

9 - LE CYTOSQUELETTE

C'est un réseau complexe de filaments protéiques qui s'étend à travers le cytoplasme. Il confère aux cellules eucaryotes leur aptitude à prendre des formes différentes et à se déplacer. Il est également appelé cytomusculature car responsable des mouvements amiboïdes, ciliés et flagellés de la cellule.

9.1. ELEMENTS DU CYTOSQUELETTE

Les différentes activités du cytosquelette ne dépendent que de 3 types de filaments protéiques: les microfilaments, les microtubules et les filaments intermédiaires

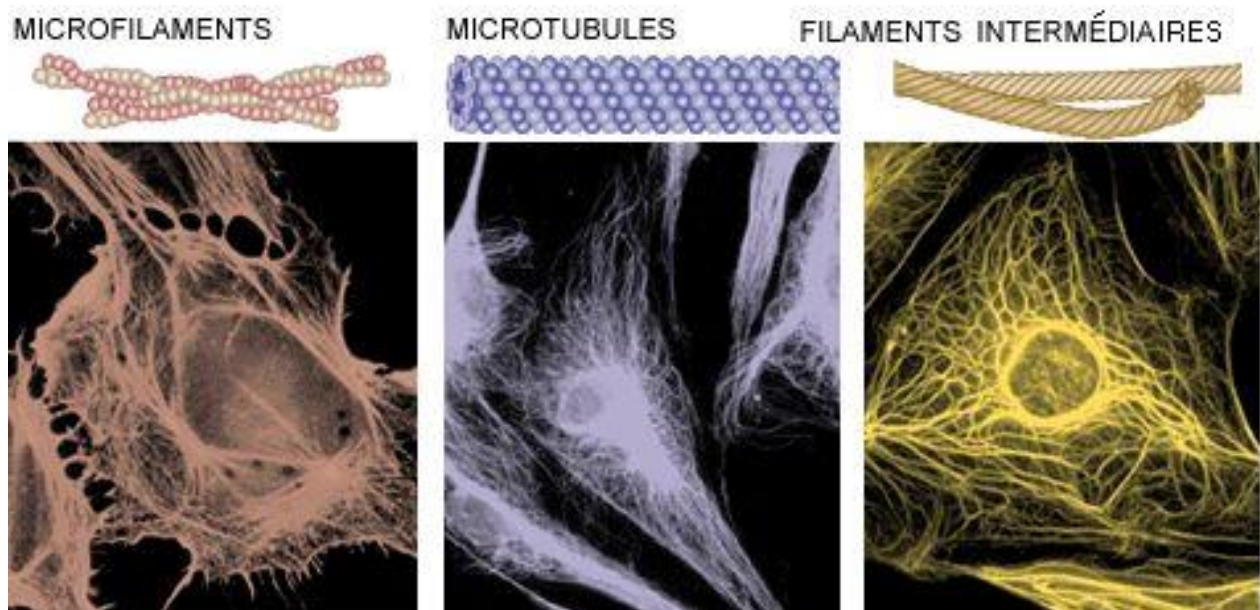


FIGURE 31 : LES DIFFERENTS TYPES DE FILAMENTS PROTEIQUES

9.1.1. - LES MICROFILAMENTS

Ils ont une longueur variable et un diamètre de 4 à 8 μm . Présents dans toutes les cellules eucaryotes, ils constituent les filaments de soutien des microvillosités intestinales, les desmosomes, dans un réseau sous-jacent à la membrane plasmique appelé **cortex**. D'autres sont responsables des mouvements comme la contraction des fibres musculaires. Les microfilaments sont essentiellement composés d'actine associé à d'autres protéines telles que la myosine, la troponine, la tropomyosine etc.

