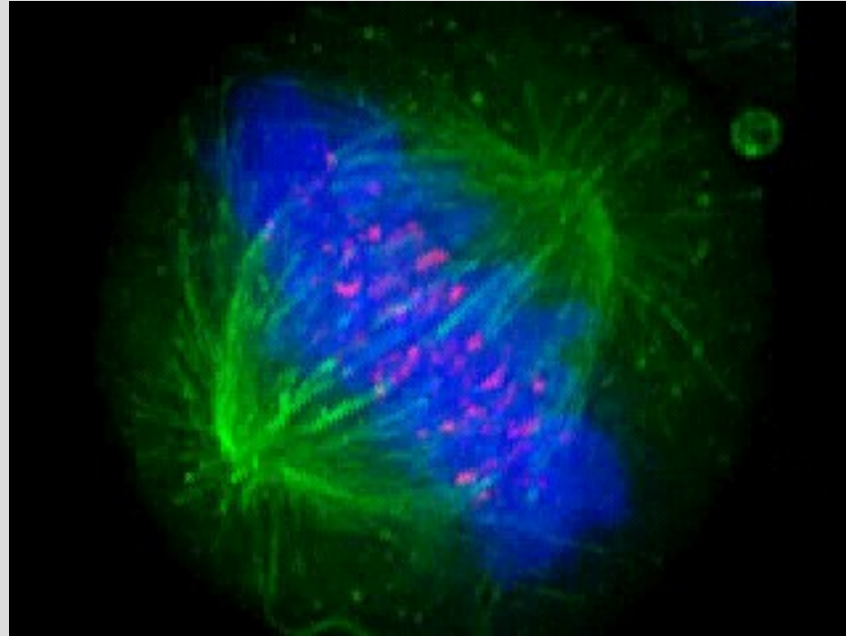


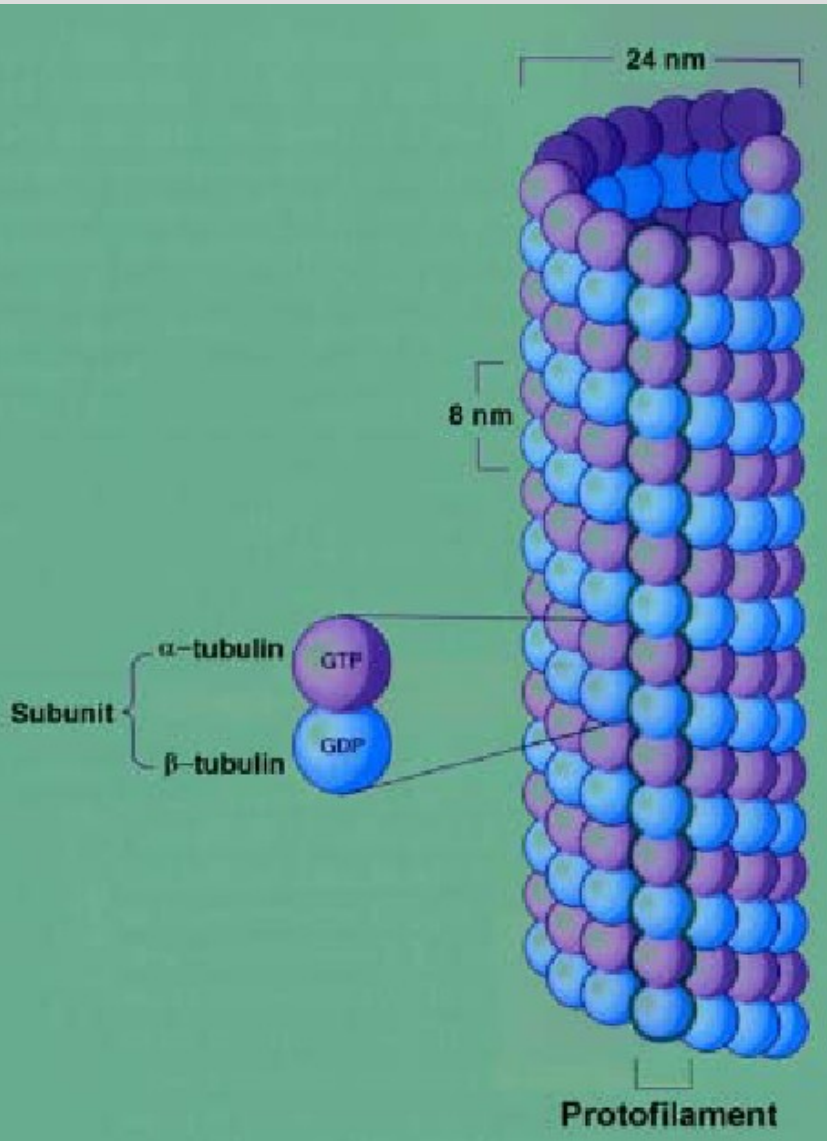
Les microtubules



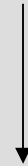
Les microtubules

1. Structure et dynamique
 - 1.1 Dimères de tubuline, fixation de GTP
 - 1.2 Nucléation, polymérisation
 - 1.3 Modifications post-traductionnelles et dynamique *in vivo*
2. Protéines associées aux microtubules
 - 2.1 Protéines de régulation
 - 2.2 Moteurs moléculaires
3. Rôles des microtubules
 - 3.1 Forme et déplacement de la cellule
 - 3.2 Transports et mouvements intracellulaire
4. Exemples de pathologies associées

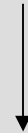
Structure modulaire du microtubule



Monomères de tubuline (α β)

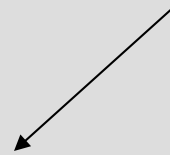


hétérodimères de tubuline



Microtubule

(13 protofilaments)



Fuseaux
mitotiques

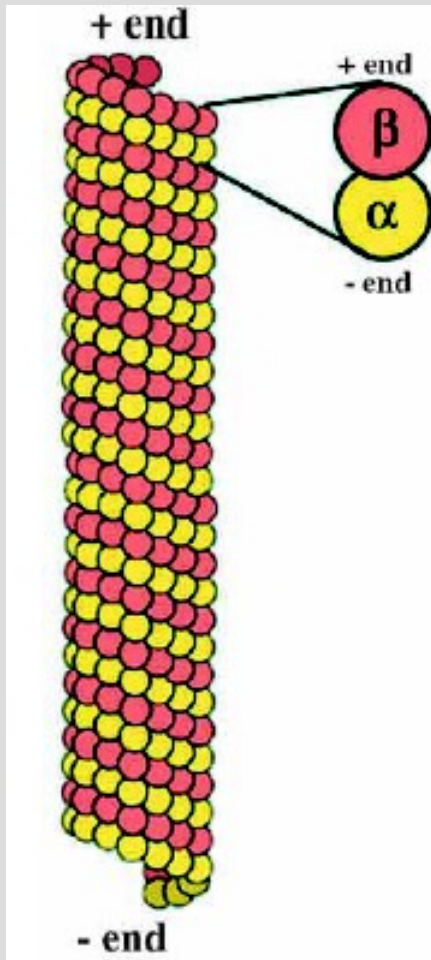


MT +
Autres protéines

Axonème

(9+2 microtubules)

Polarisation du microtubule



Polarisation structurale:

dimères orientés : sous-unité α = extrémité -
sous-unité β = extrémité +

GTP/GDP sur sous-unité β : GTP extrémité + (coiffe)
GDP extrémité -

Polarisation fonctionnelle:

Extrémité - : dépolymérisation rapide

Extrémité +: polymérisation rapide

CONSEQUENCE:

Transports directionnels (vésicules, chromosomes...)
Orientation dans la cellule (polarité cellulaire, fuseau mitotique)

Le dimère de tubuline

Monomère: 3 sous-domaines:

- liaison au GTP (Nter, jaune)
- liaison au drogue (vert)
- liaison aux MAP (Cter, violet)

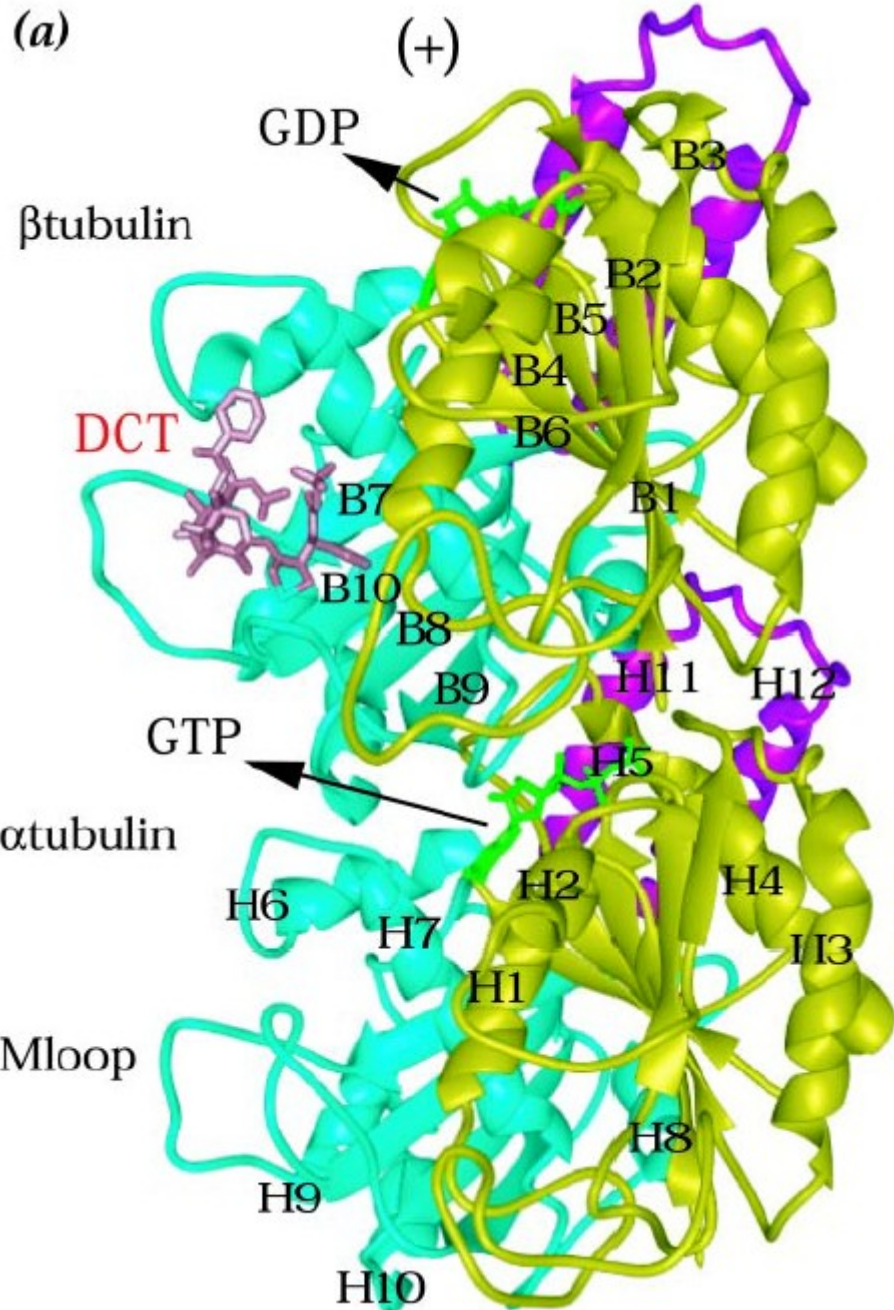
Sous-unité α : extrémité –

GTP non échangeable














Sous-unité β : extrémité +

GTP hydrolysable/GDP

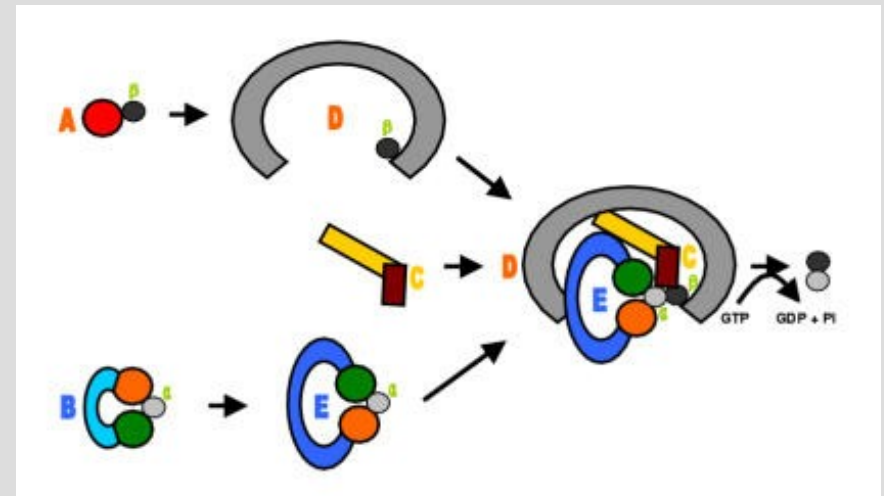
M-loop : interactions avec
protofilament voisin



Formation du dimère de tubuline

Symbol	Structure or predicted structure	Annotation
		Full structure of cofactor A (PDB: 1H7C)
		HEAT region of cofactor D
	coiled-coil	The linking region of cofactor B
		Ubiquitin-like domain in cofactors B and E
		CAP-Gly domain in cofactors B and E. Figure represents the only example from <i>C. elegans</i> (PDB: ILPL).
		Leucine Rich Repeats in cofactor E
		Spectrin-like domain in cofactor C

Assemblage des 2 monomères + 2 GTP fait intervenir aux moins 5 protéines (cofacteurs A-E)



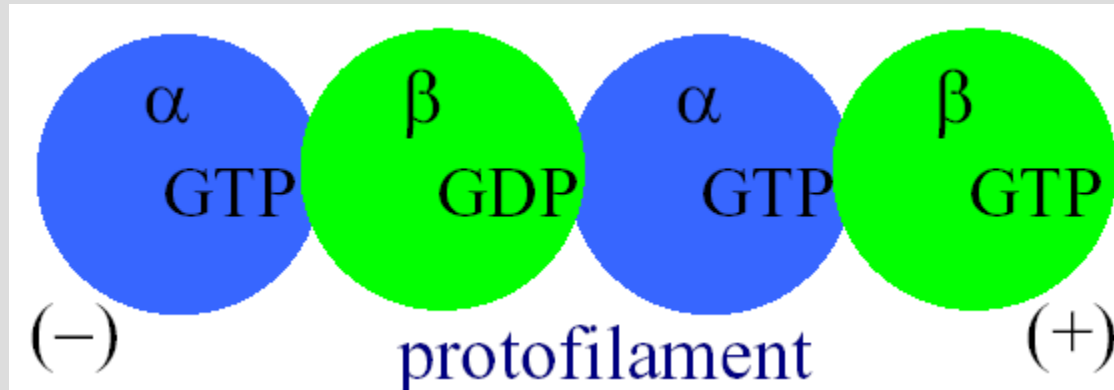
Cofacteurs A et B: participent au repliement (après action des chaperonines)

