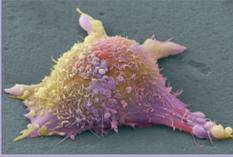
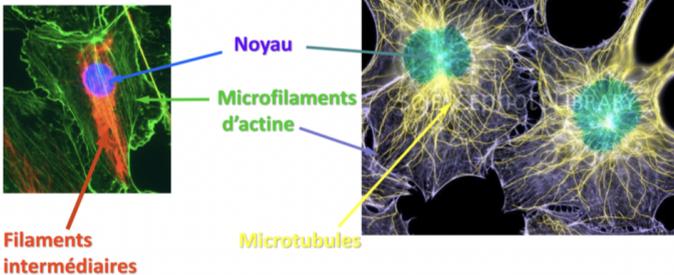


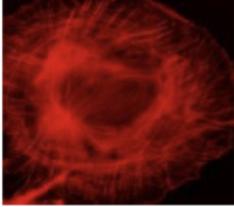
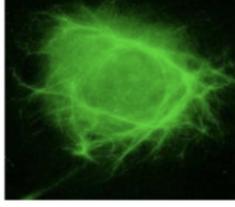


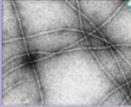
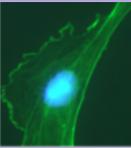
Biologie cellulaire 2

Chapitre 1 : Les microfilaments d'actine (Pr. LENORMAND)

Introduction							
Cellule 	Entité qui <ul style="list-style-type: none"> - Interagit avec son environnement : matrice extracellulaire, autres cellules - Reçoit des signaux - A la capacité de se déplacer et de se diviser <i>Image : fibroblaste qui adhère sur un support synthétique</i>						
Le cytosquelette							
Importance	<ul style="list-style-type: none"> • Corps humain sans squelette : objet flasque sans capacité à se déplacer → La cellule, comme nous, contient un squelette appelé cytosquelette (cf vidéo dia5) <ul style="list-style-type: none"> - "cyto", origine étymologique de "cellule" 						
Caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> • Réseau hautement dynamique, multifonctionnel • Principaux composants : protéines filamenteuses • Structure en 3D qui occupe la majorité de l'espace d'une cellule <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p><i>microscopie à fluorescence : cellules endothéliales adhérant à un support plastique</i></p> </div> </div>						
Rôles	<ul style="list-style-type: none"> • Lier les ≠ régions et composants de la cellule entre eux • Communication dans la cellule : rôle important au sein de la cellule sur un très grand nombre de fonctions cellulaires • Support structural à la cellule • Base pour les transports actifs • Système pour la génération et la transduction des forces mécaniques • Adhésion et migration : processus hautement dynamiques qui font appel à l'ensemble des composants du cytosquelette • Connection avec d'autres cellules <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="background-color: #e0e0e0; text-align: center; vertical-align: top;"> Adhésion </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Grâce à des structures telles que : <ul style="list-style-type: none"> - les filopodes - les lamellipodes - par l'intermédiaire des points focaux (permettent à la cellule de s'ancrer sur un support comme la MEC) </td> </tr> <tr> <td style="background-color: #e0e0e0; text-align: center; vertical-align: top;"> Migration </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Grâce à l'ancrage sur un support, des mécanismes moléculaires permettent à la cellule de se déplacer </td> </tr> <tr> <td style="background-color: #e0e0e0; text-align: center; vertical-align: top;"> Connexions intercellulaires </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Grâce aux cadhérines <ul style="list-style-type: none"> - famille de protéines - reliées directement au composant du cytosquelette • Permet d'avoir une très grande cohésion des tissus </td> </tr> </table>	Adhésion	<ul style="list-style-type: none"> • Grâce à des structures telles que : <ul style="list-style-type: none"> - les filopodes - les lamellipodes - par l'intermédiaire des points focaux (permettent à la cellule de s'ancrer sur un support comme la MEC) 	Migration	<ul style="list-style-type: none"> • Grâce à l'ancrage sur un support, des mécanismes moléculaires permettent à la cellule de se déplacer 	Connexions intercellulaires	<ul style="list-style-type: none"> • Grâce aux cadhérines <ul style="list-style-type: none"> - famille de protéines - reliées directement au composant du cytosquelette • Permet d'avoir une très grande cohésion des tissus
Adhésion	<ul style="list-style-type: none"> • Grâce à des structures telles que : <ul style="list-style-type: none"> - les filopodes - les lamellipodes - par l'intermédiaire des points focaux (permettent à la cellule de s'ancrer sur un support comme la MEC) 						
Migration	<ul style="list-style-type: none"> • Grâce à l'ancrage sur un support, des mécanismes moléculaires permettent à la cellule de se déplacer 						
Connexions intercellulaires	<ul style="list-style-type: none"> • Grâce aux cadhérines <ul style="list-style-type: none"> - famille de protéines - reliées directement au composant du cytosquelette • Permet d'avoir une très grande cohésion des tissus 						