9.1.1.1 STRUCTURE DES FIBRES MUSCULAIRES

A - Fibres, myofibrilles et myofilaments

Les fibres musculaires squelettiques sont constituées de cellules cylindriques multinucléées. Ces cellules (myocytes) présentent des stries transversales au microscope optique (ou photonique). Les stries représentent une alternance de bandes claires et de bandes sombres. Les myocytes sont formés de paquets de myofibrilles disposés longitudinalement.

Les myofibrilles sont à leur tour constituées d'un paquet de myofilaments fins d'actine (diamètre=10nm) et de myofilaments épais de myosine (diamètre = 6 μm). Les coupes transversales de myofibrilles vues au microscope électronique présentent une disposition hexagonale caractéristique où les 2 types de myofilaments alternent.

En fait, les myofilaments fins sont des cordons de 8nm de diamètre composé d'actine, de troponine et de tropomyosine alors que les myofilaments épais sont des paquets de molécules de myosine.

B - Le sarcomère

L'unité de contraction de la fibre musculaire squelettique est le sarcomère. Il a environ 2,5 μm de longueur. Deux sarcomères successifs sont délimités par des disques (ou stries) Z. Un disque Z est disposé au milieu d'une bande claire ou isotrope (bande I). La bande sombre ou anisotrope (A) étant constituée de filaments de myosine et d'actine. La région la plus claire au milieu de la bande sombre est la bande H, elle même traversée en son milieu par la ligne M.

Le sarcomère comprend successivement une strie Z, une demi-bande I, une bande A, une demi-bande I et une strie Z.

Lors de la contraction musculaire, les filaments fins et épais glissent les uns à travers les autres sans se raccourcir. (Exemple: antenne, amortisseur). Seule l'épaisseur de la bande I diminue.

9.1.1.2. - MICROFILAMENTS D'ACTINE

Un filament d'actine est composé de plusieurs sous-unités composées chacune d'une protéine d'environ 375 acides aminés de longueur appelée **Actine G** (actine globulaire). L'actine G est associée à une molécule d'ATP de façon non-covalente. La polymérisation de l'actine G donne un filament d'actine (**actine F**), le phosphate terminal de l'ATP est hydrolysé pendant ce processus mais sans consommation d'énergie.

On obtient des sous-unités d'actine G à partir d'une poudre de muscle en solution saline très diluée. La polymérisation de l'actine G à l'actine F s'effectue par augmentation de la concentration saline.

Les filaments musculaires fins ont 2 extrémités différentes: une extrémité moins et une extrémité plus.

9.1.1.3. - MICROFILAMENTS DE MYOSINE

La myosine se trouve dans presque tous les types de cellules de vertébrés, toujours associée aux filaments d'actine qui forment des structures contractiles dans le cytoplasme. Les filaments épais de muscles striés sont composés de myosine. Une molécule de myosine mesure environ 150nm de long sur 2nm d'épaisseur.

Un traitement avec des solutions salines concentrées entraîne la dépolymérisation des filaments épais de myosine en molécules simples constituées chacune de 6 chaînes polypeptidiques: 2 chaînes lourdes identiques et 2 paires de chaînes légères.

❖ Traitement de la myosine par des protéases

L'hydrolyse de la myosine par la trypsine montre qu'elle est constituée de 2 fragments appelés méromyosines : Une méromyosine lourde HMM et une méromyosine légère LMM.

Le traitement de la méromyosine lourde par la papaine produit 2 têtes globulaires =t appelées sous-fragment-1 (S_1) une partie en forme d'hélice α (S_2).

Ces 2 parties ont des fonctions différentes dans la cellule musculaire:

- Les queues sont responsables de l'assemblage spontané des molécules de myosine en filaments épais.
- Les têtes sont responsables du déplacement de la molécule sur le filament d'actine adjacent. Chaque filament épais comporte environ 500 têtes de myosine.

9.1.1.4 - CONTRACTION MUSCULAIRE

Elle se fait avec consommation d'énergie en présence des ions Ca^{2+}

L'énergie nécessaire à la contraction musculaire provient de l'hydrolyse de la phosphocréatine ($PO_3^- -NH-CN-NH_2 - CH_2 -COO^-$) qui donne l'ATP sous l'action de la phosphocréatine kinase.

