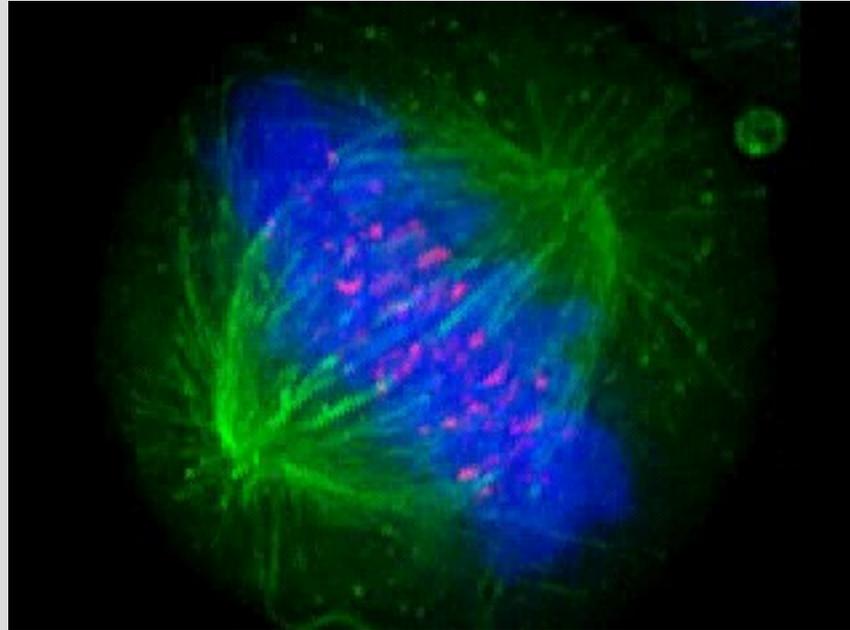


# Les microtubules



# 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

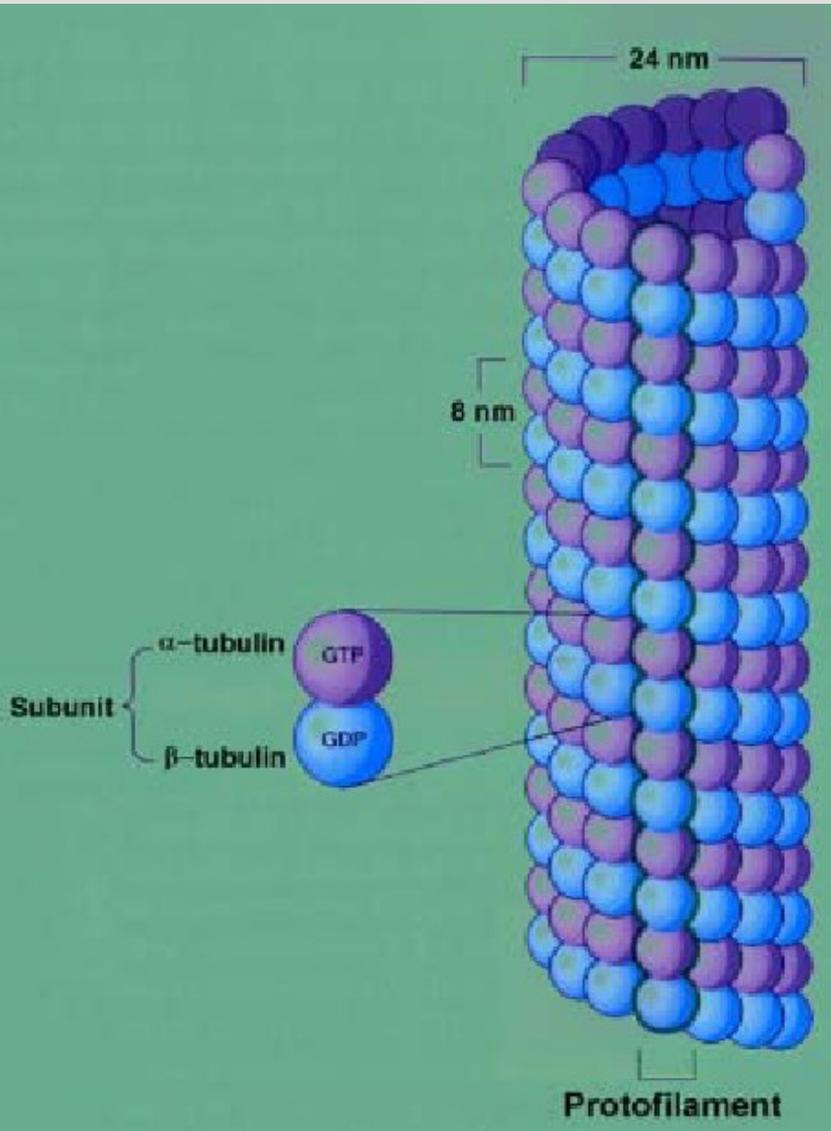
## 3. Rôles des microtubules

3.1 Forme et déplacement de la cellule

3.2 Transports et mouvements intracellulaire

## 4. Exemples de pathologies associées

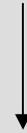
# Structure modulaire du microtubule



Monomères de tubuline ( $\alpha$   $\beta$ )

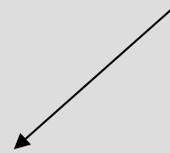


hétérodimères de tubuline



Microtubule

(13 protofilaments)