Supercomplexe C-D-E : dimérisation, activité GAP (pour sous-unité β)

Les microtubules

1. Structure et dynamique
 - 1.1 Dimères de tubuline, fixation de GTP
 - 1.2 Nucléation, polymérisation
 - 1.3 Modifications post-traductionnelles et dynamique *in vivo*
2. Protéines associées aux microtubules
 - 2.1 Protéines de régulation
 - 2.2 Moteurs moléculaires
3. Rôles des microtubules
 - 3.1 Forme et déplacement de la cellule
 - 3.2 Transports et mouvements intracellulaire
4. Exemples de pathologies associées

Polymérisation de la tubuline



Sous-unité α d'un dimère se lie à la sous-unité β du dimère précédent

Induction de l'hydrolyse du GTP (activité GAP de la sous-unité α)

Hydrolyse plus lente que la fixation d'un nouveau dimère : « coiffe de GTP »

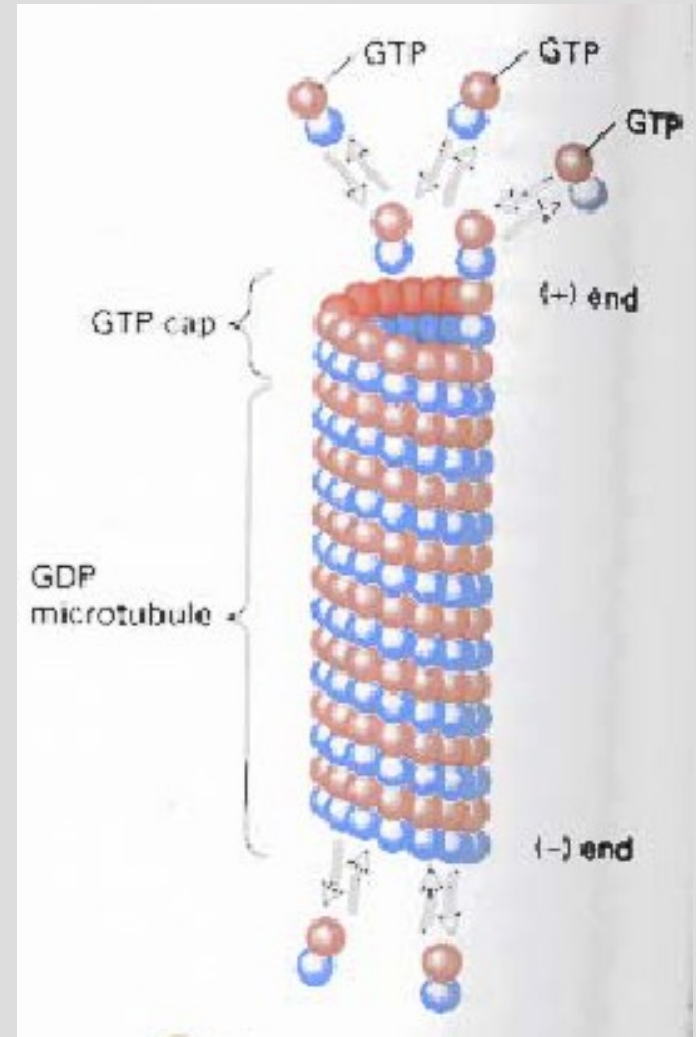
Polymérisation de la tubuline

Sous-unité b liée au GTP :

liaison forte entre les dimères de tubuline
maintient rectiligne des protofilaments
vitesse polymérisation > vitesse dépolymérisation

Sous-unité b liée au GDP :

changement conformationnel
liaison plus faible entre les dimères
courbure des protofilaments si exposée
risque de dépolymérisation rapide

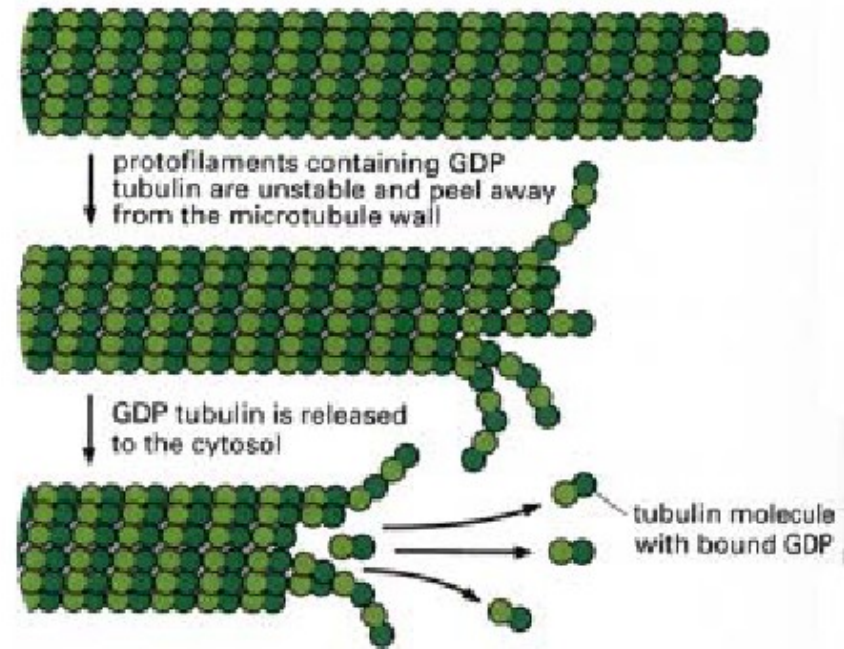
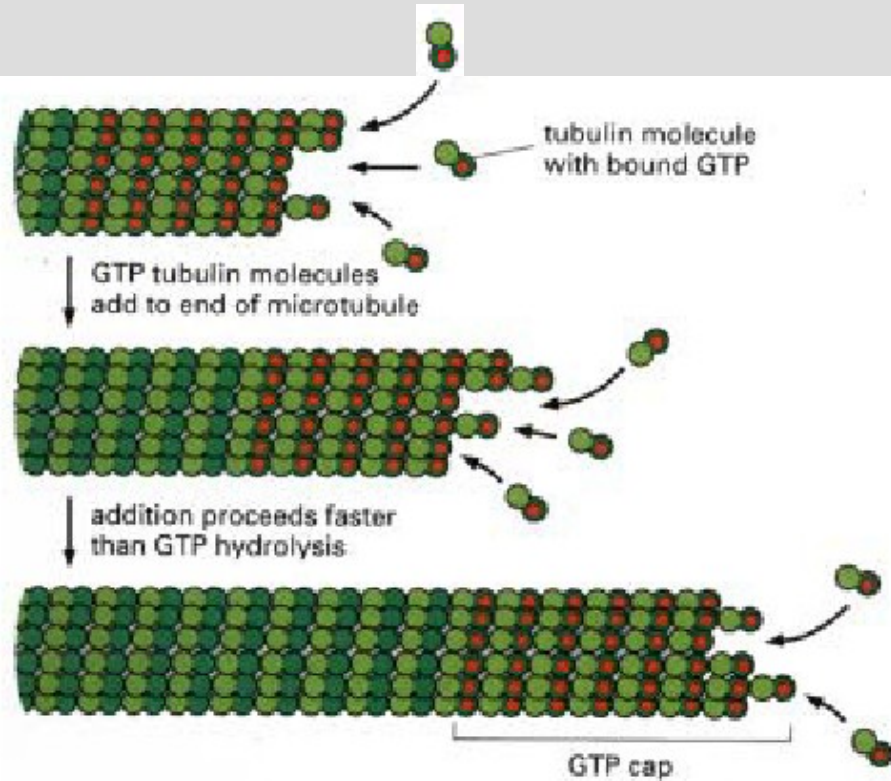


**La coiffe de GTP permet un allongement du MT
Perte de la coiffe = catastrophe (dépolymérisation rapide)**

Instabilité du microtubule

allongement

Dépolymérisation rapide

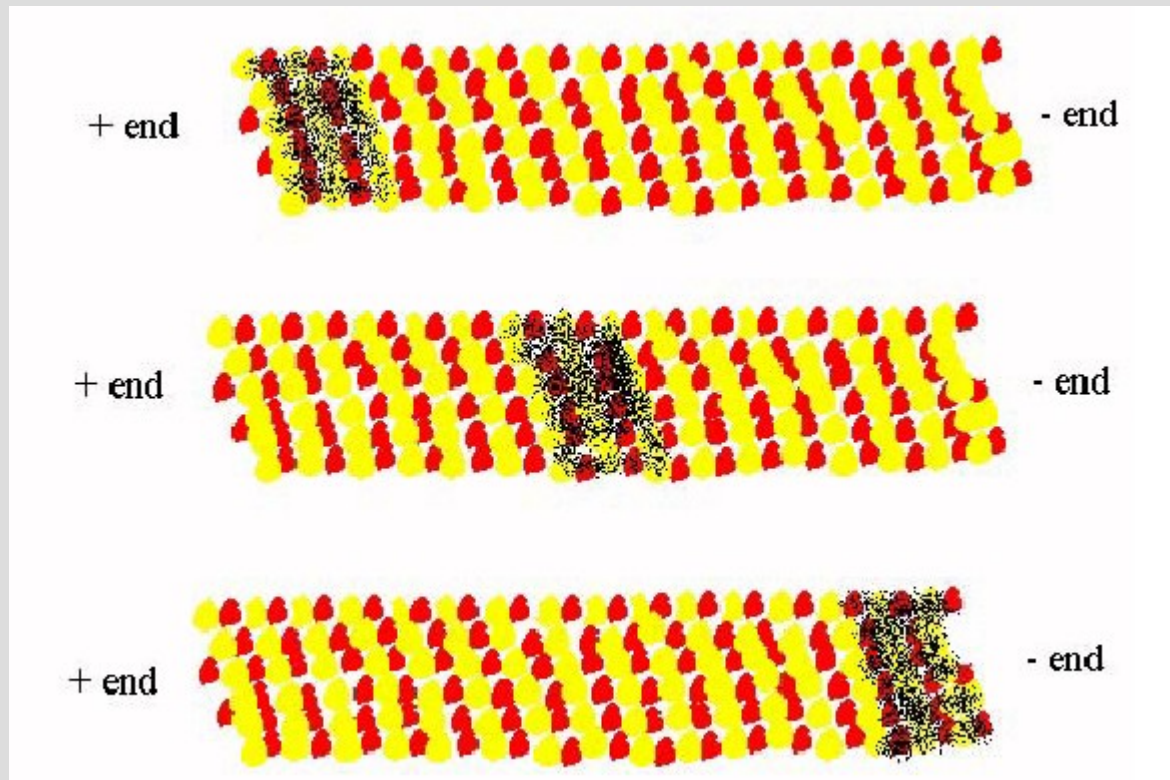


Extrémité + : rôle essentiel de la coiffe de GTP

Video 161

Instabilité du microtubule

Exemple : le « tapis roulant » (threadmilling)



Concentration en tubuline > concentration critique

Addition de dimères en (+) plus rapide que la dépolymérisation en (-)

cf: décoloration au laser

La nucléation

Concentration cellulaire en dimère de tubuline $<$ concentration critique
= pas d'allongement anarchique de microtubule dans la cellule



Allongement du MT impose le blocage de l'extrémité (-)



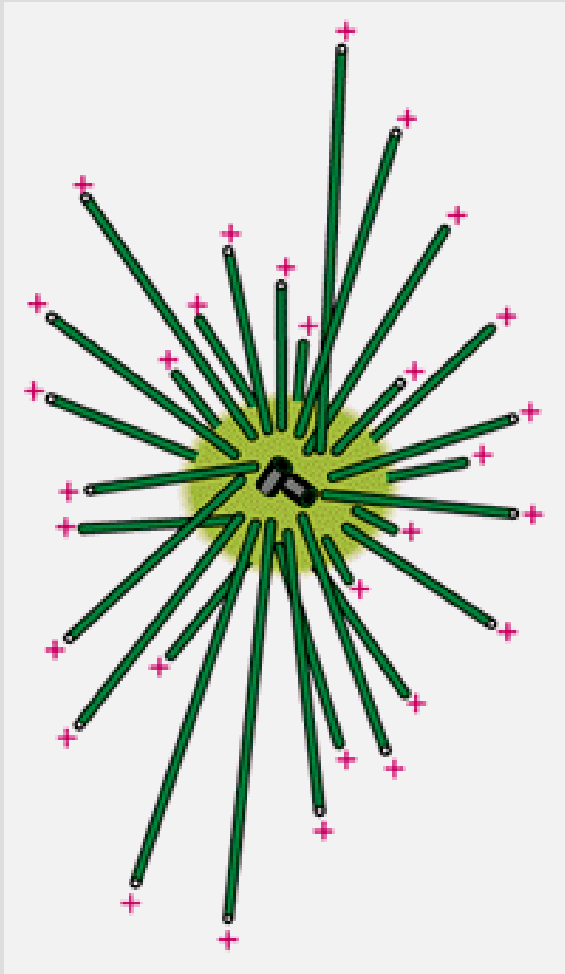
Centre organisateur des MT (MTOC, centrosome) :