La myosine fonctionne comme une ATPase en présence d'actine. Chaque myosine hydrolyse environ 5 à 10 ATP par seconde.

Une interaction entre filament fin d'actine et filaments épais de myosine régit la contraction :

1 - La partie en bâtonnet des myosines se plie et les têtes s'attachent à l'actine, formant ainsi des ponts actine-myosine.

2 - L'hydrolyse de l'ATP lié aux têtes de myosine provoque un pivotement de celles-ci entraînant un déplacement des filaments d'actine.

3 - En présence d'ATP, les têtes de myosine se détachent et prennent leur position initiale. La contraction musculaire est initiée par une augmentation subite du Ca^{2+} cytosolique. Dès que les tubules T sont électriquement excités, les canaux calciques au niveau de la membrane du réticulum sarcoplasmique sont immédiatement ouverts, libérant le Calcium dans le cytosol. Au bout de 30 millisecondes, la Ca^{2+} ATPase pompe de nouveau les ions Ca dans le réticulum sarcoplasmique et la relaxation de la myofibrille s'en suit.

La tropomyosine et la troponine sont des protéines associées au filament d'actine. Elles sont médiatrices de la régulation du Ca^{2+} dans la contraction musculaire.

La tropomyosine est similaire à la myosine à travers les R-x. C'est un filament de 41nm de long qui stabilise le filament d'actine.

La troponine est un complexe de 3 polypeptides nommés (T, I et C) T= tropomyosin binding, I=inhibitory, C= Ca-binding). La tropomyosine bloque le site de

liaison de la myosine sur l'actine en absence du Ca^{2+} . Lorsque le Ca^{2+} est de nouveau présent dans le milieu, la tropomyosine se détache et permet la contraction.

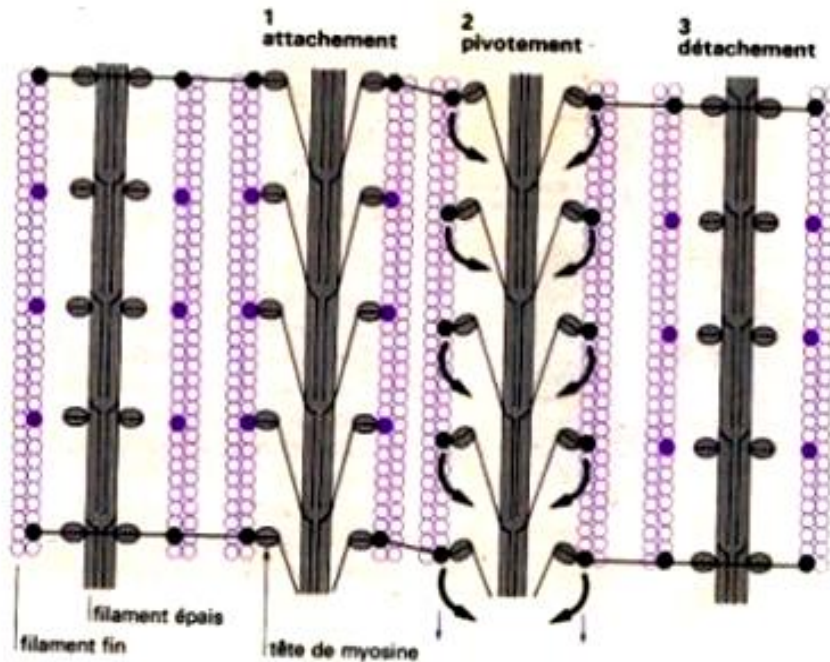


FIGURE 32 : PROCESSUS DE CONTRACTION MUSCULAIRE

9.1.1.5 - AUTRES PROTEINES DES MYOFIBRILLES

D'autres protéines maintiennent l'architecture de la myofibrille et lui confèrent son élasticité.