Fuseaux  
mitotiques

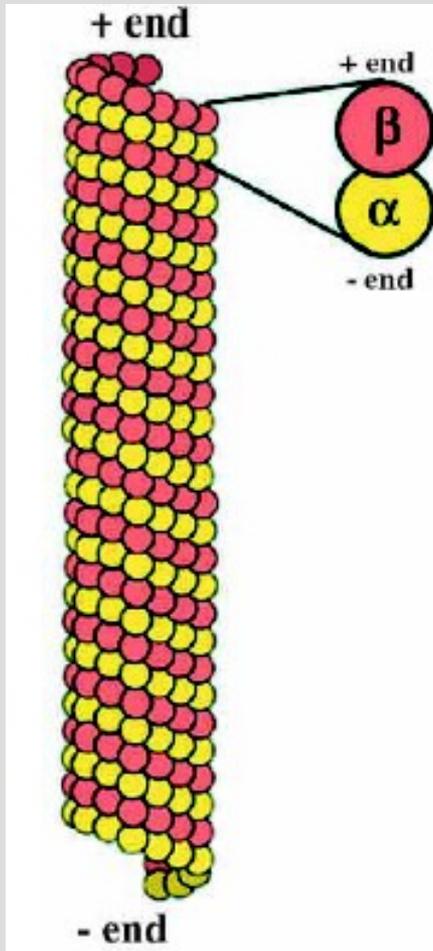


MT +  
Autres protéines

Axonème

(9+2 microtubules)

# Polarisation du microtubule



## Polarisation structurale:

dimères orientés : sous-unité  $\alpha$  = extrémité -  
sous-unité  $\beta$  = extrémité +

GTP/GDP sur sous-unité  $\beta$  : 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)