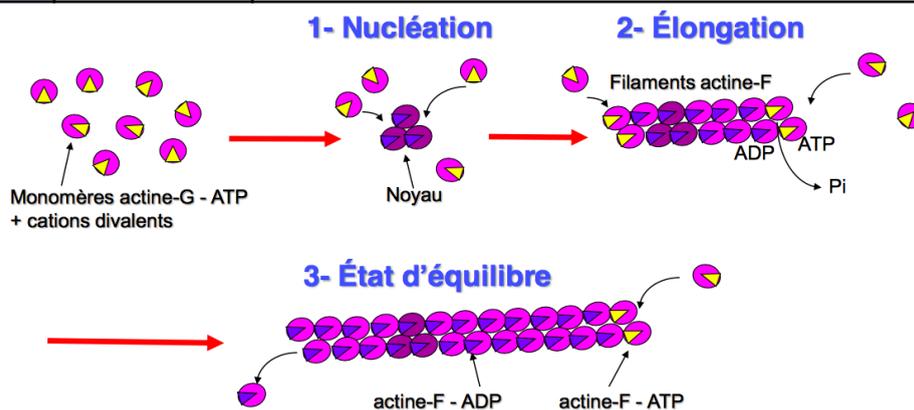


Composition : 3 types de fibres	Microfilaments d'actine ou filaments d'actine	- Présents dans tout le cytoplasme
	Microtubules	- Forment un réseau - Rayonnent à partir du noyau
	Filaments intermédiaires	- Remplissent une grande partie de l'espace cellulaire
	<ul style="list-style-type: none"> ● Différents en composition et en structure, fonctions bien distinctes ● Toutes composés des sous unités, qui sont des protéines simples organisées en structures polymériques ● Toutes ces fibres interagissent entre elles par l'intermédiaire de facteurs protéiques pour assurer certaines fonctions cellulaires <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Microfilaments d'actine</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Microtubules</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Filaments intermédiaires</p> </div> </div>	

L'actine et les filaments d'actine	
Structure des microfilaments	
 <p>Filaments fins = microfilaments d'actine</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ● Composés d'unités moléculaires appelées actine <ul style="list-style-type: none"> - Filaments d'actine (ou actine-F pour Filament) composés de polymères linéaires d'actine G ● Structure légèrement hélicoïdale de 5 à 9 nm de diamètre, flexible ● ME : aspect fibreux (<i>en haut</i>) ● Microscopie à fluorescence : structures en fibres longitudinales ou réseaux plus enchevêtrés (<i>en bas</i>) ● Forment le cytosquelette d'actine → Rôle extrêmement important dans la transduction des signaux mécaniques pouvant générer des forces intracellulaires permettant : <ul style="list-style-type: none"> - la motilité cellulaire - la contraction musculaire - la division cellulaire - les mouvements des organelles et des vésicules - la signalisation cellulaire