* Composantes protéiques majeures des myofibrilles squelettiques

Protéine	% par rapport aux protéines totales	PM (kDa)	Fonction
Myosine	44	510	Composante majeure des filaments épais. Interagit avec les filaments d'actine par hydrolyse de l'ATP pour développer une force mécanique
Actine	22	42	Composante majeure des filaments fins contre lesquels les filaments épais glissent pendant la contraction
Tropomyosine	5	64	S'attache le long du filament d'actine
Troponine (T,I,C)	5	78	Complexe situé le long du filament d'actine impliqué dans la régulation Ca-dépendante de la contraction musculaire.
Titine	9	2500	grande protéine formant un réseau élastique qui relie les filaments épais au disque Z
Nebuline	3	600	Protéine allongée rattachée au disque Z qui s'oriente parallèlement aux filaments d'actine
Actinine \square	1	190	Protéine d'emballage de l'actine dans la région du disque Z
Myomesine	1	185	Protéine reliant la myosine au niveau de la ligne M
Protéine C	1	140	Protéine reliant la myosine de part et d'autre de la ligne M

Il existe également plus de 20 autres protéines

9.1.1.6. - AUTRES TYPES DE STRUCTURES CONTENANT DES MICROFILAMENTS

A- les autres structures musculaires

Il existe 3 principaux types de muscles de vertébrés

En plus des muscles squelettiques, on distingue :

- le muscle cardiaque et les muscles lisses formant la partie contractile de l'estomac, de l'intestin, de l'utérus, des parois artérielles, des canaux de glandes etc. Ils contiennent des cellules possédant des filaments d'actine et de myosine. Ces filaments sont rattachés de façon oblique à la membrane et produisent des mouvements de contraction plus large.

La calmoduline (**Calcium modulating protein**) est une protéine modulatrice du signal Ca^{2+} intracellulaire qui contrôle l'assemblage et la séparation des microtubules. Elle intervient dans la contraction des muscles lisses et dans la détermination de la forme cellulaire.

Autres Exemples d'association actine-myosine dans les paquets contractiles : cellule en culture, ceinture d'adhésion (adhesion belt) et anneau contractile de cellule en télophase.

L'actine est la principale molécule responsable de la thixotropie.

B - Le cortex

Les cellules d'eucaryotes possèdent une couche corticale distincte en dessous de la membrane plasmique. Les filaments d'actine qui la compose sont parfois associés à la myosine ou à d'autres protéines ligantes dont la plus abondante sont la **filamine**.

C - les microvillosités

Les microvillosités sont des extensions locales en forme de doigts de la membrane plasmique. Leur forme est stabilisée par des paquets de filaments d'actine. Elles augmentent la surface d'échange de la cellule.

9.1.1.7. Drogues spécifiques affectant le comportement cellulaire en modifiant l'état de l'actine

- ❖ **Les Cytochalasines:** C'est une famille de métabolites excrétés par plusieurs types de mousses qui paralysent les mouvements cellulaires des vertébrés, tels que la locomotion, la cytokinèse, la phagocytose, lamellipodes ou le plissement des épithéliums. Les cytochalasines inhibent l'addition des monomères d'actine au microfilament en formation.
- ❖ **La phalloïdine** est un alcaloïde poison du champignon *Amanita phalloides*. C'est contrairement aux cytochalasines, un agent qui inhibe la dépolymérisation des microfilaments d'actine (Elle a tendance à provoquer l'assemblage des monomères d'actine G). La phalloïdine est souvent utilisée pour bloquer les mouvements des cellules en culture.

9.1.2. LES MICROTUBULES

9.1.2.1. DEFINITION

Les microtubules sont des structures cellulaires réversibles constituées essentiellement d'une protéine, la tubuline.