Centrioles

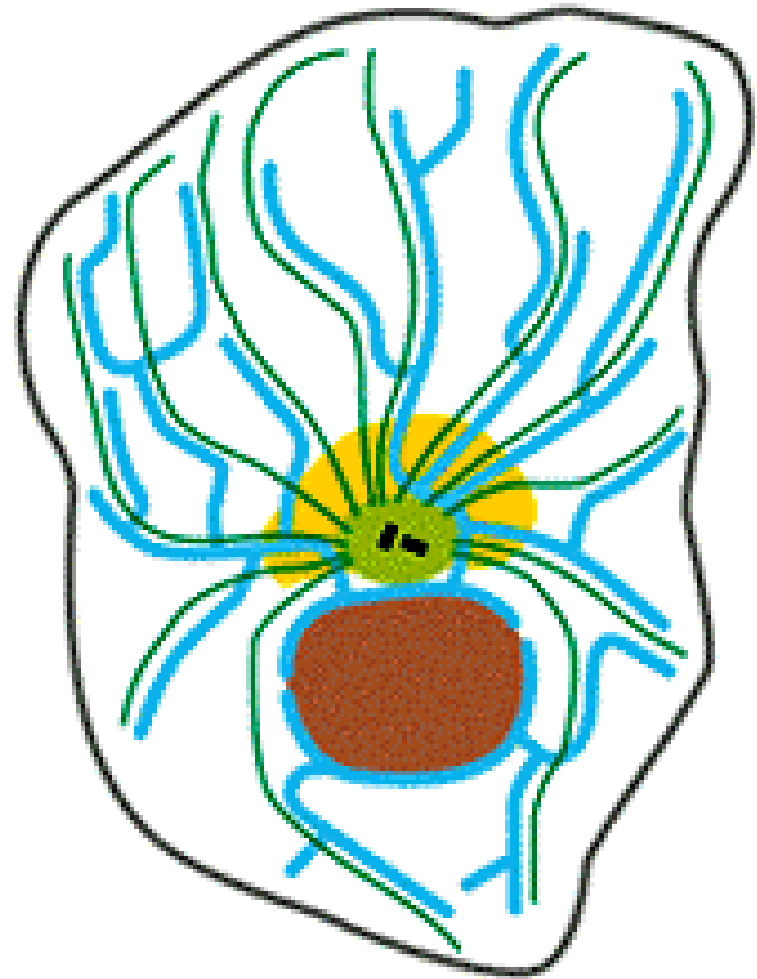
Matériel péri-centriolaire (complexe protéique) contenant les sites de nucléation

Site de nucléation = anneau de tubuline γ

Le centrosome (MTOC)

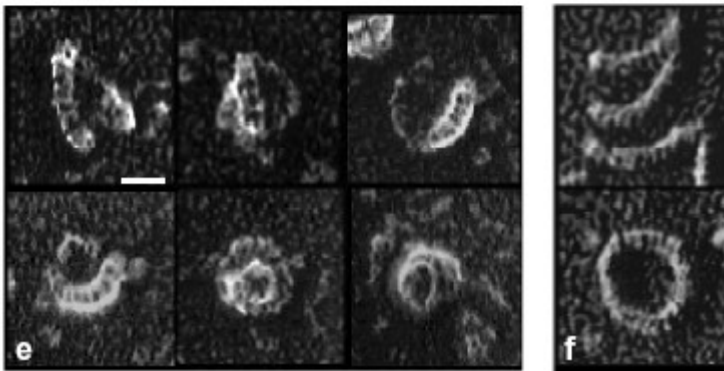
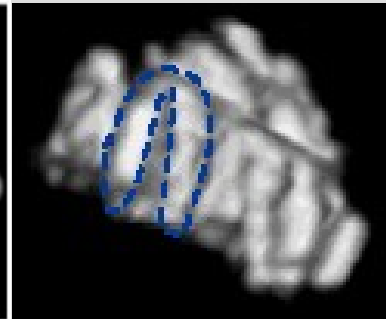
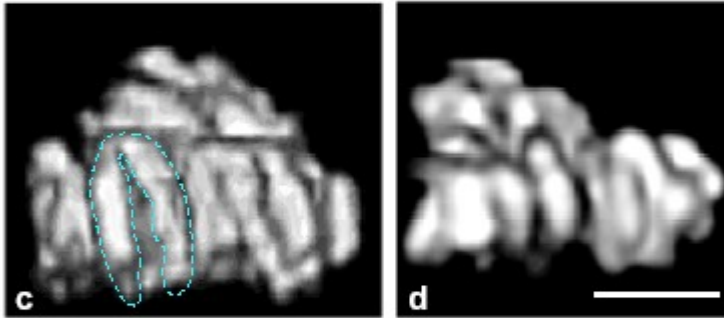
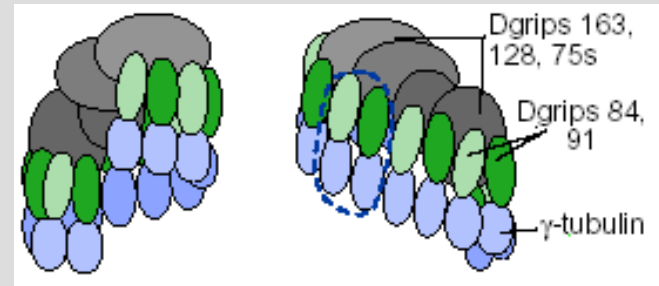
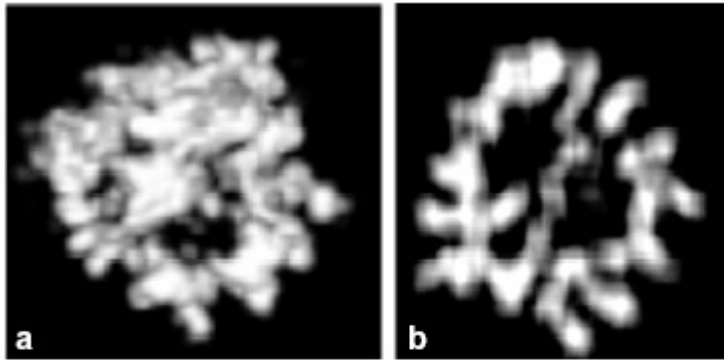


Anaphase :
centrosome périnucléaire
MT occupent le cytoplasme



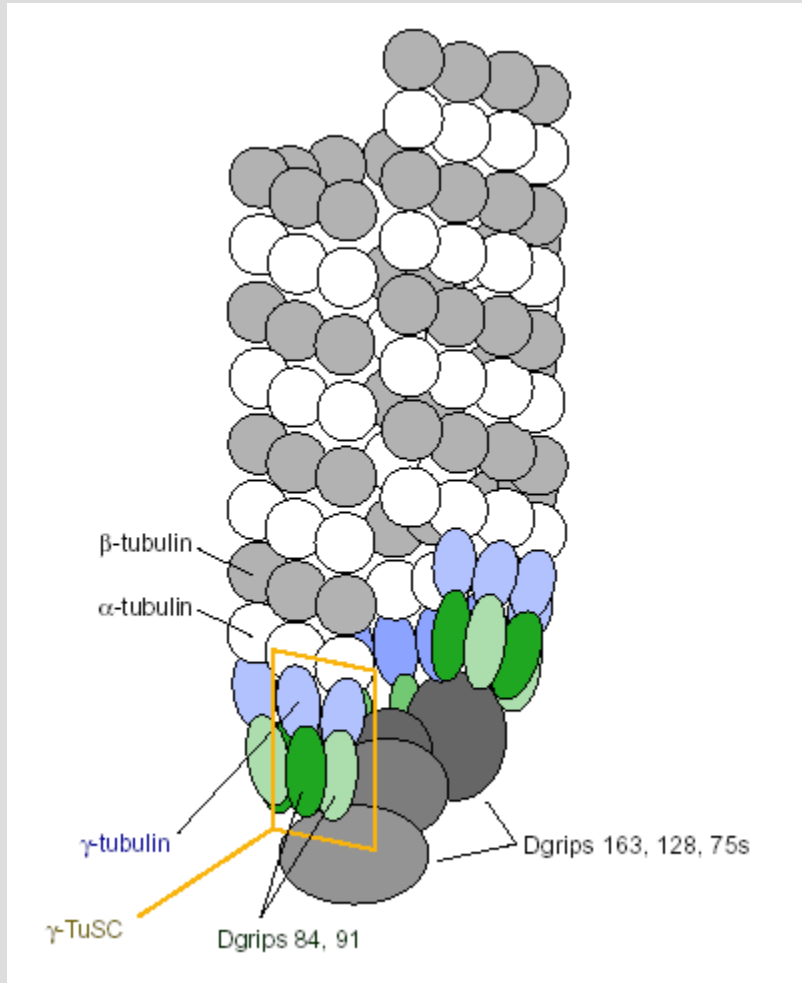
MT
endoplasmic reticulum
Golgi apparatus
nucleus
centrosome

Complexes en anneau de tubuline γ



Site de nucléation :
favorise la polymérisation
fixe l'orientation du MT

Complexes en anneau de tubuline γ



Modèle:

6 petits complexes (γ -TuSC) contenant chacun 2 tubulines γ

12 tubulines γ en contact avec la tubuline α le 13ème protofilament se forme par interaction avec le 12ème et le 1er

Autres protéines dans le complexe

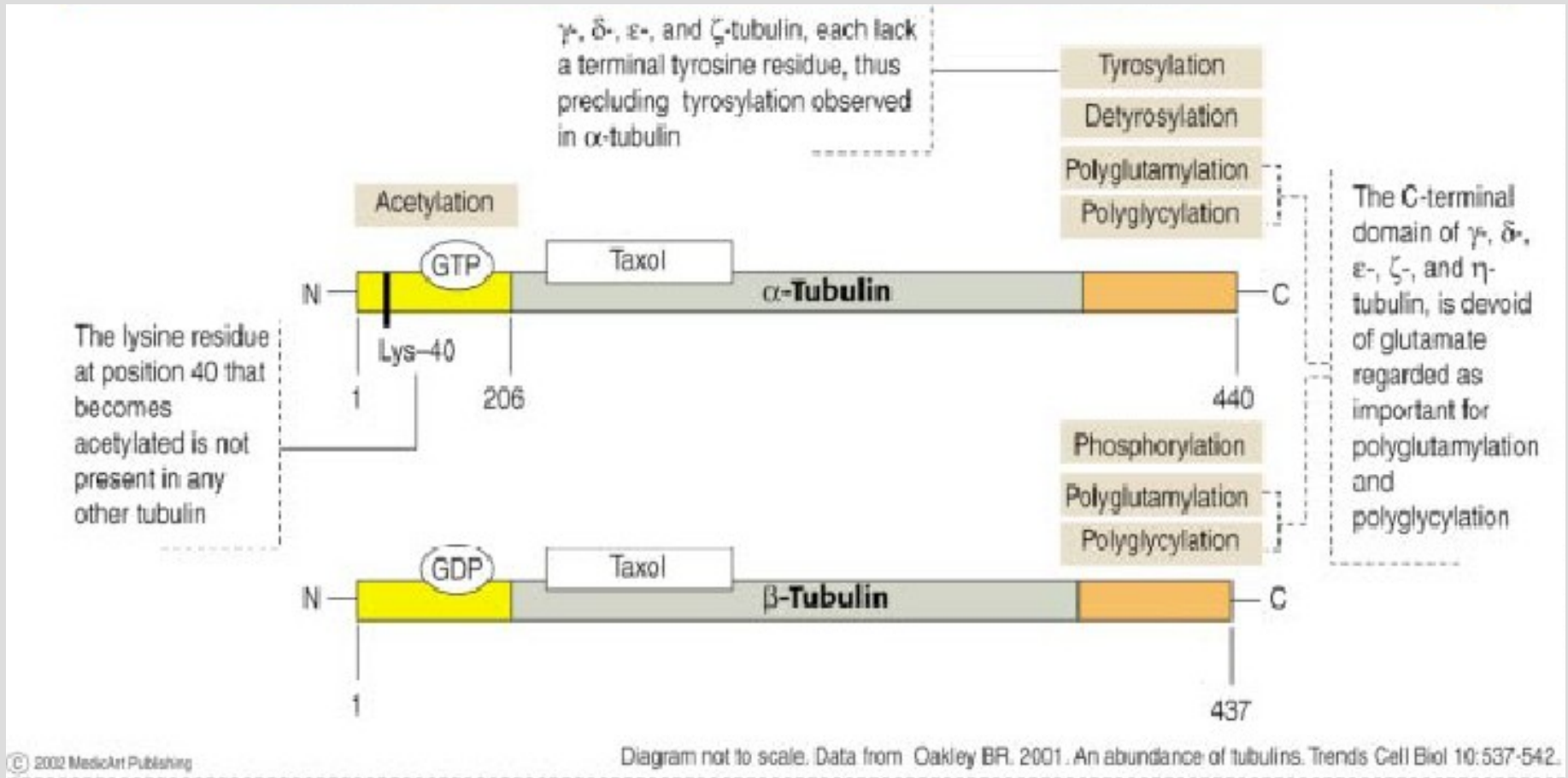
Rem: « +3 start helix » : contact latéraux entre protofilament majoritairement α - β

Diversité des tubulines

α - and β -Tubulin	A heterodimeric protein complex found in all microtubules. α - and β -Tubulin have an identical molecular mass (50 kDa).
γ -Tubulin	It is required for microtubule assembly at the microtubule-organizing center (centrosome, basal body, and spindle pole body [fungi]). Discovered as the product of the <i>mipA</i> gene of <i>Aspergillus nidulans</i> . It shares 29-35% amino acid identity with α - and β -tubulin. Present in all eukaryotes.
δ -Tubulin	Found in the perinuclear ring region of the manchette, and the C-tubule in <i>Paramecium</i> basal bodies. Discovered in <i>Chlamydomonas</i> , and identified in humans, mice, rats, and trypanosomes. It is not present in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> , and <i>Caenorhabditis elegans</i> .
ϵ -Tubulin	Found in the centrosome in a cell cycle-dependent manner. Found in humans and trypanosomes, but not in <i>S. cerevisiae</i> , <i>D. melanogaster</i> , or <i>C. elegans</i> .
ζ -Tubulin	Found in the basal body from <i>Trypanosoma brucei</i> and <i>Leishmania major</i> , and the centriolar region of some animal cells.
η -Tubulin	Undetermined localization. Found in <i>Paramecium</i> η -tubulin mutants lacking microtubules from basal body triplets. Encoded by the <i>SM19</i> gene.
FtsZ	Originally detected as a bacterial cell division protein with a weak sequence homology to tubulin. Found in bacteria, some of the Archaea, chloroplasts, and some mitochondria.

Tubuline α et β dans les microtubules
Autres tubulines dans structures particulières (centrosome...)