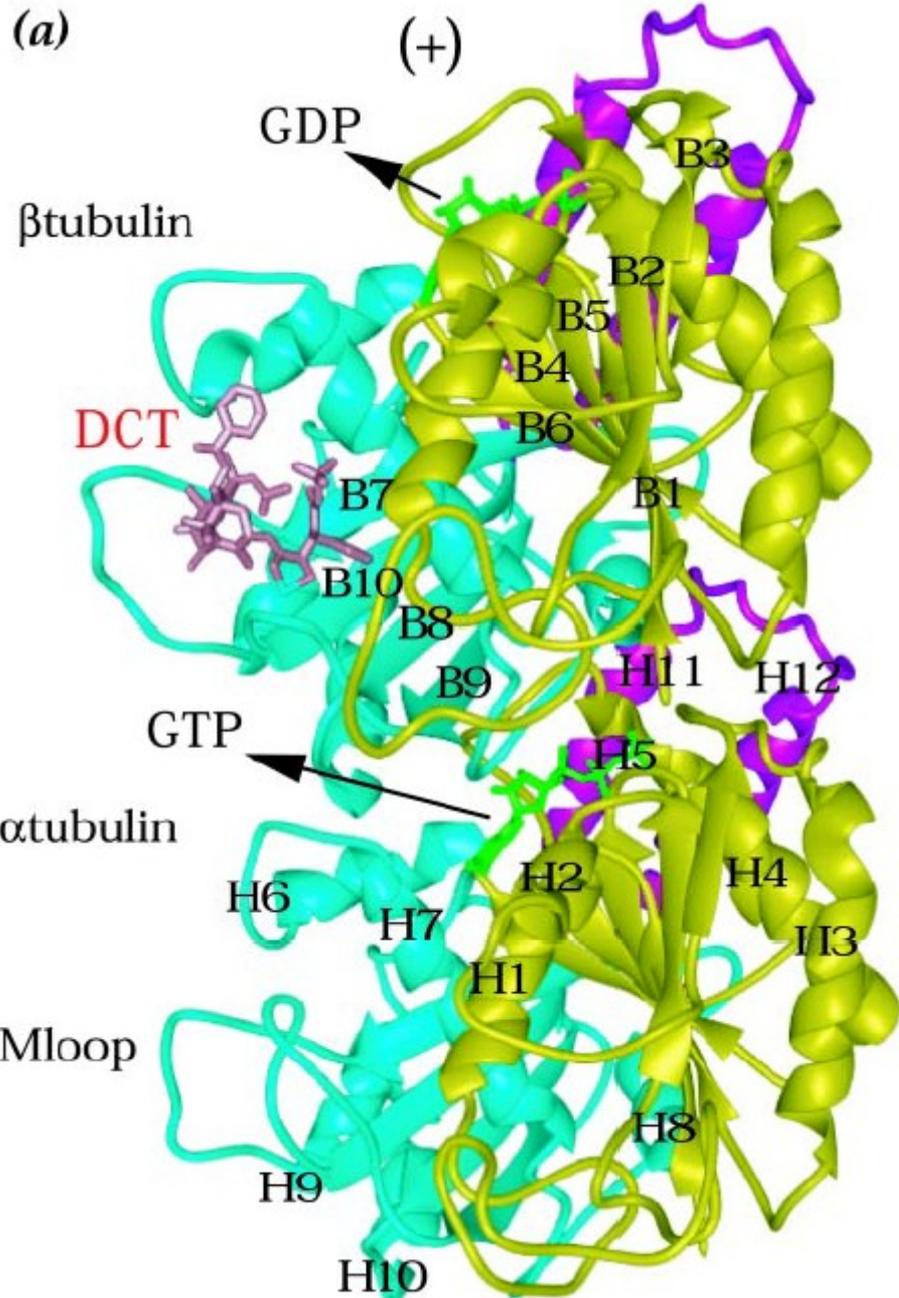
Sous-unité  $\alpha$  : extrémité –

GTP non échangeable

Sous-unité  $\beta$  : extrémité +

GTP hydrolysable/GDP

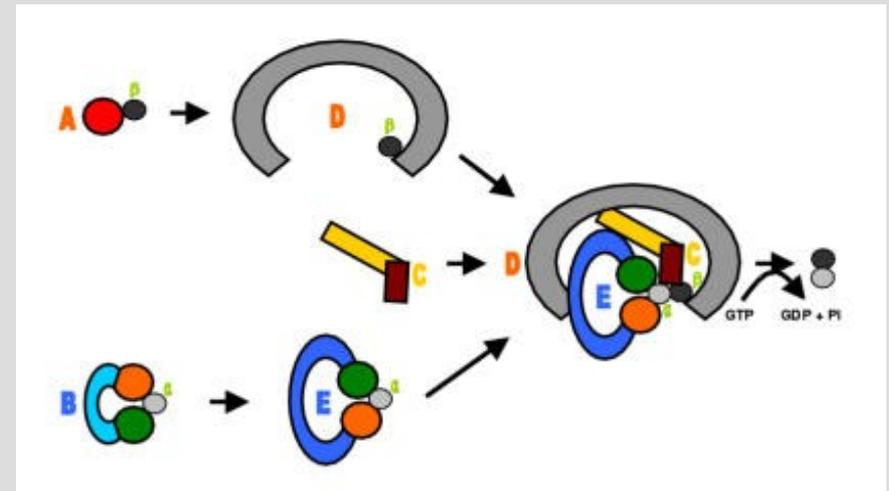
M-loop : interactions avec  
protofilament voisin



# 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  $\beta$ )**

# 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

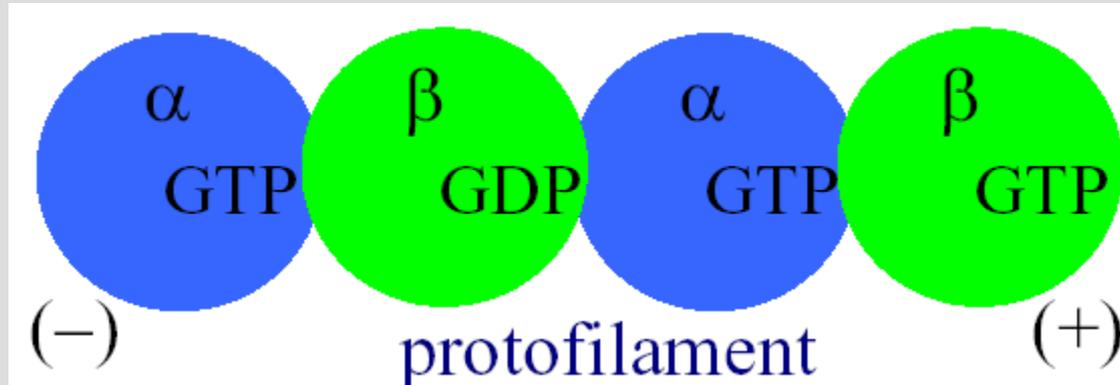
## 3. Rôles des microtubules

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  $\alpha$  d'un dimère se lie à la sous-unité  $\beta$  du dimère précédent**