9.1.2.2. STRUCTURE

Les microtubules sont des filaments creux d'environ 25nm de diamètre et 10 nm d'épaisseur (actine = 8nm). Leur longueur est variable et peut avoisiner plusieurs μm . Les microtubules sont absents chez les procaryotes. La majorité des microtubules sont labile et sensitive aux antimitotiques. En outre, ils peuvent se dissocier et se reconstituer rapidement en fonction des conditions thermiques.

9.1.2.3. Composition chimique

Les microtubules sont essentiellement formés d'une protéine, la tubuline dont on distingue 2 sortes de monomères l' α et la β tubuline de 50 kDa chacun (constituant majeur des fibres nerveuses). Un alignement de dimères de tubuline forme un **protofilament**. Treize protofilaments alignés côte à côte délimitent la paroi du microtubule en forme de cylindre.

Souvent instables, les microtubules sont stabilisés par association avec des protéines spécifiques appelées **Microtubule Associated Proteins (MAP)**, qui servent également de médiateur de leur interaction avec d'autres éléments cellulaires. Exemple : mouvements des organites le long des microtubules. Deux principales classes de MAP peuvent être isolées des cellules nerveuses:

- 1°) - Les **HMW** (High-molecular-weight) proteins de 200 000 à 300 000 U.m.a.
- 2°) - Les **protéines tau** ou **protéines Z** de 40 000 à 60 000 U.m.a.

La **tektine** est une protéine associée à la tubuline en filaments orientés le long de la paroi des microtubules. Des MAP telles que la **dynéine** et la **kinésine**, qui hydrolysent l'ATP jouent un rôle d'intermédiaire dans la fixation de divers organites aux microtubules.

La dynéine d'un axonème est un complexe protéique de 2000 kDa fixé sur un des microtubules d'un doublet et dont les bras s'étendent jusqu'au doublet adjacent. La dynéine cytoplasmique permet le déplacement des vésicules le long des microtubules du cytosquelette.

9.1.2.4. FONCTIONS

Les microtubules jouent un rôle crucial dans

- la formation et le maintien de la structure cellulaire.
- le déplacement des chromosomes vers les cellules-filles pendant la mitose, par la formation des centrioles et des fuseaux achromatiques.
- la distribution des organites et des macromolécules.
- la migration des vésicules d'endocytose et d'exocytose.

Elles forment l'axonème (partie centrale) des cils et des flagelles

9.1.2.5. ASSEMBLAGE DES MICROTUBULES

Autoagrégation avec consommation d'énergie (1 GTP par unité de tubuline)

9.1.2.6. INHIBITION

- La **colchicine** est un alcaloïde qui se lie à une molécule de tubuline. Ceci empêche la polymérisation des microtubules, bloquant ainsi la formation du

fuseau achromatique pendant la mitose. Elle limite le cycle mitotique à la métaphase.

- La **vinblastine** est un autre anti-mitotique qui provoque la précipitation des complexes de tubuline.
- Les **antimitotiques** sont fréquemment utilisés pour le traitement du cancer.
- Le **taxol** est une drogue dont l'effet est opposé à celui des anti-mitotiques. Elle stabilise par contre les microtubules en empêchant leur dépolymérisation. Une injection intracellulaire entraîne l'assemblage de la majorité des molécules de tubuline libres.

A - EXEMPLE D'UNE STRUCTURE MICROTUBULAIRE: LE SYSTEME CENTRIOLAIRE

Le centriole est un organite cytoplasmique existant dans la plupart des cellules (sauf chez les végétaux supérieurs) ayant la forme d'un cylindre de 150nm de diamètre et de 400 à 500nm de long. Il est constitué de 9 paires de microtubules ou de 9 groupes de microtubules associés en triplets disposés en une structure ennéagonale (à 9 angles).

La nexine, protéine de l'axonème, établit des liaisons entre 2 doublets de microtubules adjacents dont elle contribue à freiner le glissement. Elle relie le microtubule A d'un triplet et est relié au microtubule C du triplet voisin par un pont. Dans un centriole, les tubules d'un triplet sont nommés ABC, le tubule circulaire A étant le plus proche du centre.