Diversité des tubulines



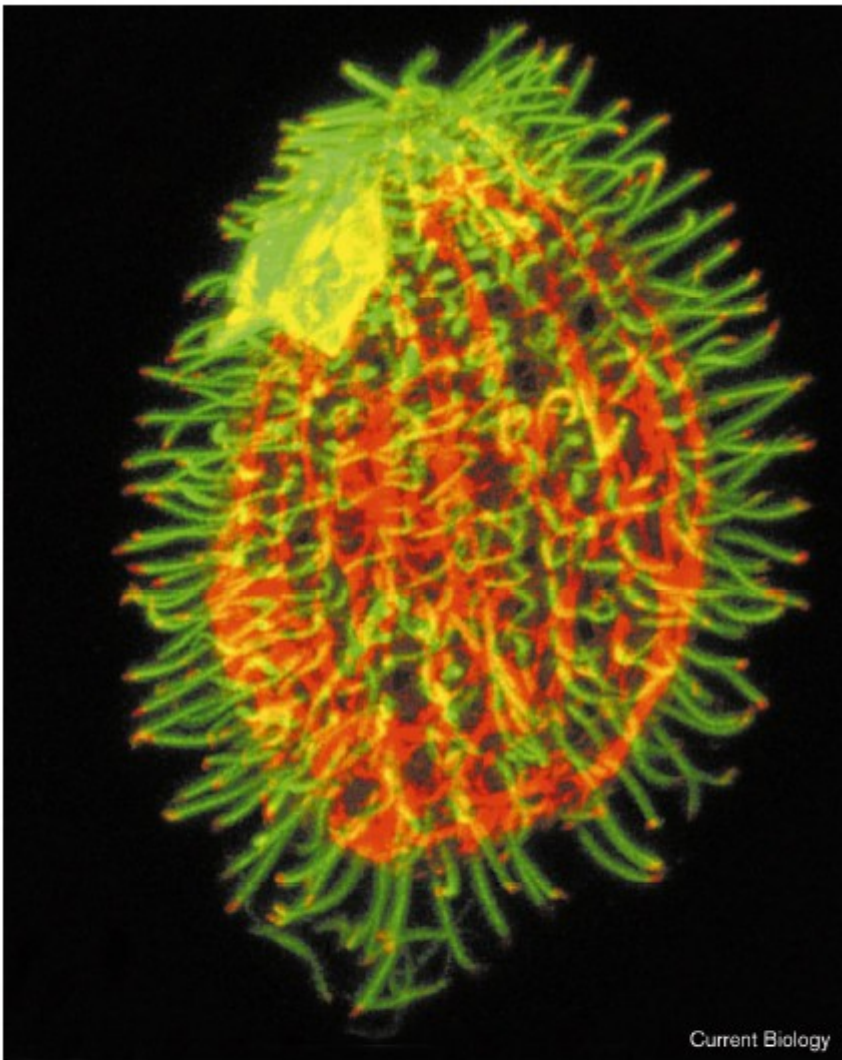
Polyglutamylation : 1-6 glutamates
Polyglycylation : 3-40 glycines
Cycles tyrosylation/détyrosylation

**Modifications post-traductionnelles
augmentent la diversité des tubulines**

Diversité des tubulines

**Les tubulines modifiées peuvent avoir des localisations particulières : axonème, centriole, cils...
Ex: centriole contient tubuline polyglu**

Ces modifications semblent essentiellement modifier les interactions avec les autres protéines (moteurs moléculaires, stabilisation...)



A *Tetrahymena* cell doubly labeled by general anti-tubulin antibodies C140 (red) [23] and anti-polyglycylated tubulin antibodies AXO 49 (green) [24]. The polyglycylated tubulins are seen to be restricted to oral and locomotory cilia, with the exception of the distal tips of cilia, where the addition of new ciliary subunits is known to take place (image courtesy Jacek Gaertig and Marie-Helene Bré).

Les microtubules

1. Structure et dynamique

1.1 Dimères de tubuline, fixation de GTP

1.2 Nucléation, polymérisation

1.3 Modifications post-traductionnelles et dynamique *in vivo*

1. Protéines associées aux microtubules

2.1 Protéines de régulation

2.2 Moteurs moléculaires

3. Rôles des microtubules

3.1 Forme et déplacement de la cellule

3.2 Transports et mouvements intracellulaire

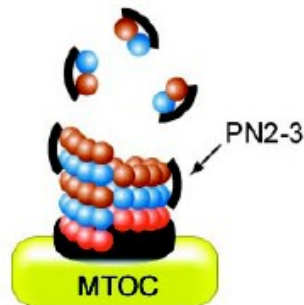
4. Exemples de pathologies associées

Les protéines associées aux microtubules: MAP

Protéines déstabilisatrices :

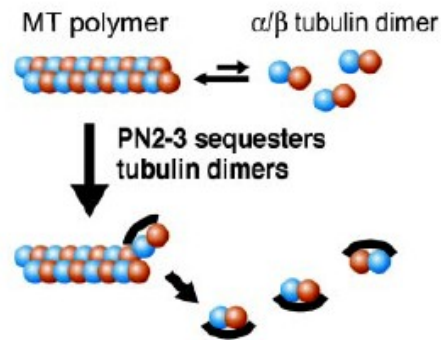
- coupure du microtubule (ex: katanin) créant de nouvelles extrémités
- déclenchent hydrolyse du GTP en (+) : perte de la coiffe
- séquestration des dimères

(A) The capping model

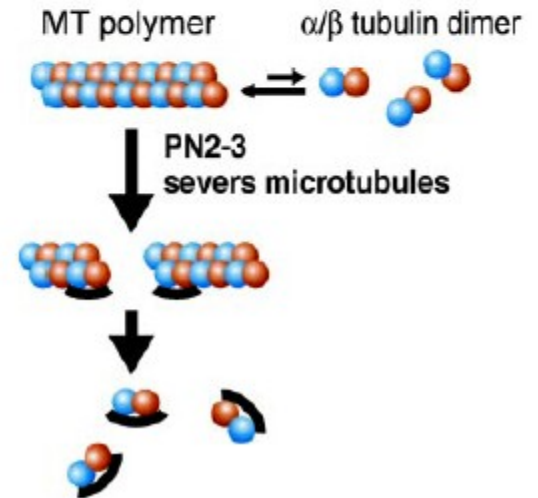


PN2-3 caps the plus end of microtubules

(B) The sequestering model



(C) The severing model



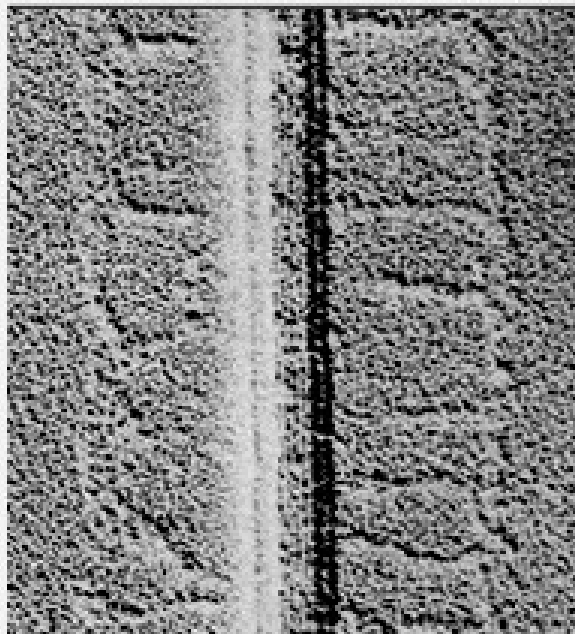
Nombreuses protéines de déstabilisation interviennent au cours du cycle

Régulation par d'autres protéines (kinase, phosphatase...)

Les protéines associées aux microtubules: MAP

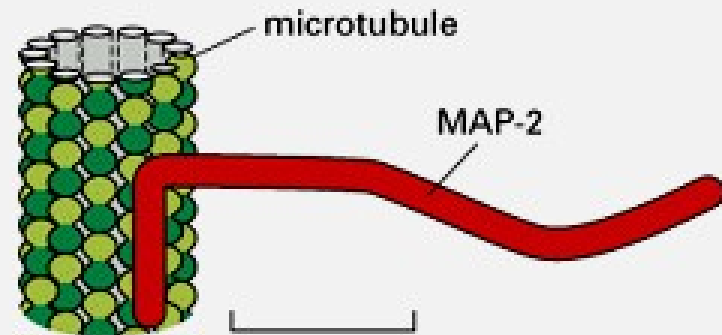
Protéines stabilisatrices:

- inhibent la dépolymérisation
- peuvent lier les MT en faisceaux réguliers
- liaisons avec autres composants du cytosquelette, membranes etc



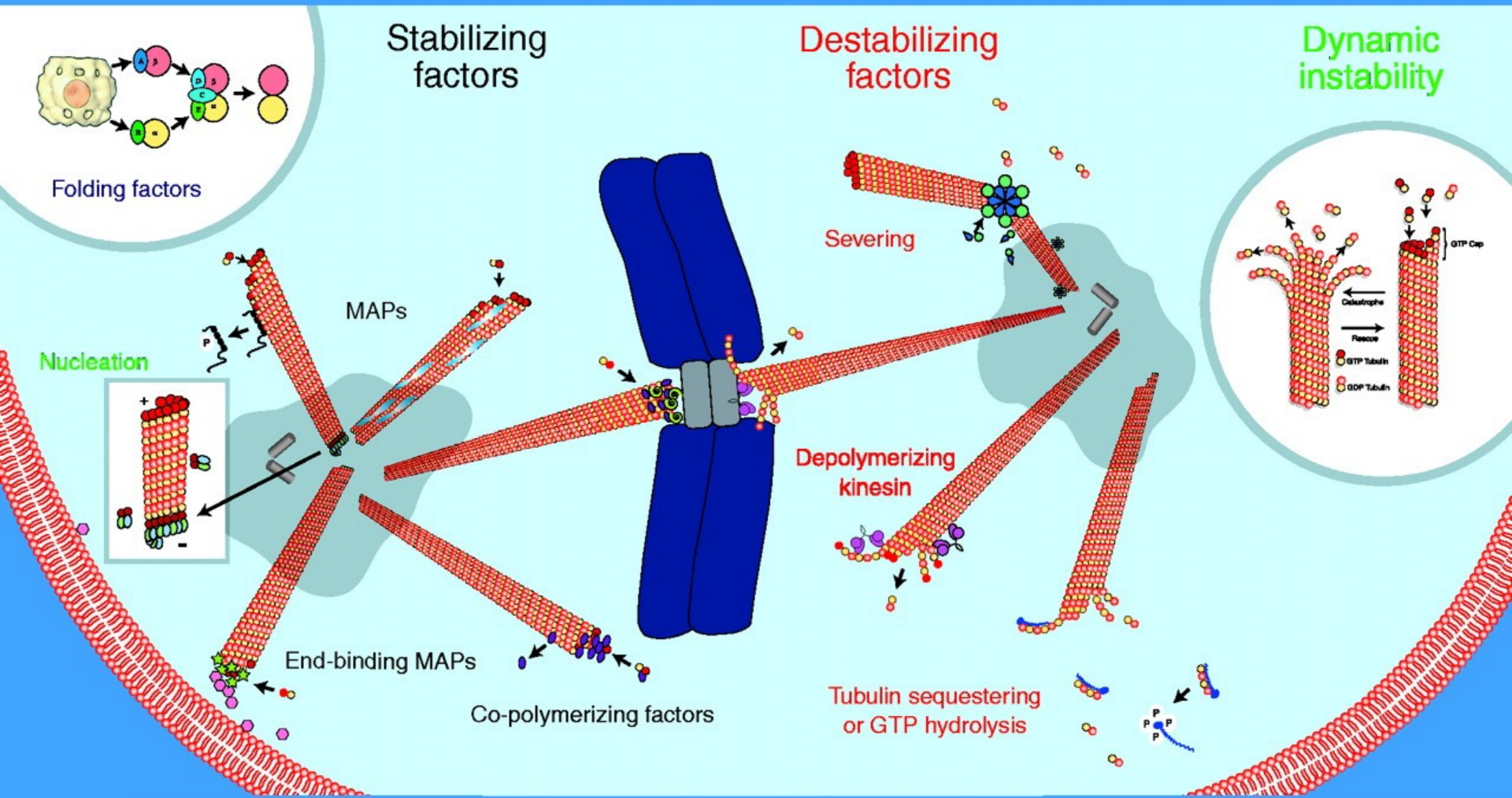
(A)

100 nm



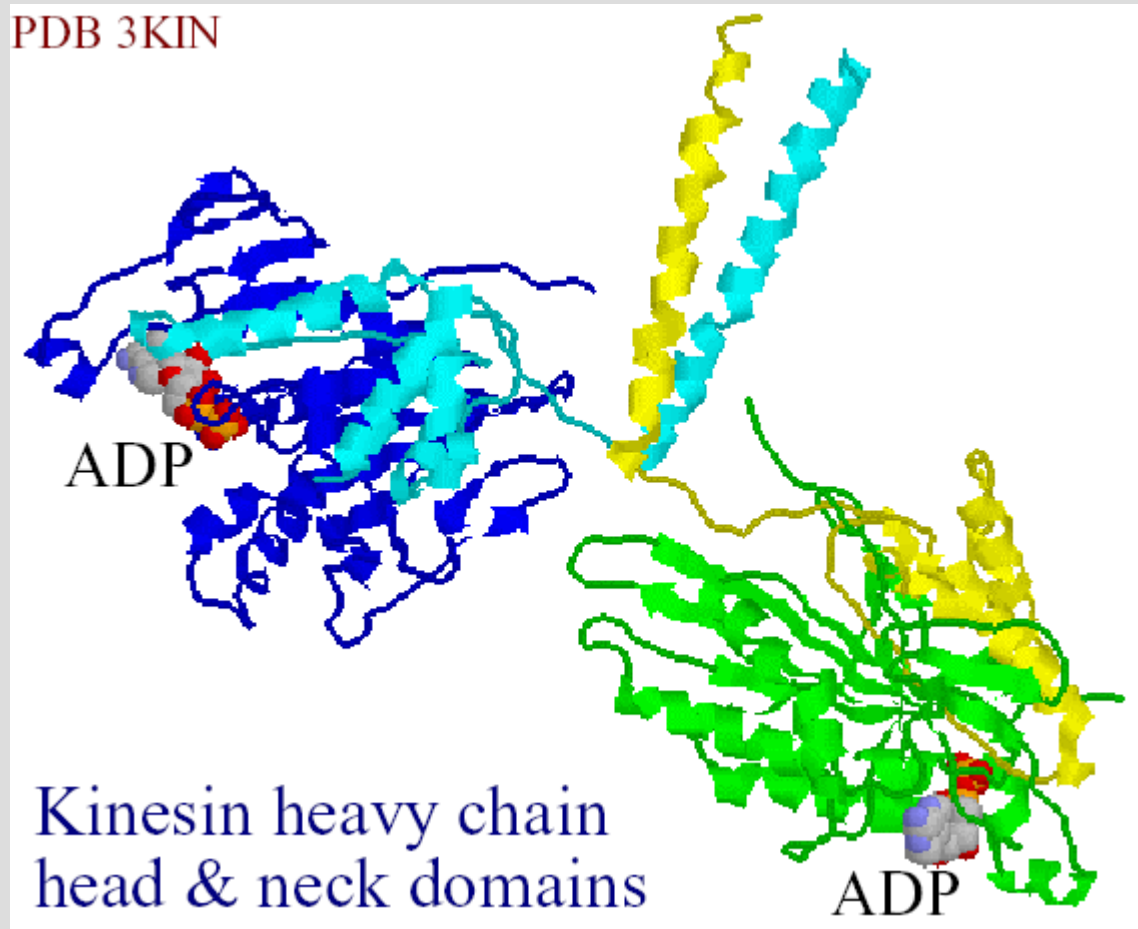
(B)