**Induction de l'hydrolyse du GTP (activité GAP de la sous-unité  $\alpha$ )**

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

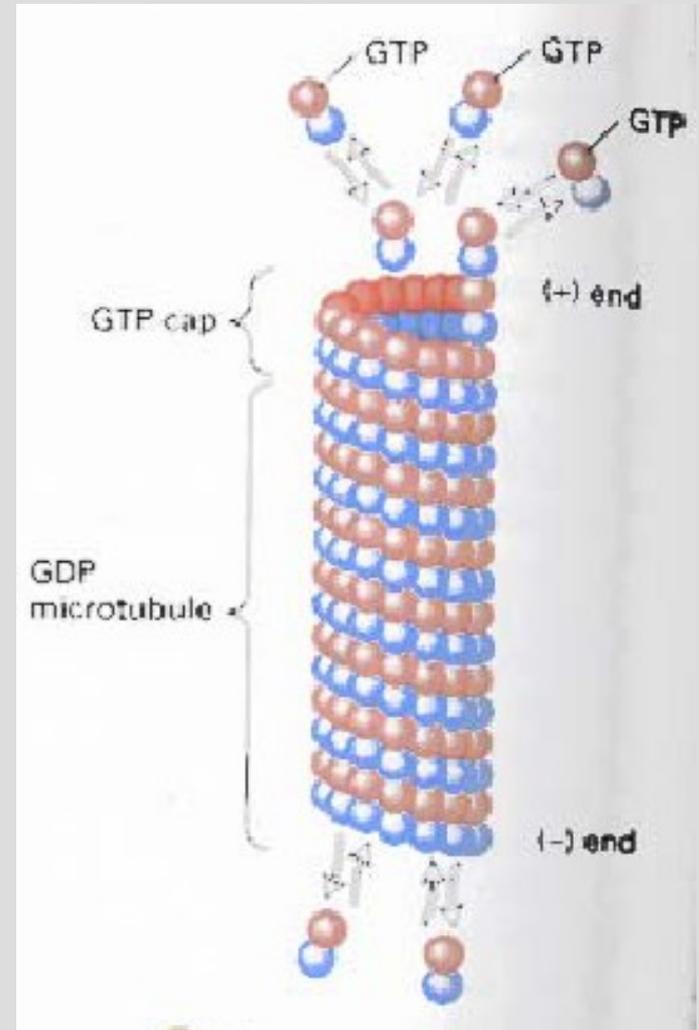
# Polymérisation de la tubuline

## 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 :

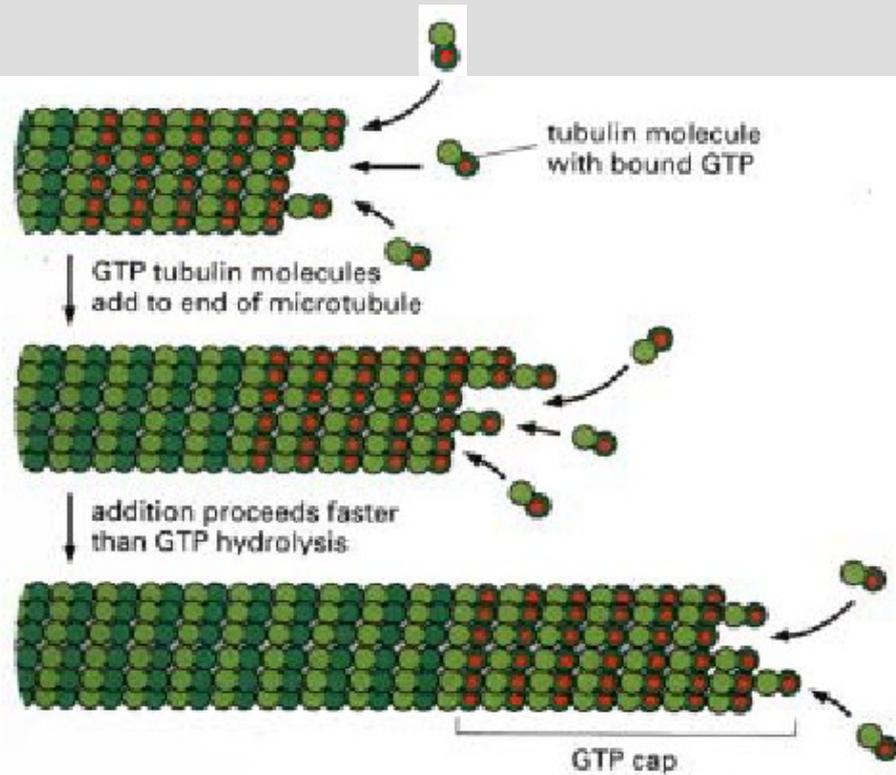
changement conformationnel  
liaison plus faible entre les dimères  
courbure des protofilaments si exposée  
risque de dépolymérisation rapide



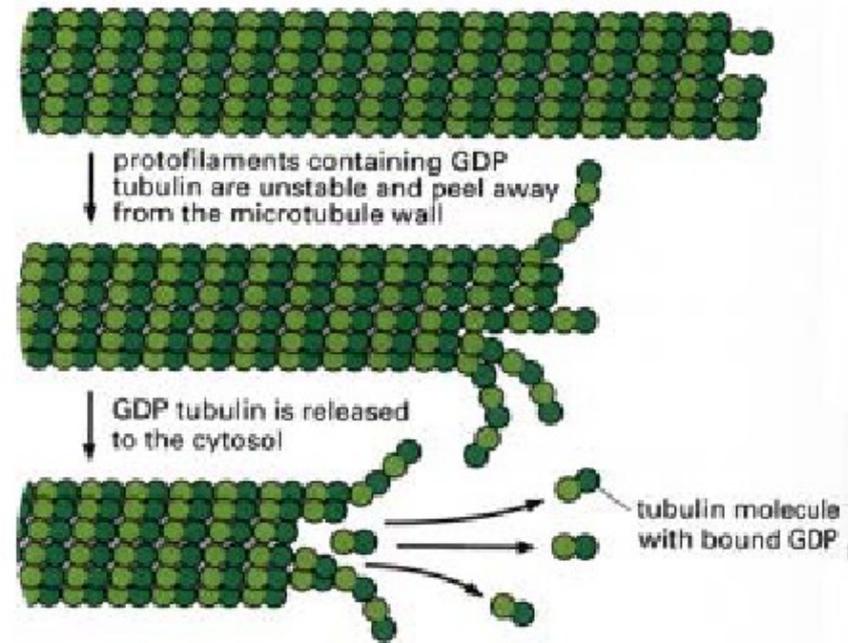
**La coiffe de GTP permet un allongement du MT  
Perte de la coiffe = catastrophe (dépolymérisation rapide)**

