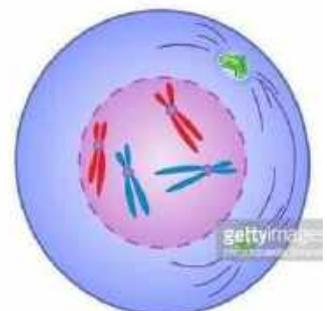
MPF (complexe cycline B/CDK1) régule l'entrée en prophase.

Chacun des deux centrosomes migre vers un pôle de la cellule. Leur migration va entraîner la formation d'aster.

#### **Un aster = microtubule rayonnant et centrosome**

Les microtubules polaires, émis par les centrosomes, ont pour rôle de repousser les deux asters aux deux pôles et quand cela est fait, les tensions vont s'équilibrer.

Ces microtubules polaires vont ainsi permettre de maintenir en place et de constituer le fuseau mitotique.



La fin de la prophase est repérable par le fait que les 2 centrosomes ont complètement fini leur migration aux deux pôles cellulaires.

**La membrane nucléaire est toujours présente à la fin de la prophase.**

### → La prométaphase

On assiste à la disparition de l'enveloppe nucléaire, ce qui laisse les chromosomes « libres » dans le cytoplasme. On est donc dans le cas d'une mitose « ouverte ».

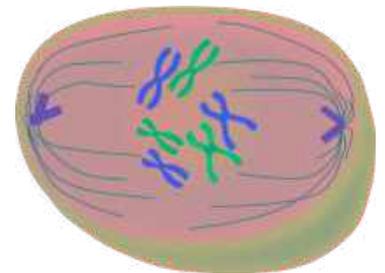
Les microtubules émis par les centrosomes vont venir capter les chromosomes au niveau des **kinétochores**. On appelle de facto ces microtubules, les **microtubules kinétochoriens** qui vont capturer les chromosomes pour les ramener au centre de la cellule.

*Rappel : il y a un kinétochore par chromatide, donc deux par chromosome double.*

Si un seul des kinétochores du chromosome est relié à un microtubule kinétochorien, on parlera d'attachement **unipolaire**.

Si au contraire les deux kinétochores des chromosomes sont capturés, on parlera d'attachement **bipolaire**.

L'alignement des chromosomes au centre de la cellule se fait sur la **plaque équatoriale** et permet ainsi de bien répartir les chromosomes dans les deux cellules filles.



Pour permettre cet alignement, les microtubules entrent en jeu.

Ils vont venir s'attacher sur les kinétochores puis sur les bras des chromosomes en deux temps ;

Ces deux mouvements opposés forment la poussée d'éjection polaire

⇒ les microtubules liés aux kinétochores vont se **dépolymériser** le plus souvent, ce qui va diminuer la longueur du microtubule et donc attirer le kinétochore vers l'un des pôles cellulaires (seulement si attachement unipolaire).

⇒ les microtubules liés aux bras vont en même temps se **polymériser** pour éloigner les bras vers le centre de la cellule.

Une tension va donc naître.

**Les microtubules associés aux kinétochores vont finalement se polymériser pour pousser le kinétochore vers le centre de la cellule.**

Cela permet de faire baisser cette tension.

Enfin, le chromosome grâce à ces mécanismes va atteindre la plaque équatoriale ce qui va annuler les forces de tension ; le chromosome est immobilisé, il n'y a plus d'éjection polaire.

C'est donc un système très dynamique.

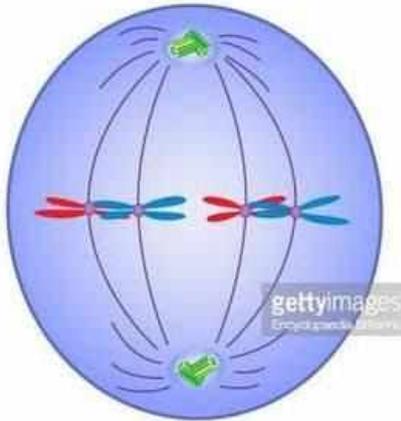
La dernière étape de la prométaphase est la destruction des cohésines présentes sur les bras. A contrario, **celles présentes sur le kinétochore persisteront.**

Quand le dernier chromosome a été capturé et ramené au centre, la prométaphase prend fin.



### La métaphase

La métaphase constitue une étape importante de checkpoint mitotique qui permet de vérifier l'attachement bipolaire des chromosomes et leur alignement sur la plaque équatoriale.



En effet, si un chromosome n'est pas attaché ou n'est pas aligné sur la plaque équatoriale, un signal inhibiteur sera envoyé pour que le passage vers l'anaphase ne puisse pas se faire.

Si la cellule ne reçoit pas ce signal inhibiteur, une protéase spécifique des cohésine appelée la **séparine**, viendra détruire la **cohésine** présente au niveau des kinétochores, permettant ainsi aux chromatides de migrer vers les pôles opposés.

Si au contraire la cellule reçoit ce signal inhibiteur, MAD-2 va inhiber APC (une protéine permettant l'entrée en anaphase), et une **sécurine** empêchera la séparine d'exercer son rôle.