Les centrioles forment les **corpuscules basaux** (ou **blépharoplastes** ou **cinétosomes**) de tous les cils et flagelles. Les centrioles associent les sous-unités protéiques microtubulaires de manière à former le fuseau mitotique, l'axonème. La plupart des cellules animales possèdent une paire de centrioles orthogonaux (perpendiculaires l'un par rapport à l'autre) ou **diplosome**.

La zone cytoplasmique la plus périphérique qui entoure le diplosome est appelée **centrosphère**. L'ensemble centrosphère + diplosome forme le **centrosome** ou centre cellulaire ou centre organisateur des microtubules (**MTOC**). Les MTOC induisent la polymérisation des microtubules astériens.

*** Biogenèse des centrioles**

Dans une cellule en fin d'interphase, les 2 centrioles d'un diplosome migrent aux pôles opposés du noyau, et chaque centriole initie la formation d'un **procentriole** qui se transforme plus tard en un nouveau centriole.

B - CILS ET FLAGELLES

Les cils sont des appendices courts d'environ 250nm de diamètre constitués de microtubules en configuration 9 + 2 caractéristique, qui se rencontrent en grand nombre sur chaque cellule.

Composition des cils et flagelles

1°) La tige : La tige renferme la **matrice** et l'**axonème**, partie centrale du cil ou du flagelle. L'axonème est constitué d'une couronne de 9 paires (ou doublets) de microtubules accolés, de 20 à 30 nm de diamètre (Le microtubule complet, tubule A, a 13 sous-unités tandis que le microtubule incomplet (tubule B, en a 9). Contrairement au centriole dont le centre est vide, la partie centrale du cil (ou du flagelle) possède une paire de microtubules complets entourés d'une gaine

hélicoïdale (centrale). Des rayons partent des tubules A à la gaine centrale. Les ponts de nexine réunissent les 9 doublets périphériques.

2°) La zone de transition :

Elle fait suite à la tige et se caractérise par

- l'interruption des 2 tubules centraux.
- la présence d'une plaque basale et d'un collier constitué de protéines membranaires.

3°) Le cinétosome ou blépharoplaste ou corpuscule basal

Il est constitué de 9 triplets (de 3 microtubules chacun dont 2 proviennent de l'axonème). Le microtubule additionnel est appelé tubule C. La partie la plus éloignée de la surface cellulaire est appelée structure en roue de charette.

4° - La racine ciliaire

Cette structure inconstante est à la base du cil. Elle s'insère généralement sur les corpuscules basaux. Elle assurerait la propagation du stimulus déclenchant le mouvement ciliaire.