25 nm



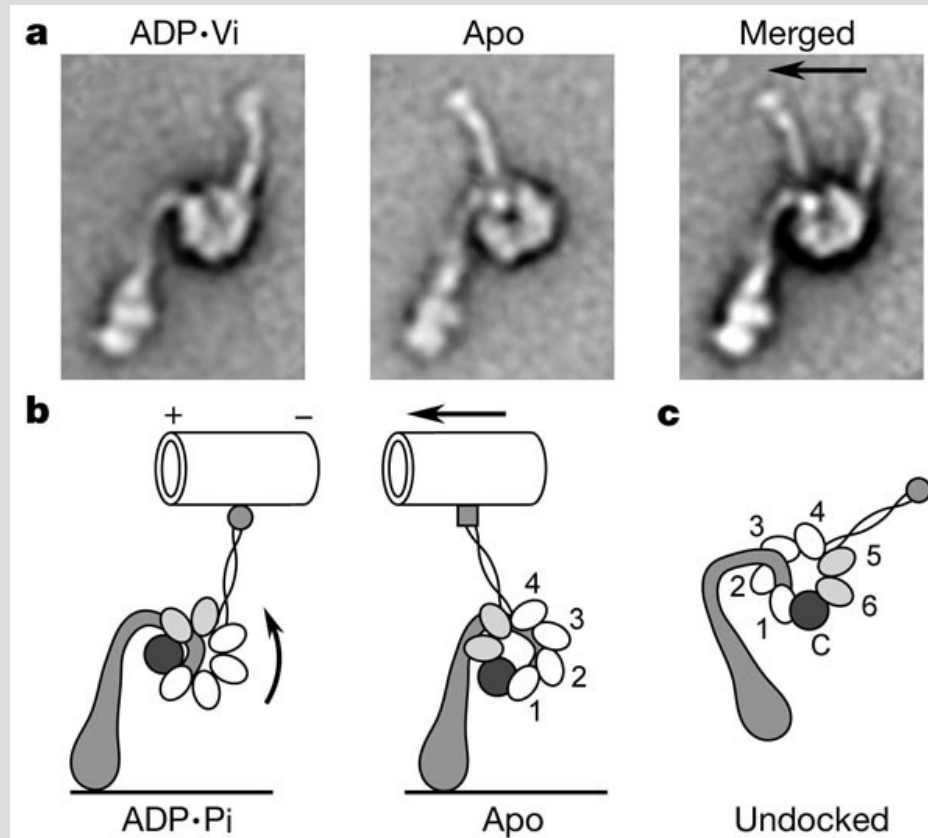
Les moteurs moléculaires

Kinésines et dynéines

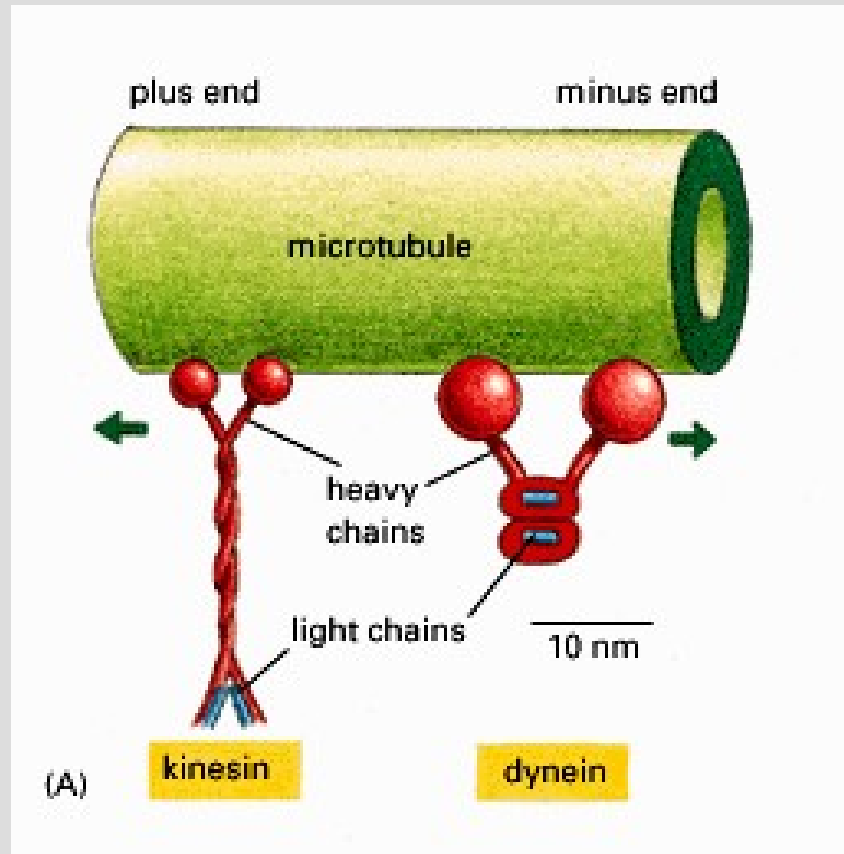


Protéines ATPases (énergie), dimères (processivité)

Mouvement par changement conformationnel



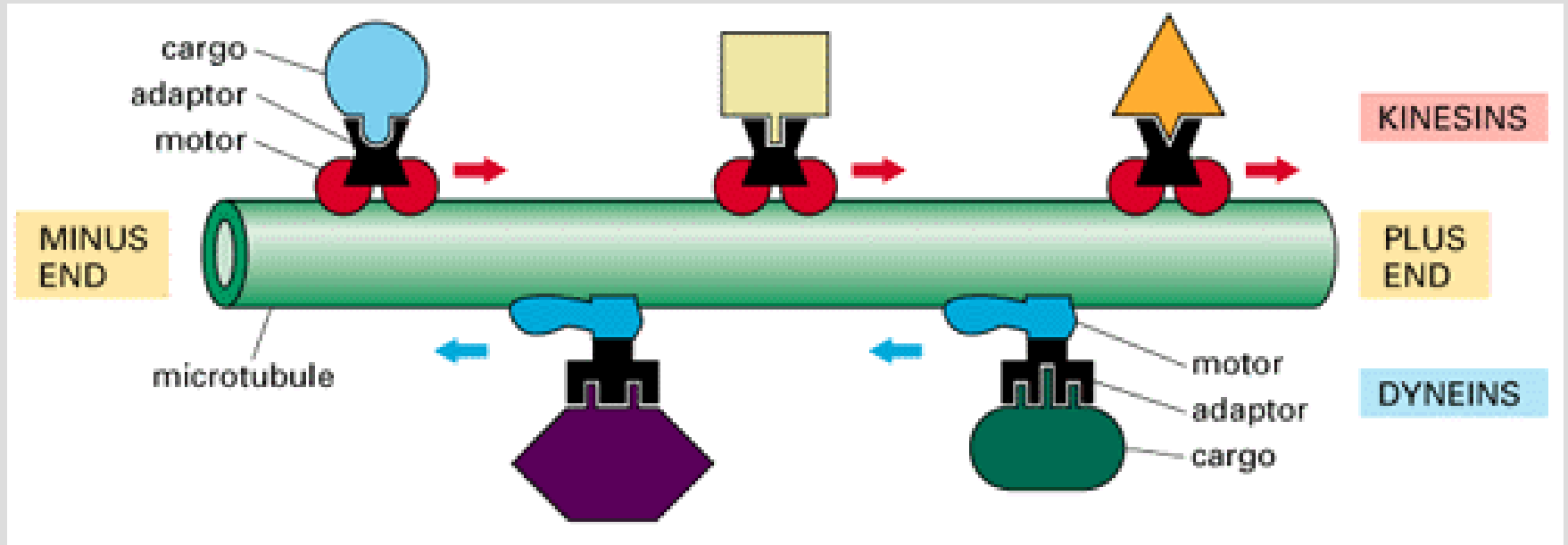
Les moteurs moléculaires



Dynéines: vers le (-)
Kinésines: vers le (+)

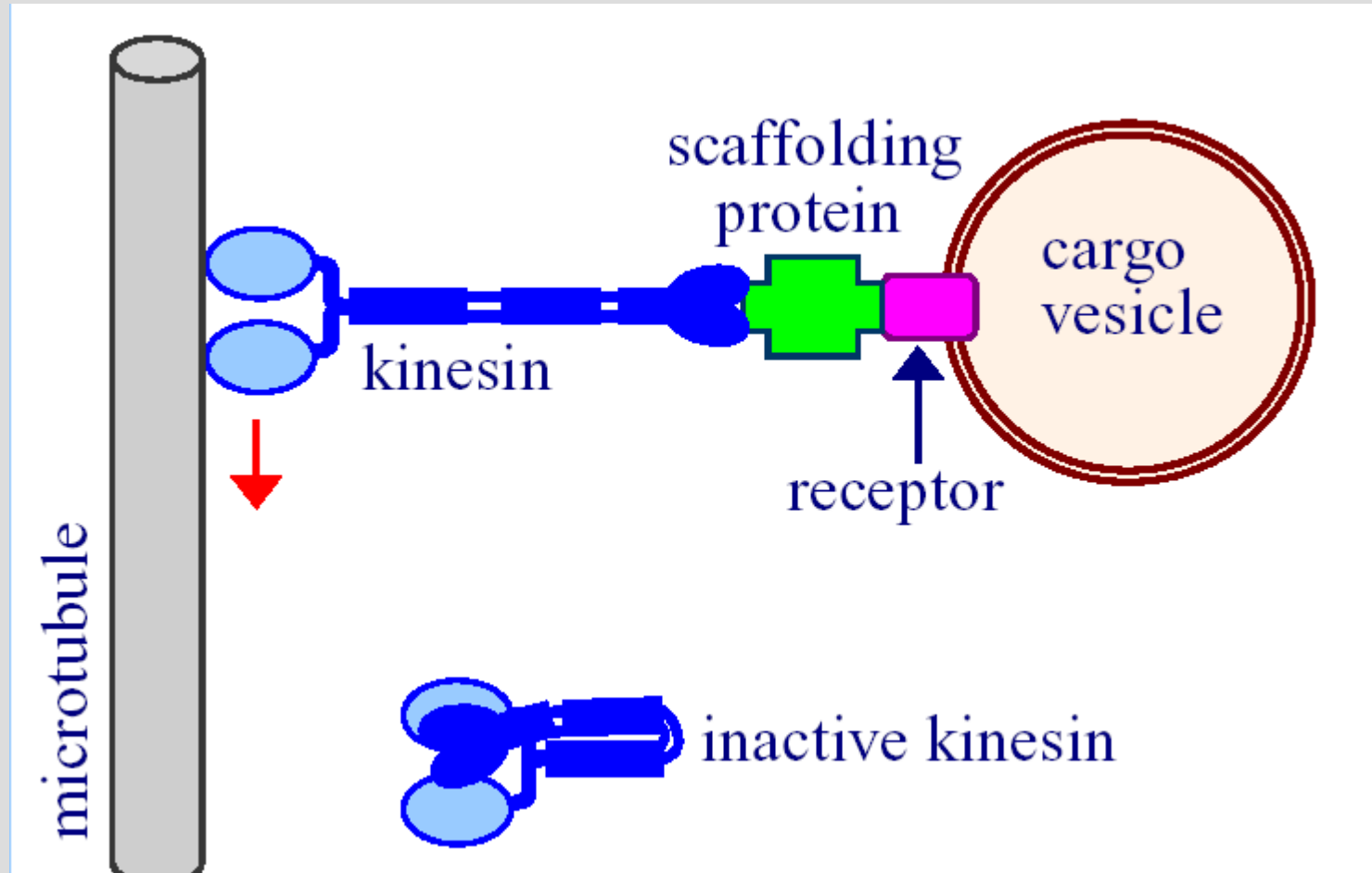
Vidéo 167

Adaptateurs: plusieurs objets transportés par un seul moteur



**Ex des kinésines: actives seulement si cargo+adapateur sont fixés
(évite le transport à vide)**

Adaptateurs: plusieurs objets transportés par un seul moteur



Les microtubules

1. Structure et dynamique

1.1 Dimères de tubuline, fixation de GTP

1.2 Nucléation, polymérisation

1.3 Modifications post-traductionnelles et dynamique *in vivo*

1. Protéines associées aux microtubules

2.1 Protéines de régulation

2.2 Moteurs moléculaires

3. Rôles des microtubules

3.1 Forme et déplacement de la cellule

3.2 Transports et mouvements intracellulaire

Exemples de pathologies associées

Rôle de l'instabilité dynamique

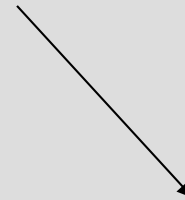
A partir des MTOC , les MT s'allongent et disparaissent en permanence