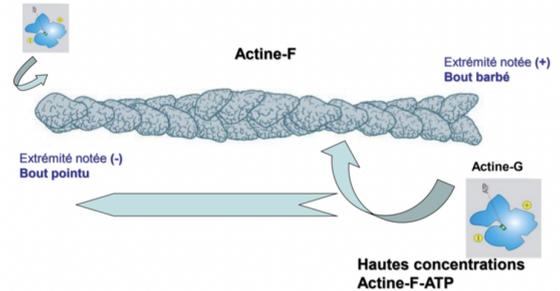
L'actine monomérique		
Actine G	<ul style="list-style-type: none"> ● G pour globulaire ● Protéine très abondante dans les cellules eucaryotes et très conservée entre les espèces ● Unité de base des filaments d'actine ● 3 isoformes de l'actine G : <ul style="list-style-type: none"> - actine α : cellules musculaires - actine β et γ : principalement dans les cellules non musculaires. ● 375 AA ● Poids Moléculaire d'environ 42 à 47 kDa. ● Soluble dans le cytoplasme 	
Association des monomères	<ul style="list-style-type: none"> ● S'associent spontanément in vitro en polymères homogènes par des liaisons non covalentes pour former un filament <ul style="list-style-type: none"> - flexible, capable de torsion : arrangement en une structure ordonnée ● L'actine G est constituée de 2 lobes séparés par une crevasse contenant : <ul style="list-style-type: none"> - un site de fixation pour un ion divalent (magnésium ou calcium) - un site de liaison à l'ATP ou à l'ADP (on peut retrouver l'actine liée à l'un ou l'autre dans le cytoplasme) 	
Polymérisation des filaments d'actine		
Polymérisation = assemblage des monomères	<ul style="list-style-type: none"> ● 3 étapes in vitro, plus ou moins lentes et sensibles à : <ul style="list-style-type: none"> - la force ionique - la présence d'ions divalents - la nature du ligand nucléotidique (ATP ou ADP) - la concentration en actine (<i>concentration critique</i>) 	
	1. Nucléation	<ul style="list-style-type: none"> - Nécessite l'association de 3 ou de 4 monomères d'actine G en un noyau. - Étape limitante dans la polymérisation de l'actine : elle est dite "lente"
	2. Élongation	<ul style="list-style-type: none"> - Ajout de monomères d'actine G à une ou aux 2 extrémités du noyau suivant les concentrations - étape extrêmement rapide (cinétique différente selon l'extrémité du filament) - S'accompagne d'une hydrolyse différée (après que les monomères d'actine soient incorporés dans le filament) de l'ATP en ADP + Pi
	3. État d'équilibre	<ul style="list-style-type: none"> - Le filament s'allonge à une extrémité, et se dépolymérise à l'autre extrémité - Similaire in vivo, excepté qu'il fait appel à de nombreux facteurs qui interviennent dans la régulation de la polymérisation et de la dépolymérisation du filament d'actine





Polarité des filaments d'actine

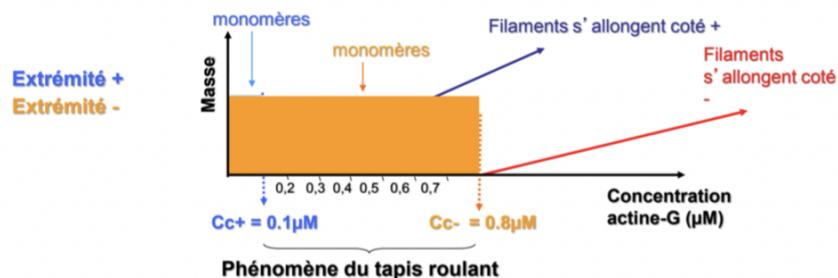
- Ajout des monomères à une extrémité du filament d'actine : toujours avec la **même orientation**
- Schéma : à l'extrémité droite, les monomères s'ajoutent systématiquement avec leur cavité capable de lier l'ATP orientée vers la gauche
- **Polarité structurale** des filaments d'actine, avec
 - **extrémité positive** dite bout **"barbu"** = bout "barbé"
 - **extrémité négative** dite bout **"pointu"** ou "pointé" car l'extrémité se transforme en pointe



Attention! Ceci n'est qu'une représentation schématique de ce qui peut se passer dans une cellule : imagine que cette polymérisation s'effectue avec une structure en 3 dimensions.

Concentration critique

- **5 à 10 fois plus rapide** à l'extrémité barbue qu'à l'extrémité pointue
- Dépend de la **concentration en actine G** présente dans le cytoplasme
 - Il existe donc une **concentration critique** en actine G :
 - **concentration d'actine G nécessaire à sa polymérisation**
 - différente selon l'extrémité.