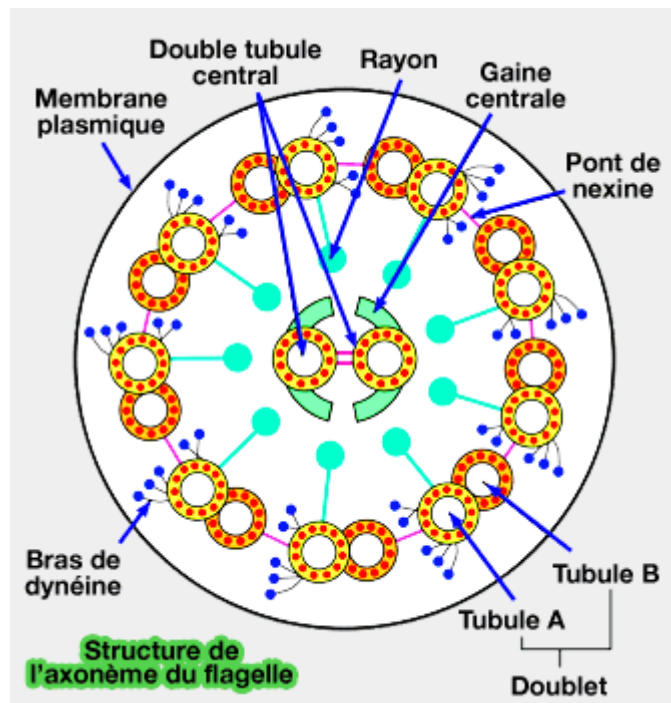


FIGURE 33 : COUPE TRANSVERSALE DE LA PARTIE SUPERIEURE D'UN CIL

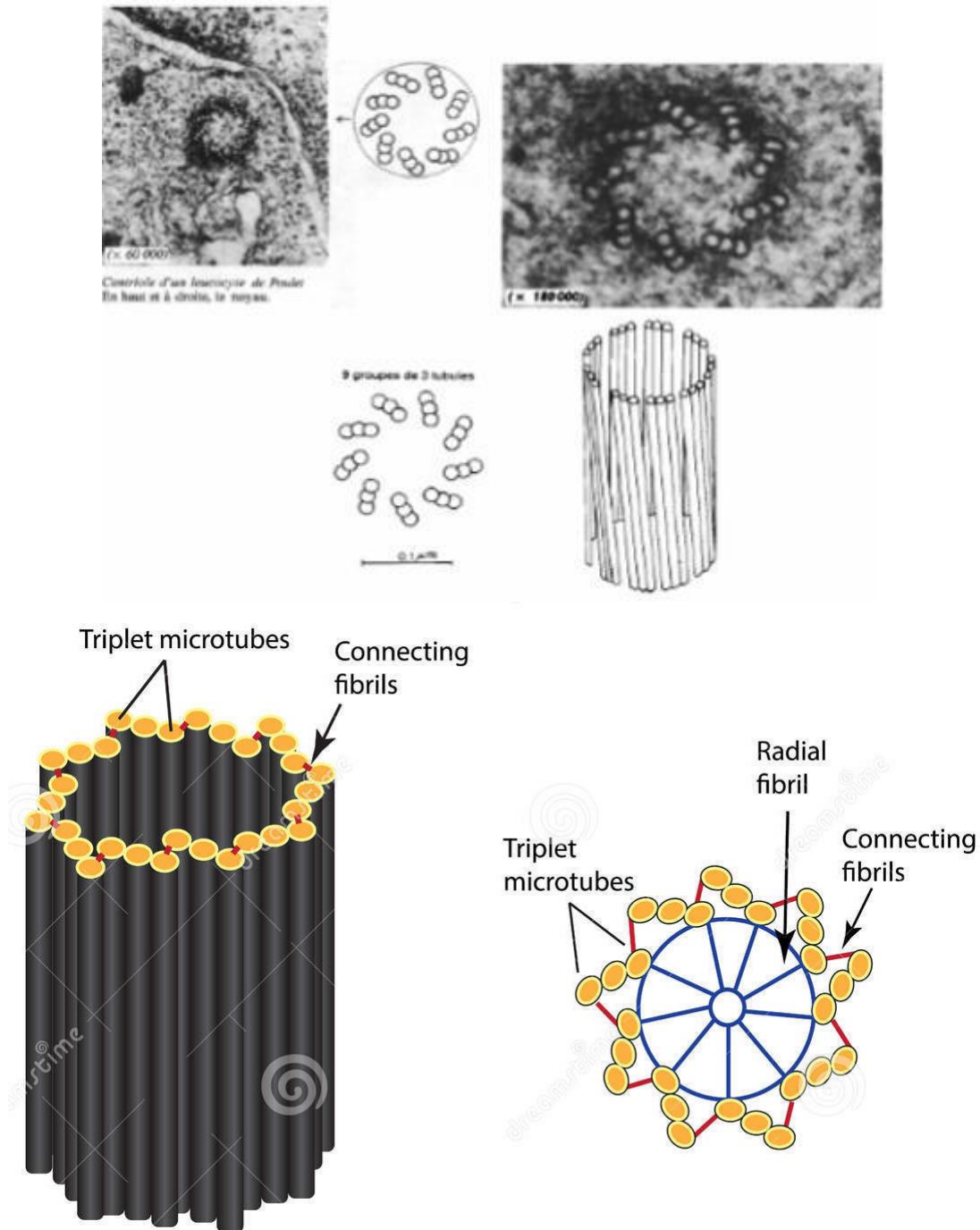


FIGURE 34 : STRUCTURE D'UN CENTRIOLE

*** Fonction des cils et flagelles**

Les cils et flagelles interviennent dans la motilité cellulaire. Leurs fonctions principales sont les suivantes:

- Evacuer les substances de la cellule par des mouvements synchronisés (Exemple: cils de l'épithélium du tractus respiratoire 10⁹/cellules renvoient le mucus et les particules vers la bouche où elles sont avalées et éliminées),
- Propulser la cellule (paramécies)

Les structures internes du cil et du flagelle sont identiques mais les cils (5 à 10 µm de long) ont un mouvement pendulaire alors que les flagelles dont le mouvement est ondulant sont généralement plus longs (150µm). Le spermatozoïde est la structure flagellée la plus simple.

9.1.3. - LES FILAMENTS INTERMÉDIAIRES

9.1.3.1. Définition

Ce sont des filaments protéiques fibrillaires stables dont le diamètre entre 8 et 10nm est intermédiaire entre les filaments fins d'actine et les filaments de myosine des cellules musculaires où ils ont précédemment été isolés.

9.1.3.2. Organisation moléculaire

L'unité de base des filaments intermédiaires est un monomère comportant une extrémité C-terminale et une extrémité N-terminale. Ils sont en forme de fil tressé. La partie centrale du monomère comprend environ 310 résidus d'acides aminés disposés en une double hélice interrompue par 3 régions non hélicoïdales. Deux monomères entrelacés constituent un dimère. Les dimères s'associent parallèlement pour former un tétramère ou **protofilament**. Un filament intermédiaire est formé par 8 protofilaments formant un cylindre.