Exploration aléatoire de l'ensemble de l'espace



Stabilisation sélective en fonction
des MAP présentes



déstabilisation sélective en fonction
des MAP présentes

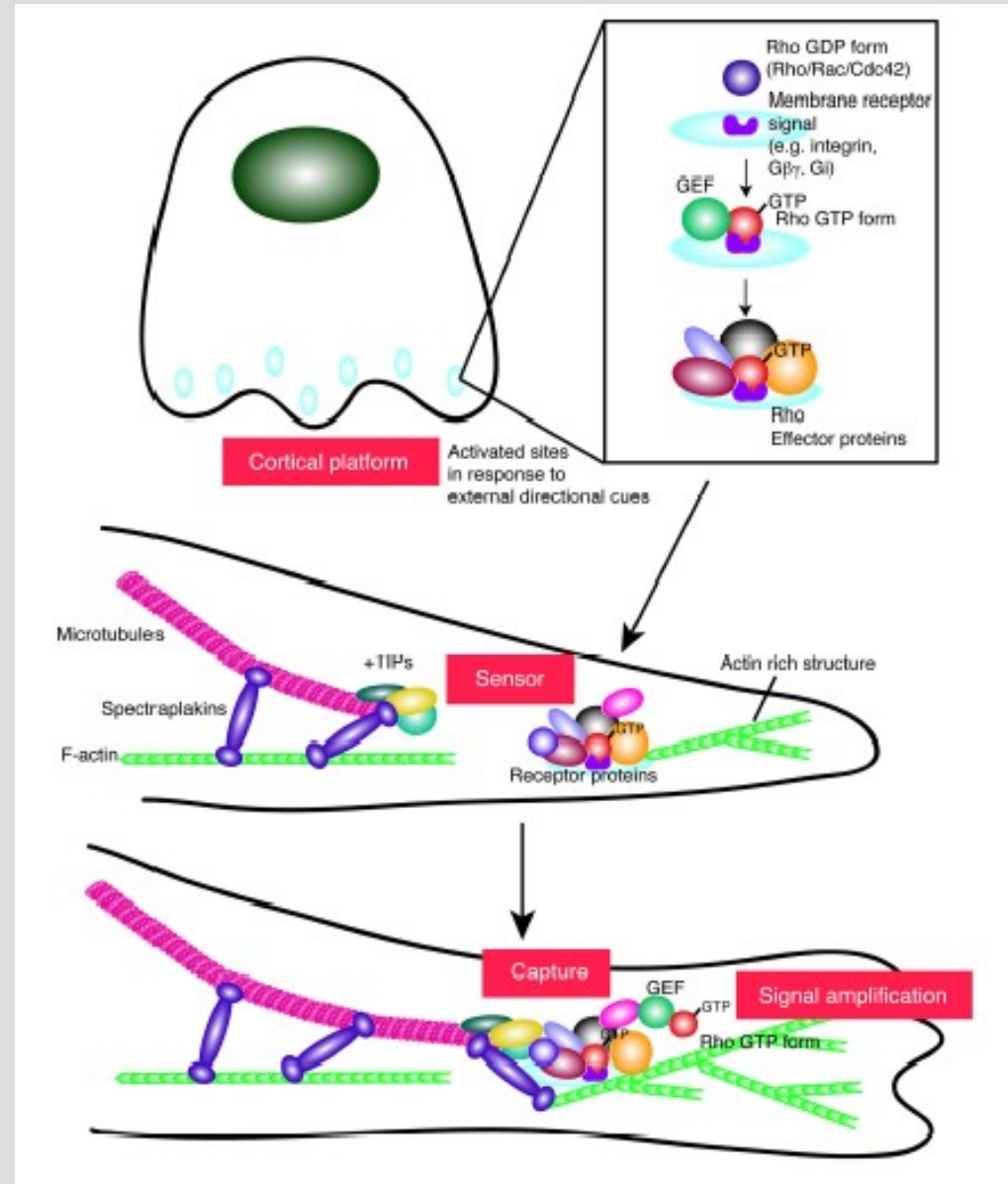
Vidéo 163

Déplacement cellulaire

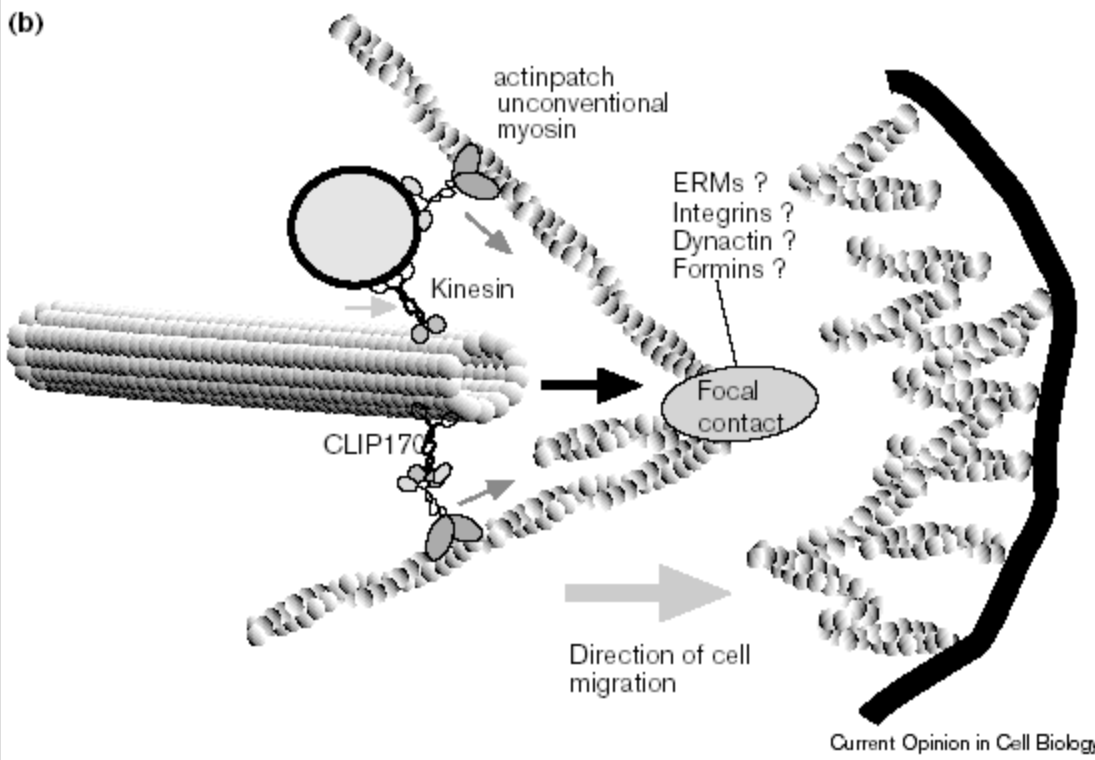
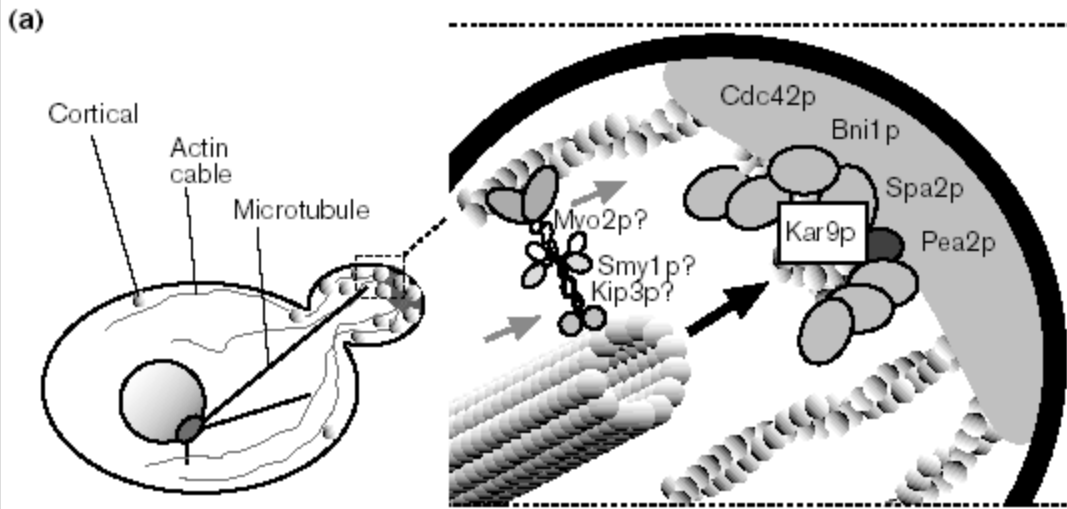
Interventions de tout le cytosquelette
(protéines de liaison: spectraplakines)

MT stabilisés par protéines de
liaison à (+) (+TIPs)

Allongement MT en réponse à
signal externe

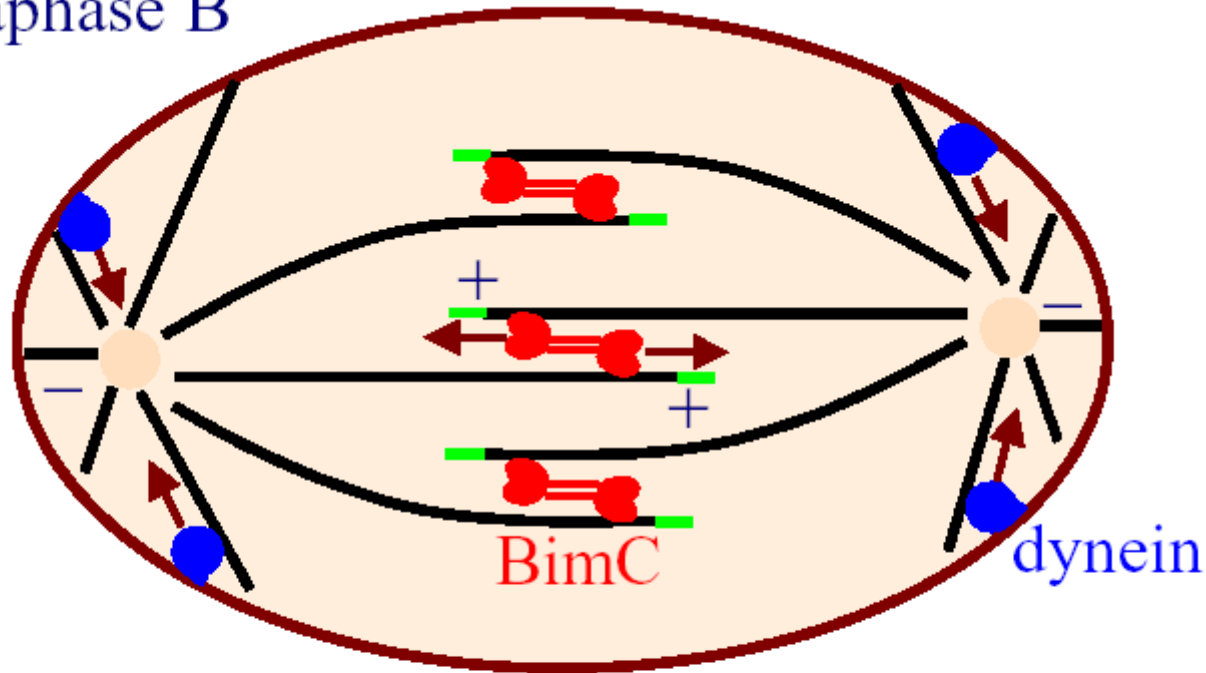


Déplacement cellulaire



Le fuseau mitotique

Anaphase B



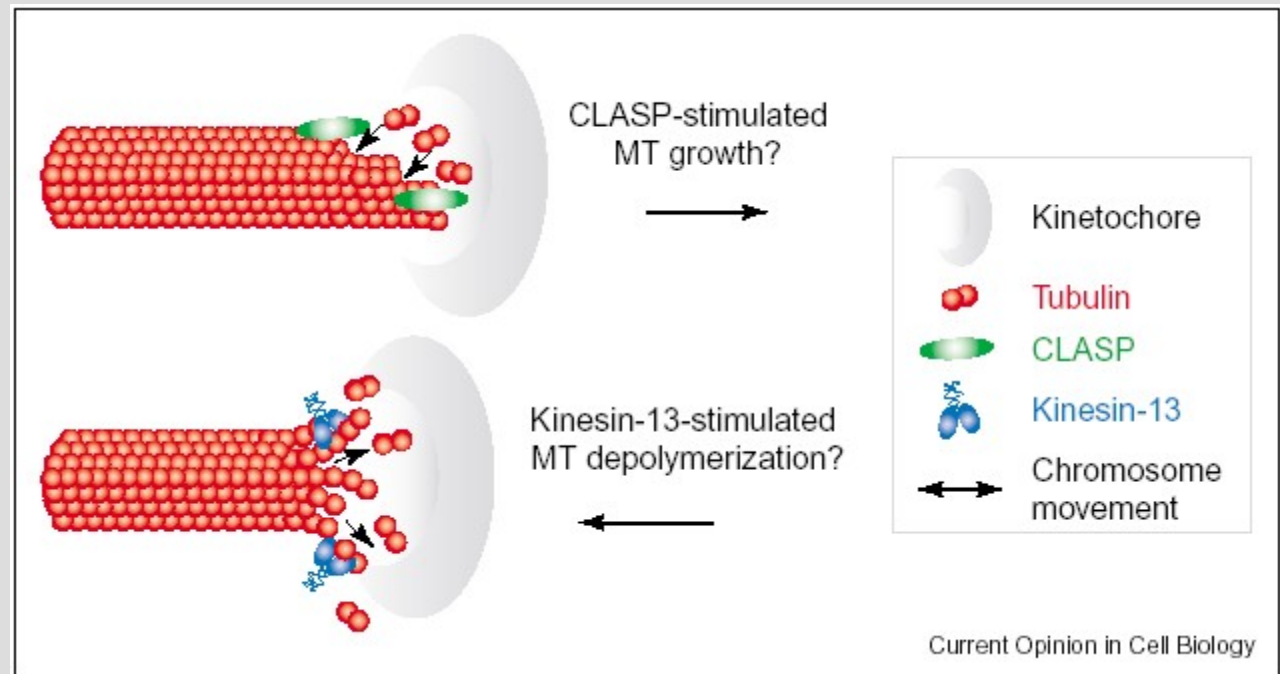
BimC mediates sliding of polar microtubules;
dynein pulls asters to membrane; **tubulin**
dimers add at plus ends of polar microtubules.