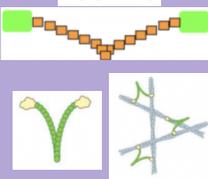
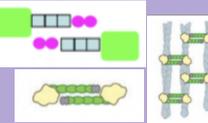
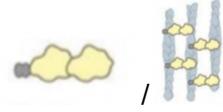
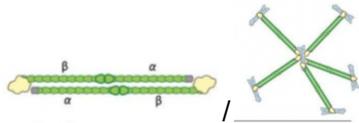
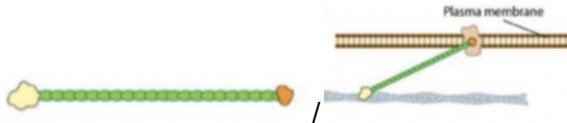
Polymérisation du filament d'actine :

In vitro	Extrémité +	Polymérisation et allongement du filament dès que la concentration d'actine G est > à 0,1 µM = concentration critique positive
	Extrémité -	Polymérisation uniquement au-delà de 0,8 µM = concentration critique négative.
Bilan	En dessous de 0,1 µM	<ul style="list-style-type: none"> - Aucune polymérisation - Dépolymérisation de l'extrémité négative "pointue"
	Entre 0,1 et 0,8 micromolaire	<ul style="list-style-type: none"> - Entre les 2 concentrations critiques - Polymérisation à l'extrémité positive "barbue", - Dépolymérisation à l'extrémité négative "pointue" - Avec une vitesse équivalente → la longueur du filament ne change pas → phénomène de "tapis roulant" = threadmilling - Les positions des monomères évoluent au sein du filament - Déplacement extrémité positive → extrémité négative
	Au delà de 0,8 micromolaire	<ul style="list-style-type: none"> - Polymérisation aux niveau des deux extrémités



Protéines de régulation de l'ARCHITECTURE des filaments d'actines

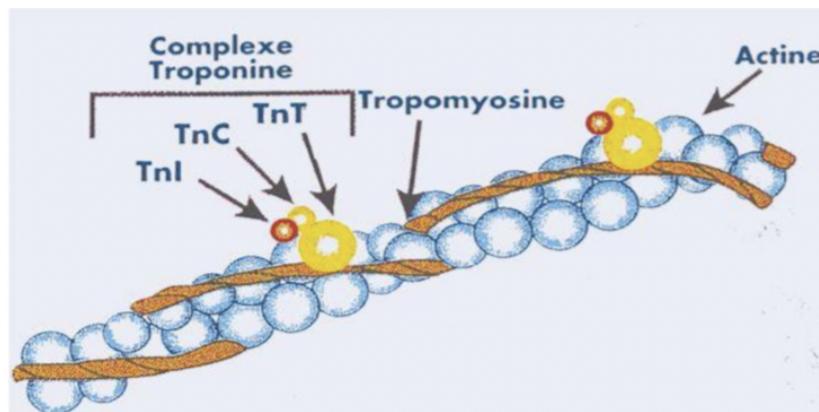
Les protéines de RETICULATION

Caractéristiques		
	<ul style="list-style-type: none"> Un ou plusieurs domaines de liaison à l'actine 6 types : fimbrine, α-actinine, fascine, filamine, spectrine et dystrophine Poids moléculaires varié : de 55kDa (fascine) à 427kDa (dystrophine) Monomères ou dimères Organisation de l'actine en réseau : faisceaux parallèles, faisceaux contractiles, réseau de mailles <ul style="list-style-type: none"> - selon la longueur et la flexibilité des protéines de réticulation 	
<div style="text-align: center;"> Fascine 55kDa </div> 	<ul style="list-style-type: none"> Monomère Une des protéines majeures de réticulation Permet de lier les filaments d'actine en faisceaux rigides qui ont une résistance mécanique pour générer une force de protrusion → mobilité cellulaire Sa liaison aux filaments d'actine régulée par phosphorylation/déphosphorylation <ul style="list-style-type: none"> - associée sous forme déphosphorylée - se dissocie lorsqu'elle est phosphorylée par des kinases spécifiques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Faisceaux parallèles serrés (filopodes) - Réseaux de mailles (lamellipodes)
<div style="text-align: center;"> Filamine 280kDa </div> 	<ul style="list-style-type: none"> Dimère Dans les filaments d'actine OU associée à l'actine G monomérique globulaire. Permet de relier les réseaux avec les récepteurs membranaires Participe à la stabilité mécanique des cellules 	<ul style="list-style-type: none"> - Réseaux de mailles (lamellipodes) - Faisceaux contractiles
<div style="text-align: center;"> α-actinine 102kDa </div> 	<ul style="list-style-type: none"> Dimère <ul style="list-style-type: none"> - lui permet d'interagir avec 2 filaments d'actine 	<ul style="list-style-type: none"> - Faisceaux parallèles (microvillosités) - Fibres de stress - Points focaux - Faisceaux parallèles serrés (filopodes)
<div style="text-align: center;"> Fimbrine 68kDa </div> 		<ul style="list-style-type: none"> - Faisceaux parallèles (microvillosités) - Faisceaux contractiles
<div style="text-align: center;"> Spectrine 280/246kDa </div> 		<ul style="list-style-type: none"> - Réseaux de mailles
<div style="text-align: center;"> Dystrophine 427kDa </div> 		<ul style="list-style-type: none"> - Faisceaux contractiles spécifiques du muscles