Quand finalement le ou les chromosomes sont alignés et attachés, APC va s'associer à CDC-20, créant ainsi le complexe APC CDC-20 qui va permettre de détruire la sécurine. **La séparine peut alors effectuer sa mission.**



### L'anaphase

On constate **la séparation des kinétochores**. Les microtubules kinétochoriens se

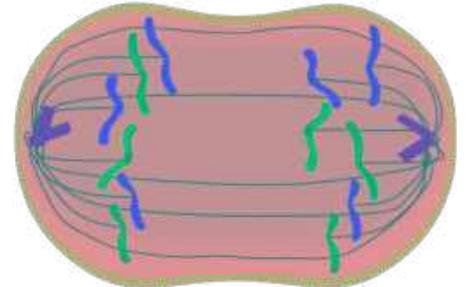
dépolymérisent.

*Rappel : la dépolymérisation se passe normalement au pôle -.*

**Ici, exceptionnellement, la dépolymérisation se situe au pôle + !**

Les chromatides sont tractés à chaque pôle de la cellule, comptabilisant ainsi deux lots de chromosomes à une chromatides à chaque pôle.

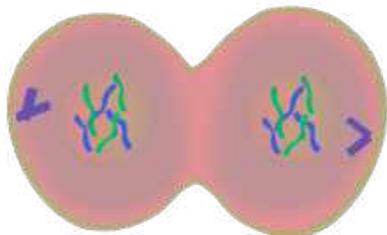
La dernière étape de l'anaphase est la formation d'un anneau contractile d'actine et de myosine 2 dans le plan de l'équateur.



→ *La télophase*

Ceci est la dernière étape de la caryocinèse.

L'anneau actine + myosine 2 se contracte lentement autour de la cellule comme un sphincter et permet l'apparition de deux cellules filles



Une seconde étape de checkpoint apparaît alors. On retrouve encore APC qui pendant la métaphase était lié au CDC-20 formant le complexe APC CDC-20. Cette fois-ci, APC quitte ce complexe pour en former un nouveau avec CDH1, appelé complexe APC CDH1.

Ce nouveau complexe va dégrader la cycline B, ce qui entraîne la chute de l'activité du MPF.

La deuxième étape de la mitose peut commencer avec la cytokinèse, séparation du cytoplasme en deux.

La membrane nucléaire qui avait disparu pendant la prométaphase se reconstitue et entre en phase G1.

Phase	Etapas
Prophase	<p>⇒ Régulée par complexe cycline B/CDK1(MPF).</p> <p>⇒ Chaque chromosome a deux chromatides, condensés par la condensine</p> <p>⇒ On retrouve deux centrosomes dupliqués en interphase</p> <p>⇒ Migration des centrosomes vers chacun des pôles de la cellule</p> <p>⇒ Formation d'aster = microtubule rayonnant et centrosome</p> <p>⇒ MTs rayonnants repoussent les asters aux deux pôles</p> <p>⇒ Fin = deux centrosomes ont fini leur migration aux deux pôles cellulaires</p> <p>⇒ Fuseau mitotique créé par les MTs rayonnants éloignant les deux asters</p> <p><b>Membrane nucléaire TOUJOURS PRÉSENTE</b></p>
Prométaphase	<p><b>Disparition de l'enveloppe nucléaire</b></p> <p>⇒ Microtubule prennent les chromosomes au niveau du kinétochore pour les mettre sur la plaque équatoriale</p> <p>⇒ Un microtubule par chromosome = attachement unipolaire</p> <p>⇒ Deux microtubules par chromosome = attachement bipolaire</p> <p>⇒ Dépolymérisation des microtubules présent sur le kinétochores</p> <p>⇒ Polymérisation des microtubules si présents sur bras</p> <p>⇒ Conséquence = formation de la poussée éjection polaire</p> <p>⇒ Puis polymérisation des microtubules liés aux kinétochores</p> <p>⇒ Alignement sur la plaque équatoriale</p> <p>⇒ Cohésines détruites sur les bras</p> <p style="text-align: right;">} Création d'une tension</p>
Métaphase	<p>⇒ Check point mitotique, vérification de l'attachement bipolaire et alignement sur plaque équatoriale</p> <p>⇒ Signal chimique inhibiteur si une des deux conditions n'est pas vérifiées.</p> <p>⇒ Si tout est aligné et attaché, la séparine détruit la cohésine des kinétochores.</p> <p>⇒ Sinon, MAD-2 va inhiber APC, et la sécurine bloque la séparine</p> <p>⇒ Une fois que tout est bon, APC s'associe à CDC20 créant le complexe APC CDC20 qui détruit la sécurine qui laisse la séparine faire son travail.</p>

Anaphase	<ul style="list-style-type: none"><li>⇒ Séparation des kinétochores</li><li>⇒ Dépolymérisation des microtubules au niveau des kinétochores au pôle +</li><li>⇒ <b>ATTENTION NORMALEMENT DÉPOLYMÉRISATION AU PÔLE - !</b></li><li>⇒ Éloignement vers les deux pôles</li><li>⇒ Formation d'anneau contractile actine et myosine 2</li></ul>
Télophase	<ul style="list-style-type: none"><li>⇒ Anneau contractile actine + myosine 2 se contracte comme un sphincter</li><li>⇒ Checkpoint mitotique avec le complexe APC CDH1.</li><li>⇒ Reconstruction de la membrane nucléaire</li><li>⇒ Décondensation des chromosomes en phase G1</li></ul>