Appareil mitotique: ensemble complexe de protéines dont l'action est coordonnée
Centrioles transportés aux pôles, les chromosomes en plaques puis séparation

Mouvements des chromosomes lors de la mitose

**Positionnement en
plaque métaphasique**

**Séparation et
migration aux pôles**

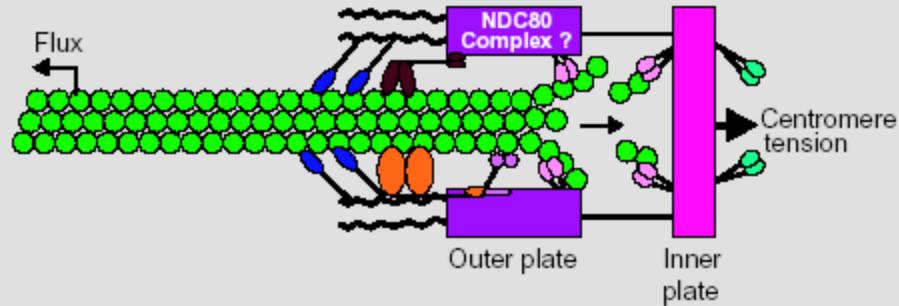


Mouvements des chromosomes lors de la mitose

B Kinetochore Bi-Stability

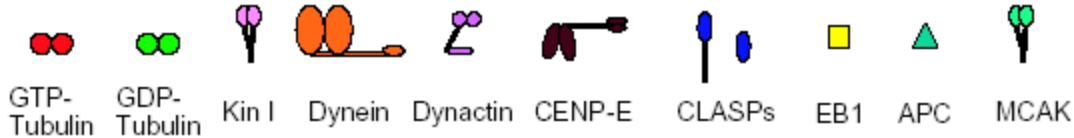
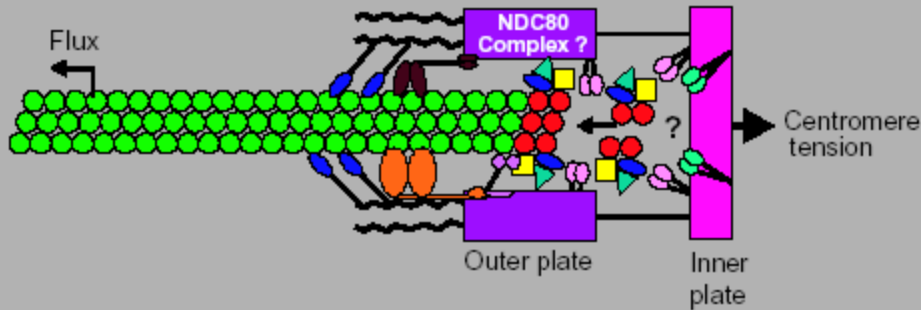
Lower Tension

Depolymerisation state - Force generating



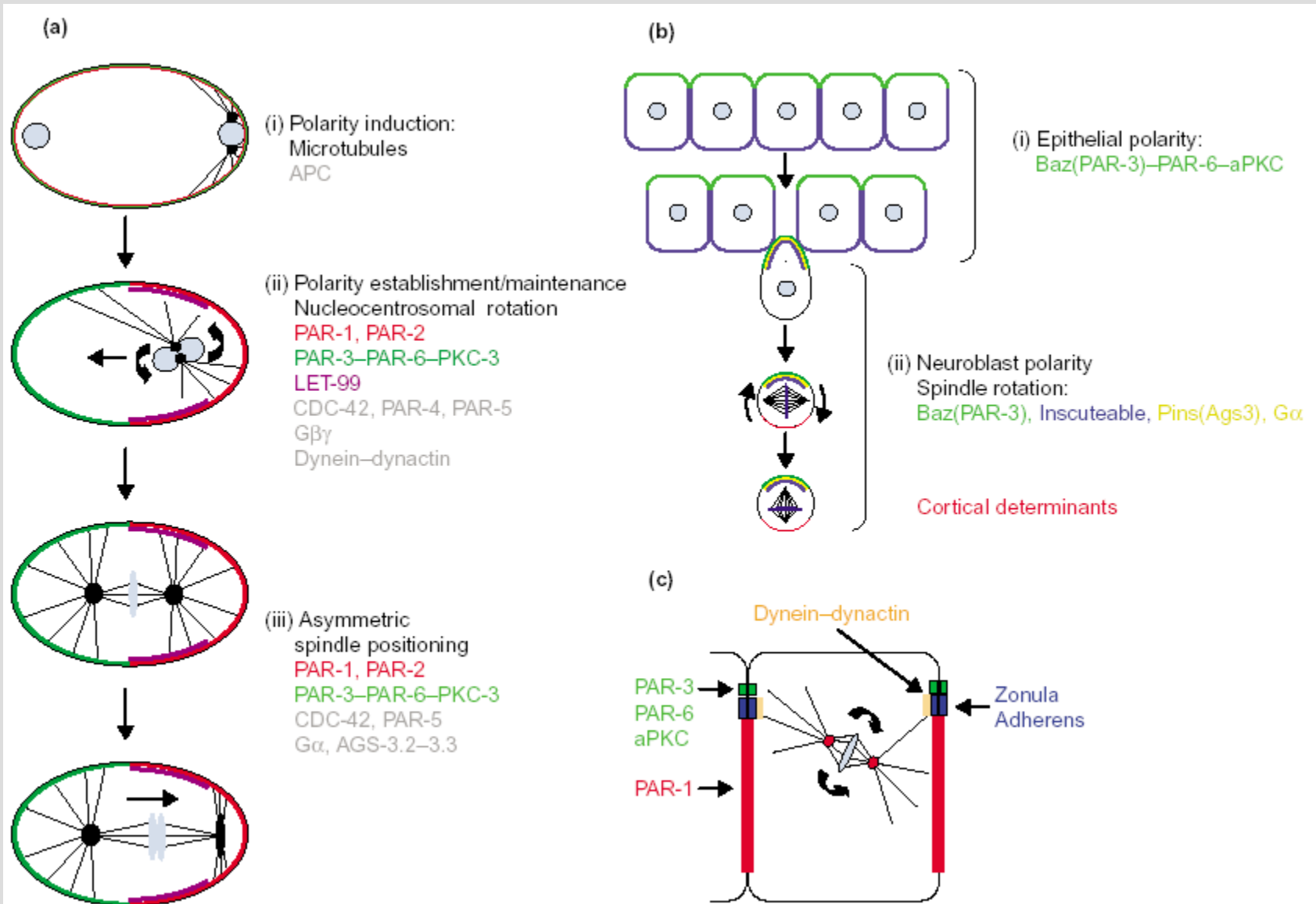
Higher Tension

Polymerisation state - Resistive

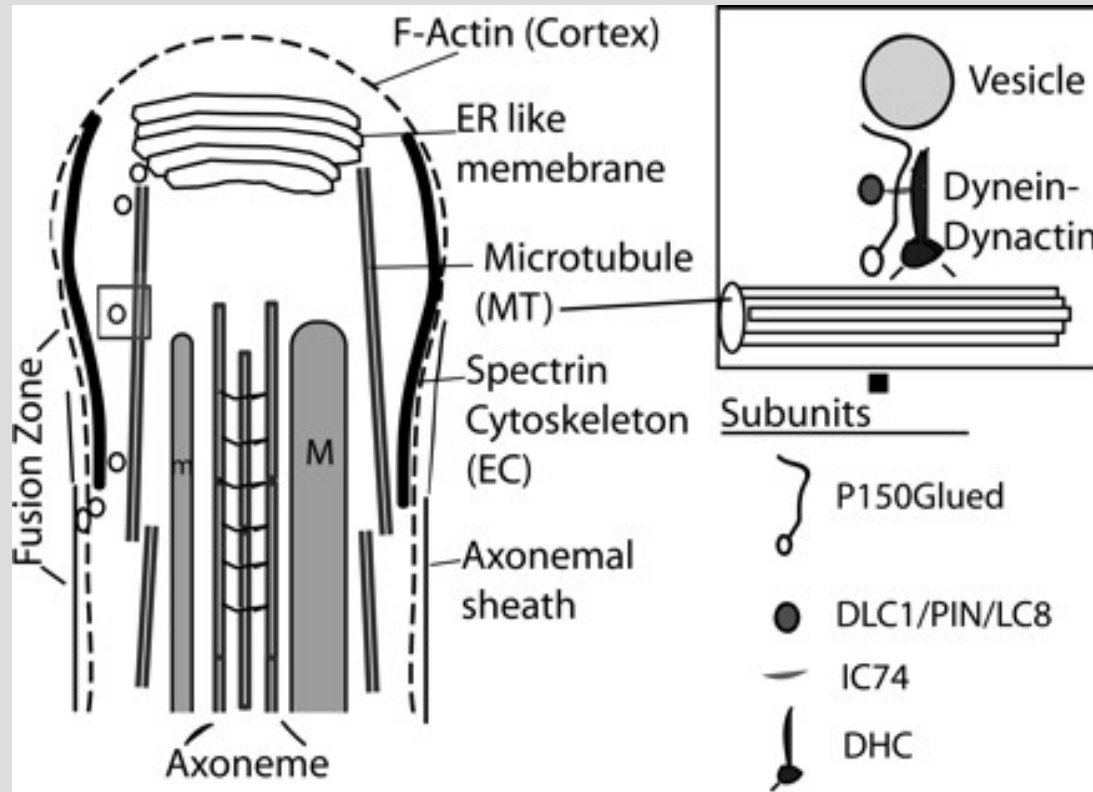


Ensemble de protéines moteurs et de stabilisation/déstabilisation du kinétochore permettent le mouvement des chromosomes

Division cellulaire et polarité

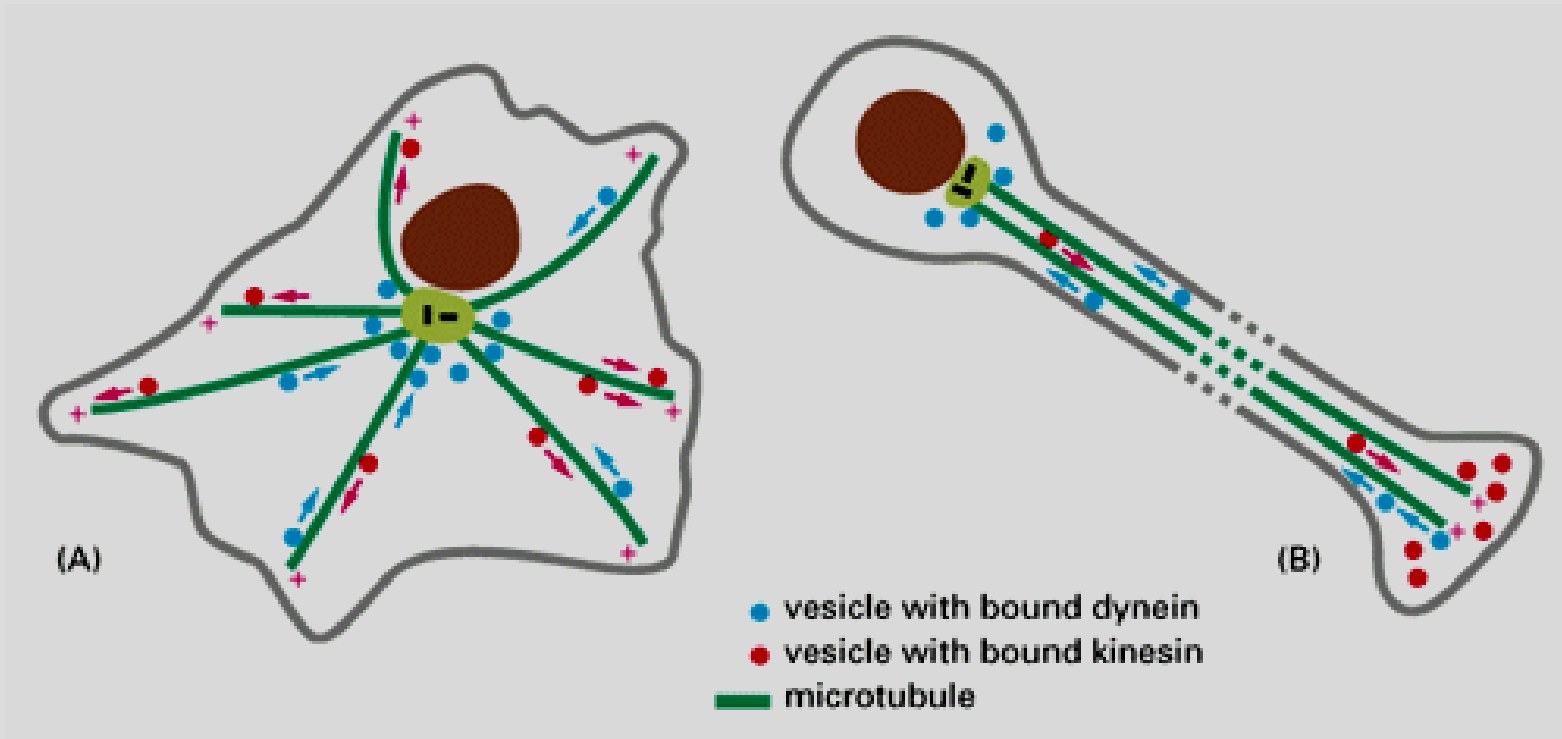


Les transports



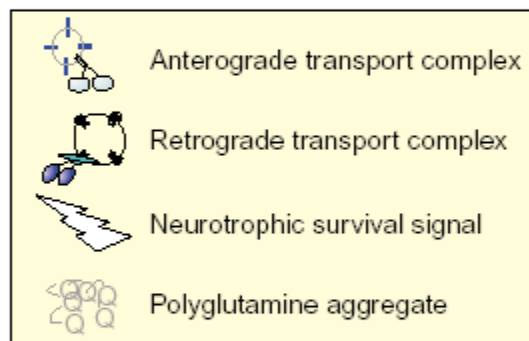
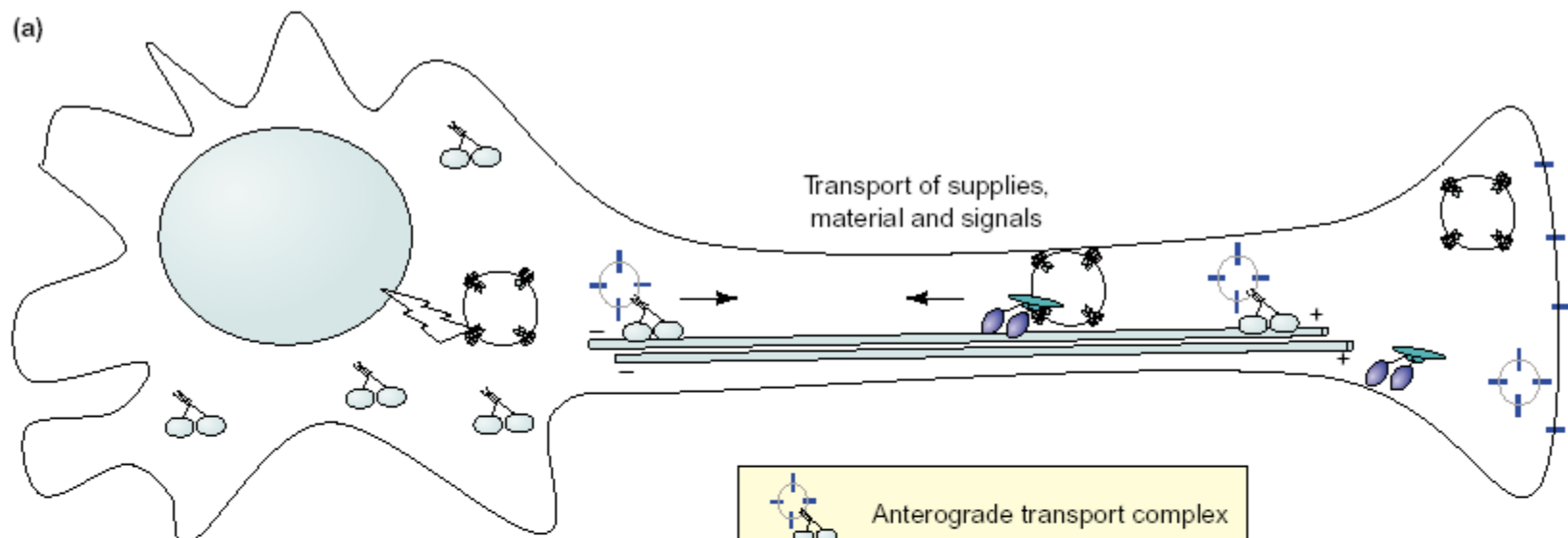
Exemple de transport: formation du flagelle des spermatozoïdes