Les protéines de STABILISATION

Tropomyosine	<ul style="list-style-type: none">• Dans toutes les cellules eucaryotes• protéine allongée• se fixe sur 7 sous unités d'actine• forme une longue chaîne composée de dimères associés tête-bêche<ul style="list-style-type: none">- structure rigide permettant la stabilisation des filaments d'actine.• permet de réguler l'interaction entre les protéines qui vont interagir avec l'actine et les filaments d'actine• 2 types de tropomyosine:<ul style="list-style-type: none">- non musculaire : motilité cellulaire mouvements intracellulaires- musculaire : contraction musculaire
Troponine	<ul style="list-style-type: none">• Que dans les cellules musculaires cardiaques et squelettiques.• Complexe de 3 protéines :<ul style="list-style-type: none">- la troponine I : sous unité inhibitrice de la liaison entre l'actine et la protéine motrice myosine- la troponine C : capable de fixer le calcium- la troponine T : responsable de la liaison du complexe à la tropomyosine• stabilisent les filaments d'actine et vont prévenir leur fragmentation, en association avec la tropomyosine• afflux de calcium → se fixe sur la troponine C → expulsion de la troponine I du complexe → déplacement de la myosine sur le filament d'actine.

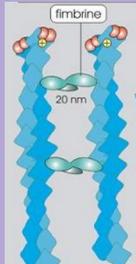




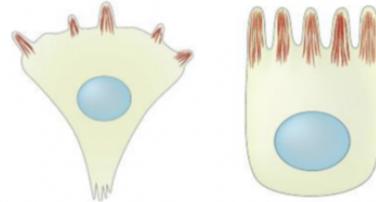
Structures de filaments d'actine dans la cellule

→ Rôle prépondérant des filaments d'actine dans la **constitution du cytosquelette** et dans l'**organisation structurale de la cellule**

Faisceaux parallèles



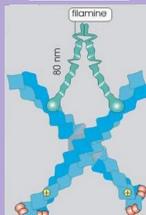
- Filaments d'actine orientés dans le **même sens**
- Structure maintenue grâce à de petites **protéines de réticulation** comme la fimbrine
- En général attachés à la **face interne de la membrane plasmique**
 - rôle de **support mécanique**.
- Ces filaments peuvent **polymériser et dépolymériser très rapidement à leur extrémité positive**
- Forment :
 - les **filopodes**
 - les **microvillosités**



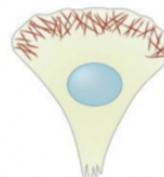
Filopodes

Microvillosités

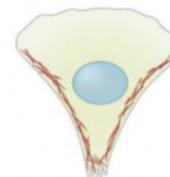
Réseaux de mailles



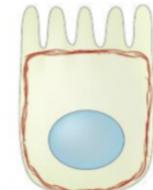
- **Longs filaments** localisés dans le cytosol et qui **s'entrecroisent** avec des **angles de 70 à 90 degrés**
- Structure peu compacte obtenue grâce à de **longues protéines adaptées aux orientations orthogonales du réseau**, comme par exemple la filamine
- Forment :
 - les **lamellipodes**
 - le **cortex cellulaire**



Lamellipodes

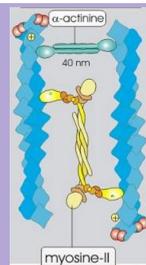


Cortex cellulaire

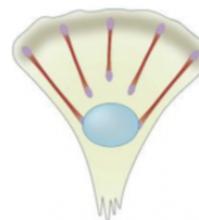


Cortex cellulaire

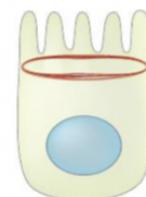
Faisceaux contractiles



- Fibres **parallèles** orientées **tête-bêche** :
 - les extrémités positives se retrouvent dans les zones opposées des filaments.
- Fibres maintenues par des **protéines de type α -actinine**
- Fibres pouvant se contracter par **glissement**, grâce à des **protéines de type myosine** (ex : myosine II)
- Constituent :
 - les fibres de tension ou **fibres de stress**
 - la **ceinture d'adhérence**
 - les **anneaux mitotiques**
 - les **points focaux**