Les filaments intermédiaires sont riches en cystéine et forment une sorte de corbeille autour du noyau des cellules épithéliales. Ils sont également liés aux zones de contact intercellulaire (desmosomes), le long des axones et dans le cytoplasme des cellules musculaires lisses. Ils forment une structure extrêmement stable et insoluble qui résiste aux détergents de faible force ionique. Ils sont également appelés cytofilines et leurs fonctions principales sont mécaniques (soutien de la structure cellulaire). Les filaments intermédiaires sont des polymères formés de 4 types de polypeptides fibreux.

9.1.3.3. Principaux types de protéines de filaments intermédiaires

Filament intermédiaire	Polypeptide (masse en kDa)	Localisation
Type I	2 sous-familles de kératines de 40-70 kDa kératine acide kératine neutre ou basique	cellules dérivées de cellules épithéliales et épidermiques (cheveux et ongles)
Type II	Vimentine 53 kDa Desmine 52 kDa	cellules mésenchymales et cellules en culture cellules musculaires
Type III	Protéines gliales 45 kDa Protéines de neurofilaments 130, 100 et 60 kDa	cellules gliales (astrocytes et cellules de Schwann) neurones
Type IV	Lamines nucléaire A, B et C (65-75 kDa)	lamina nucléaire des cellules

Les filaments d'actine, les microtubules, les filaments intermédiaires et leurs protéines associées se rassemblent spontanément pour former un réseau complexe de filaments protéiques qui organisent le contenu du cytoplasme.

Le cytosquelette d'une cellule peut influencer celui des cellules avoisinantes à travers les jonctions intercellulaires et les effets sur la matrice extracellulaire. Les changements de forme de la cellule sont ainsi coordonnés pendant le développement des tissus et des organes.