Les transports

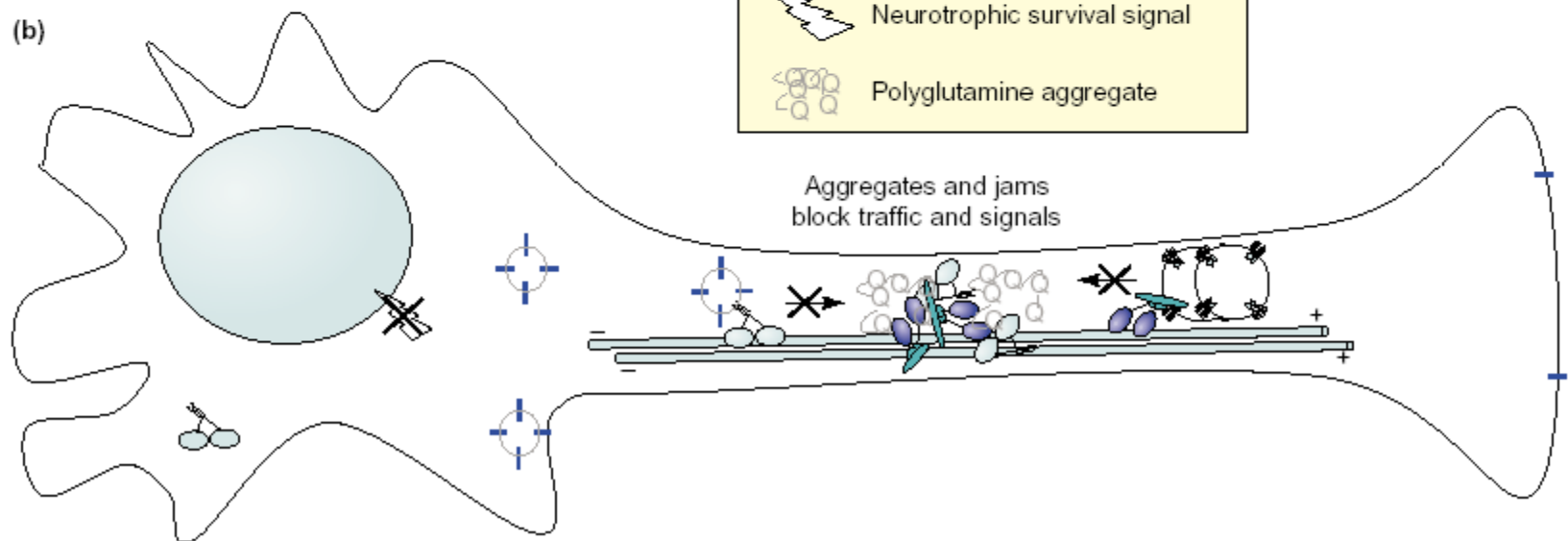


Cellules spécialisées (neurones): orientation des MT dans l'axone

(a)



(b)



Pathologies associées aux microtubules

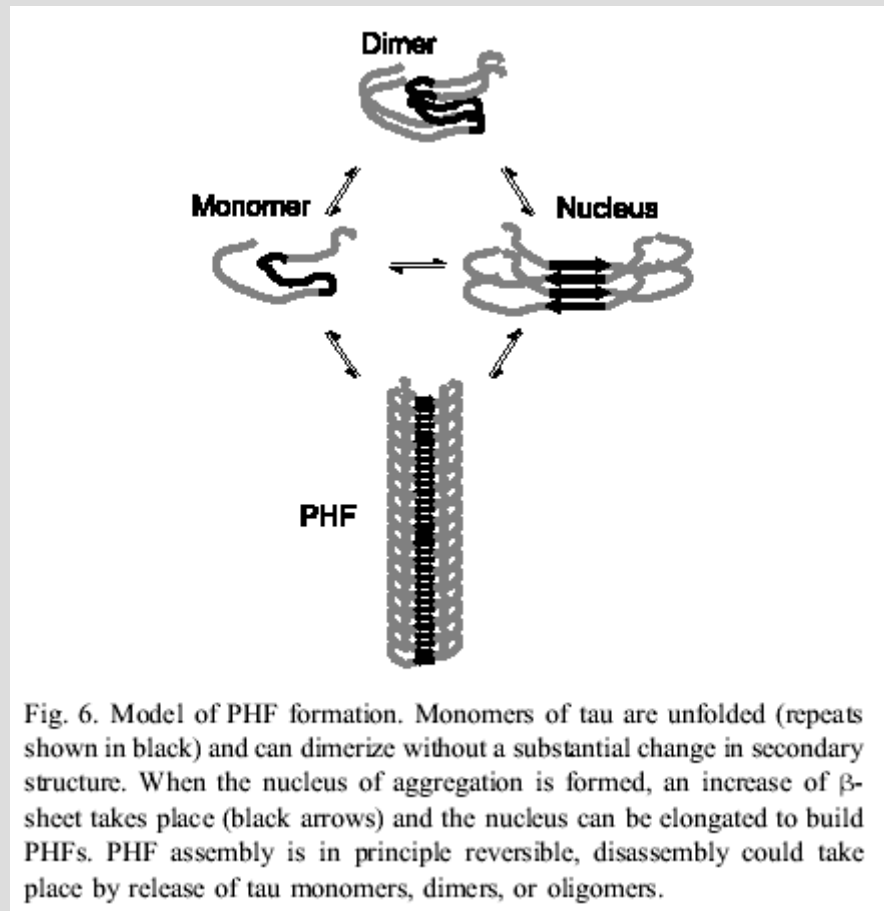
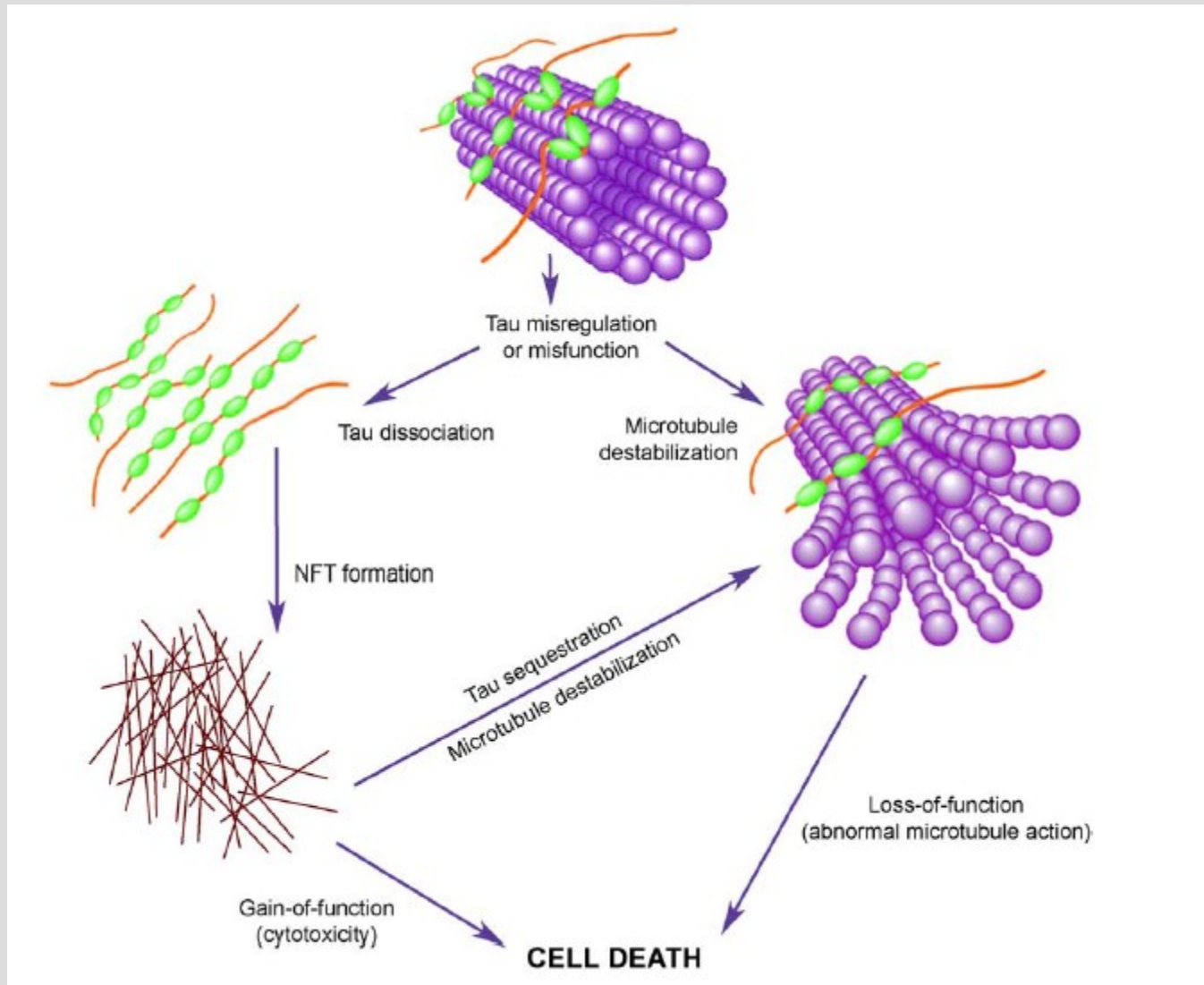


Fig. 6. Model of PHF formation. Monomers of tau are unfolded (repeats shown in black) and can dimerize without a substantial change in secondary structure. When the nucleus of aggregation is formed, an increase of β -sheet takes place (black arrows) and the nucleus can be elongated to build PHFs. PHF assembly is in principle reversible, disassembly could take place by release of tau monomers, dimers, or oligomers.

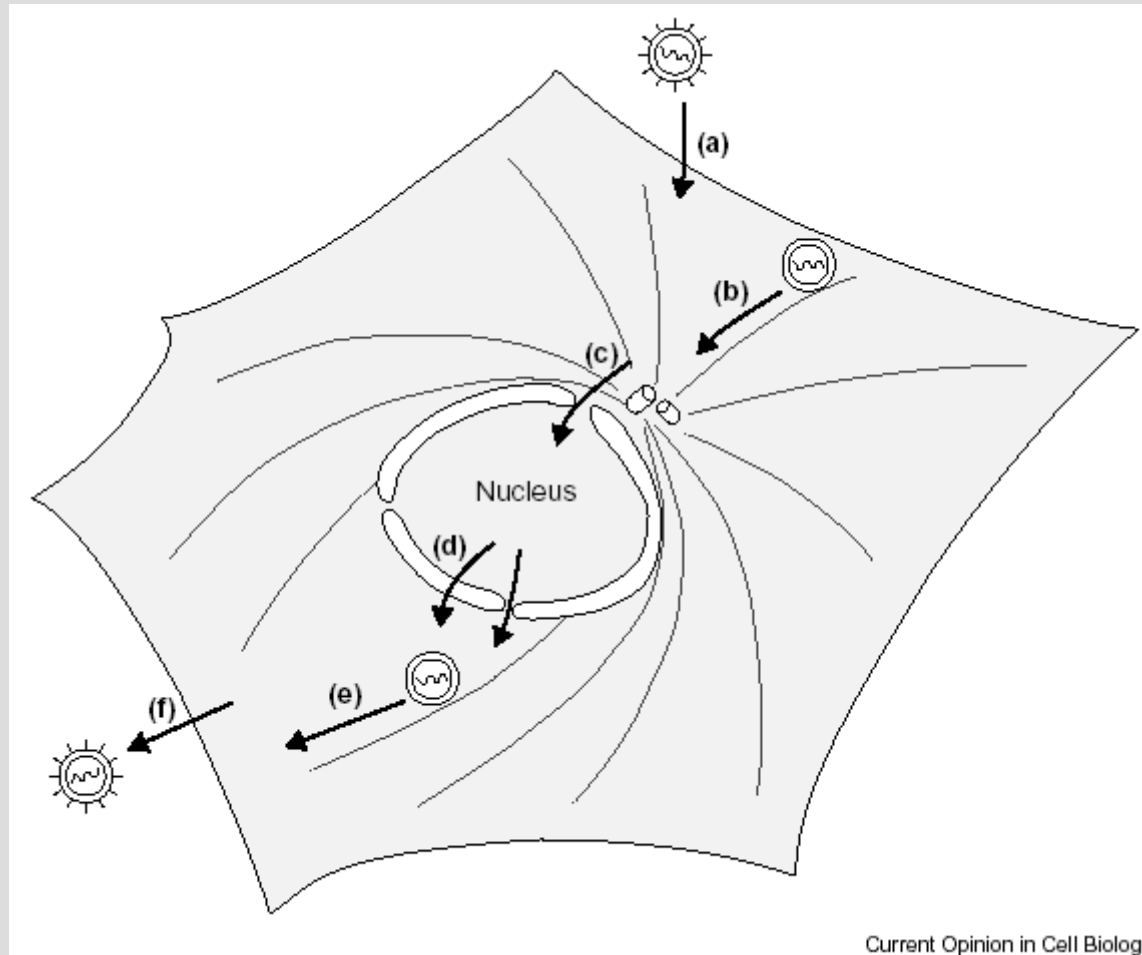
Exemple de formation d'agrégats de la protéine Tau
PHF: paired helical filament

Pathologies associées aux microtubules



Mécanisme d'action de ces agrégats n'est pas encore clair

Pathologies associées aux microtubules



Exploitation des MT par les virus (trafic des protéines)