# Instabilité du microtubule

allongement



Dépolymérisation rapide

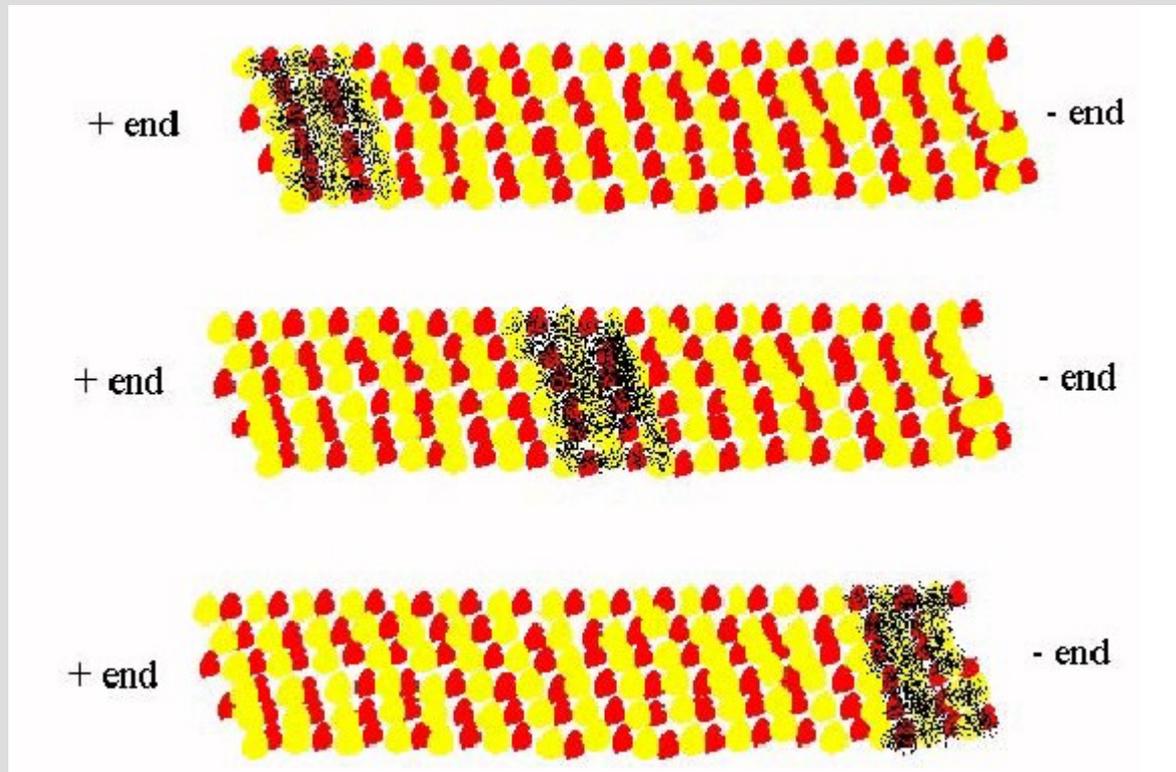


Extrémité + : rôle essentiel de la coiffe de GTP

**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 (-)



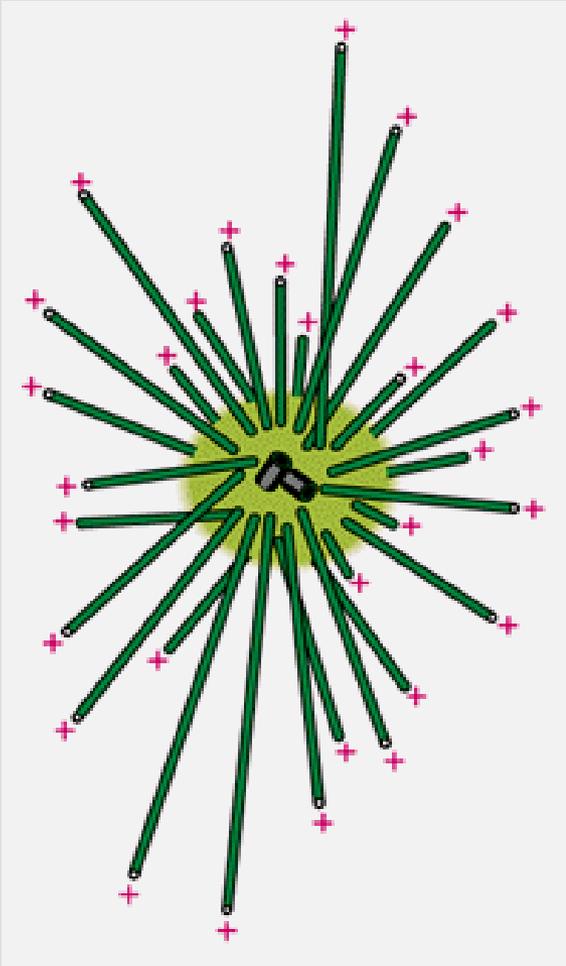
Centre organisateur des MT (MTOC, centrosome) :

Centrioles

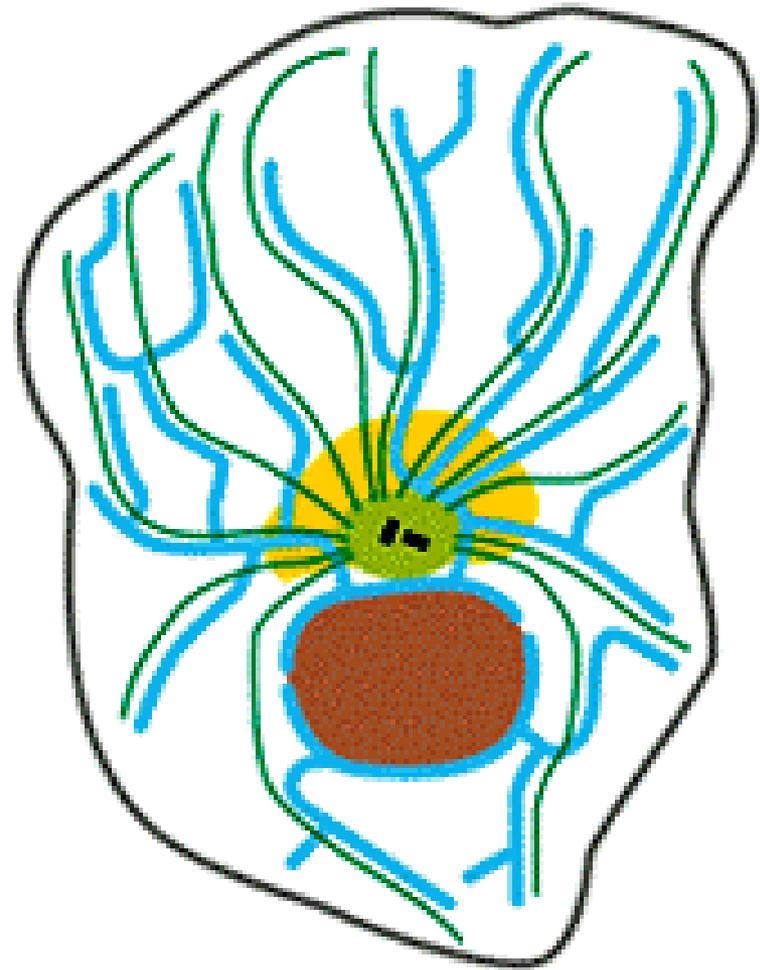
Matériel péri-centriolaire (complexe protéique) contenant les sites de nucléation