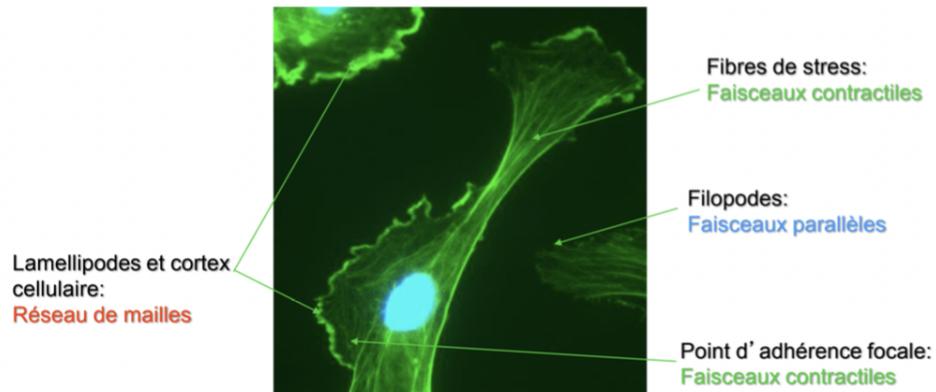
Fibres de stress



Ceinture d'adhérence



Localisation des structures



Actine de cellules adhérentes colorée en vert et révélée en microscopie à fluorescence

- Chaque type de structure a une **localisation différente dans la cellule.**

→ Filopodes :

- structures en forme de doigts
- constitués de **faisceaux parallèles** (faisceaux lâches de 10 à 20 filaments d'actine)
- sur le **bord principal de la cellule lors de la migration cellulaire**

→ Lamellipodes :

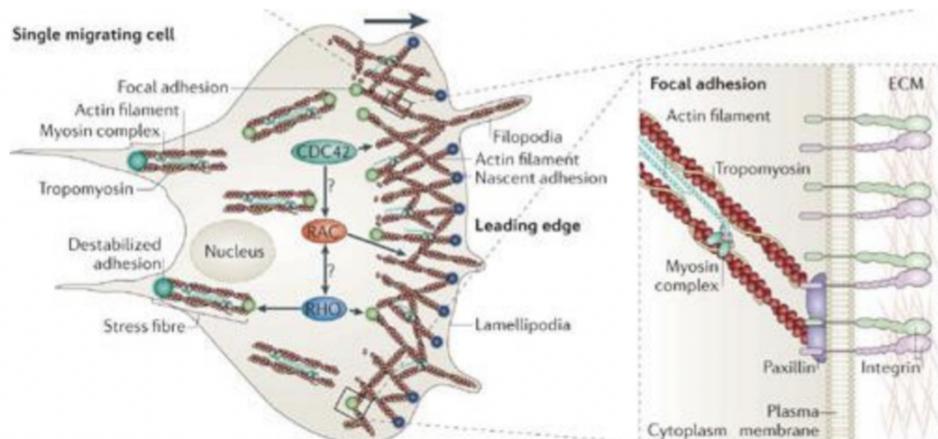
- fins feuillets de membranes situés au **bord principal de la cellule**
- avancent **vers l'extérieur**
- constitués de **réseaux de mailles** (réseau dense de filaments d'actine)
- confèrent une **polarité** à la cellule
- permettent sa **migration** sur son support
- également le lieu de l'exocytose et d'une partie de l'endocytose via des **puits recouverts de clathrine**

→ Points d'adhérence focale ou plaques d'adhérences :

- permettent l'**ancrage** des bords de la cellule au substrat ainsi que l'ancrage des fibres de stress

→ Fibres de stress :

- composées de **faisceaux contractiles**
- permettent à la cellule **d'avancer** sur son support



+ Interaction des filaments d'actine avec des récepteurs membranaires (intégrines) qui les relient directement aux composants de la matrice extracellulaire.