**Site de nucléation = anneau de tubuline  $\gamma$**

# Le centrosome (MTOC)

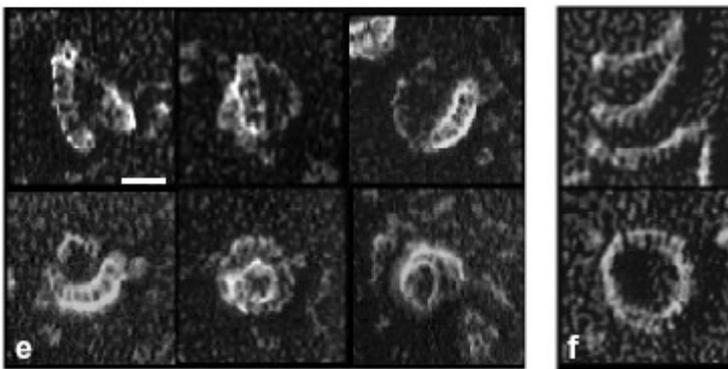
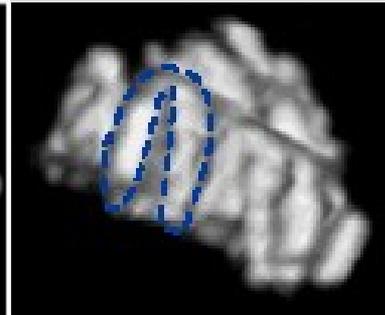
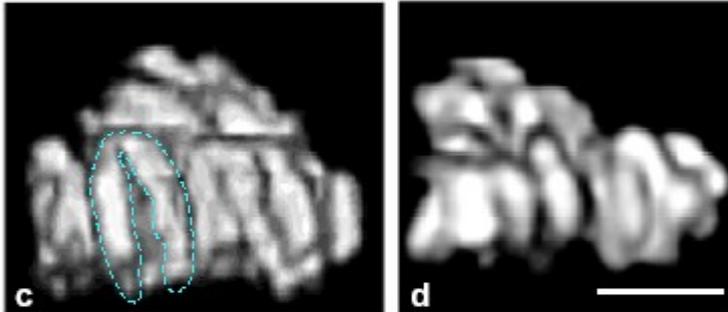
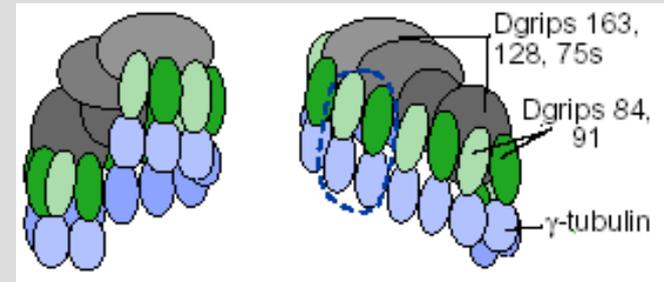
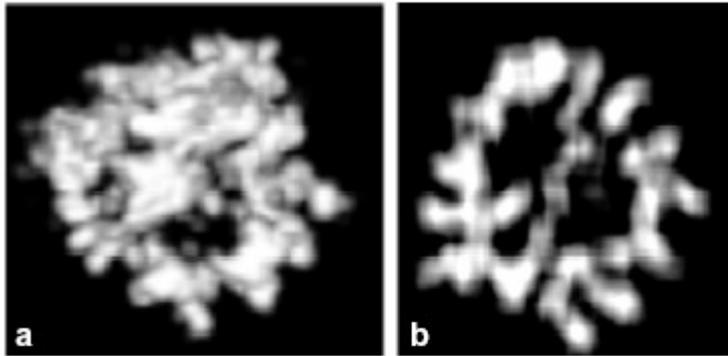


Anaphase :  
centrosome périnucléaire  
MT occupent le cytoplasme



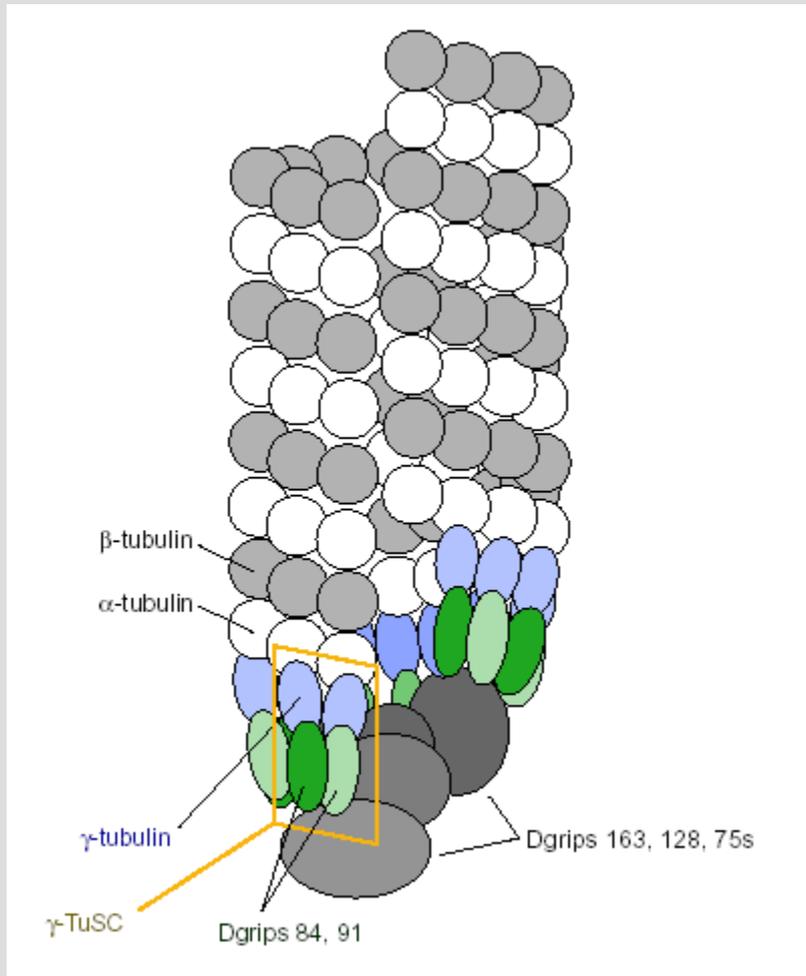
MT  
endoplasmic reticulum  
Golgi apparatus  
nucleus  
centrosome

# Complexes en anneau de tubuline $\gamma$



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

# Complexes en anneau de tubuline $\gamma$



**Modèle:**

**6 petits complexes ( $\gamma$ -TuSC) contenant chacun 2 tubulines  $\gamma$**

**12 tubulines  $\gamma$  en contact avec la tubuline  $\alpha$  le 13ème protofilament se forme par interaction avec le 12ème et le 1er**

**Autres protéines dans le complexe**

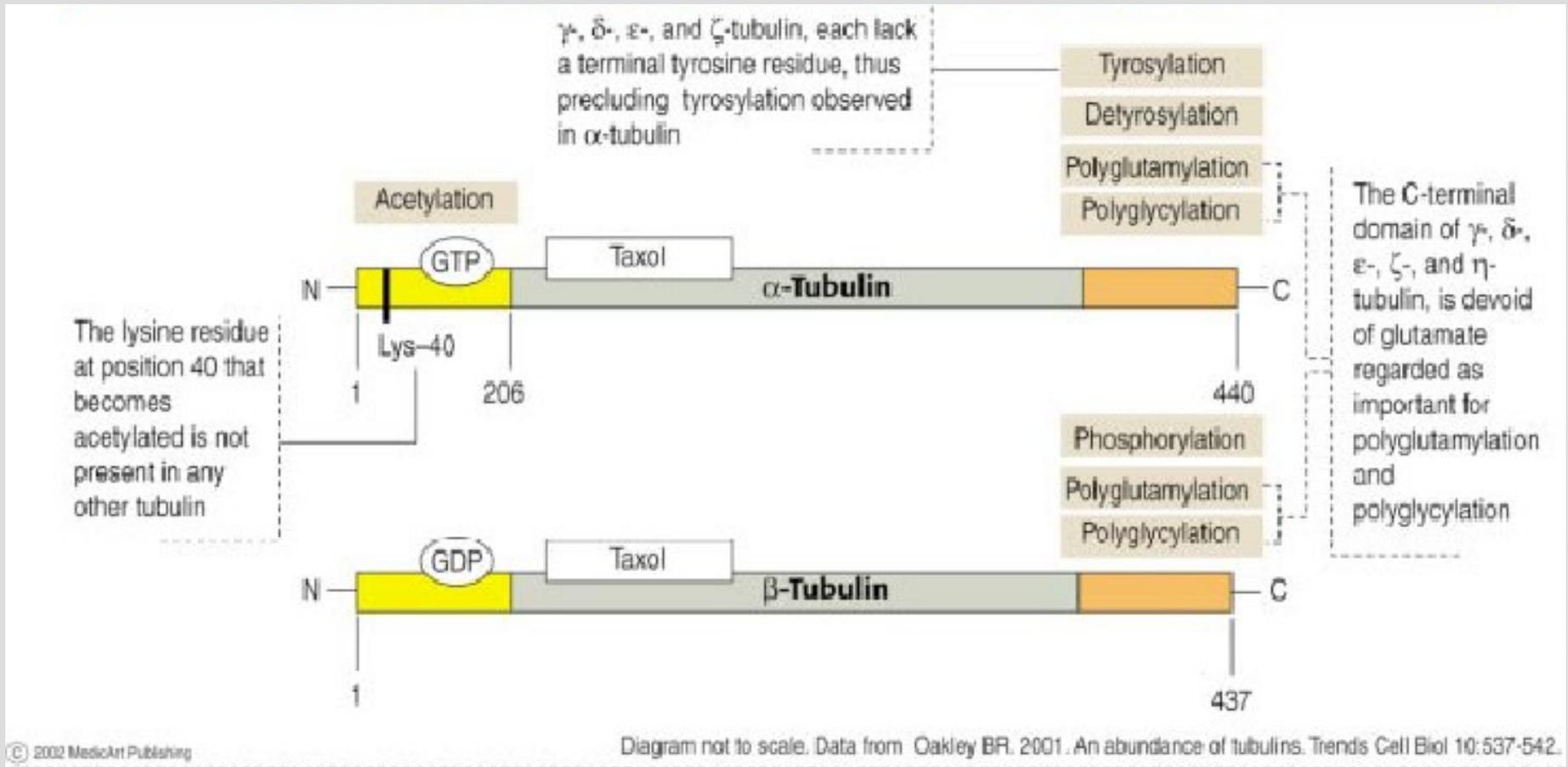
**Rem: « +3 start helix » : contact latéraux entre protofilament majoritairement  $\alpha$ - $\beta$**

# Diversité des tubulines

$\alpha$ - and $\beta$ -Tubulin	A heterodimeric protein complex found in all microtubules. $\alpha$ - and $\beta$ -Tubulin have an identical molecular mass (50 kDa).
$\gamma$ -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 $\alpha$ - and $\beta$ -tubulin. Present in all eukaryotes.
$\delta$ -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> .
$\epsilon$ -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> .
$\zeta$ -Tubulin	Found in the basal body from <i>Trypanosoma brucei</i> and <i>Leishmania major</i> , and the centriolar region of some animal cells.
$\eta$ -Tubulin	Undetermined localization. Found in <i>Paramecium</i> $\eta$ -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  $\alpha$  et  $\beta$  dans les microtubules**  
**Autres tubulines dans structures particulières (centrosome...)**

# Diversité des tubulines



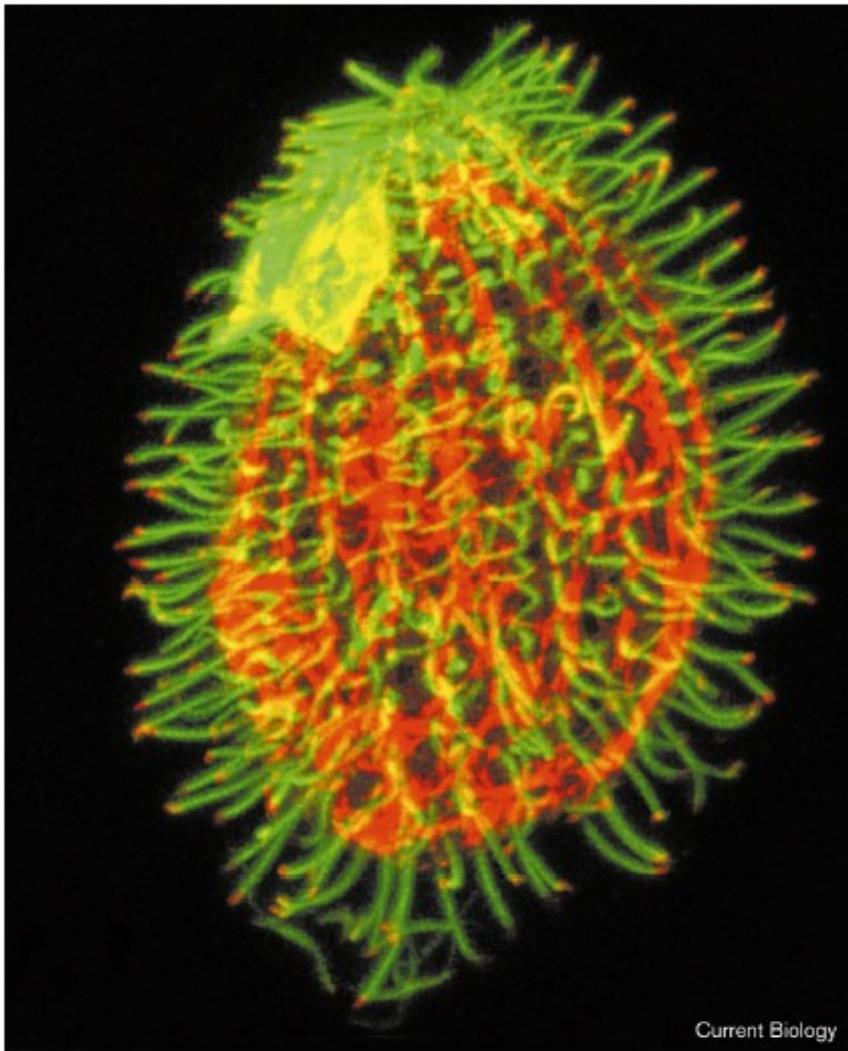
**Polyglutamylation : 1-6 glutamates**  
**Polyglycylation : 3-40 glycines**  
**Cycles tyrosylation/détyrosylation**

**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



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).

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

# 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

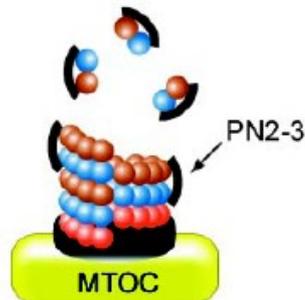
## 4. Exemples de pathologies associées

# Les protéines associées aux microtubules: MAP

Protéines déstabilisatrices :

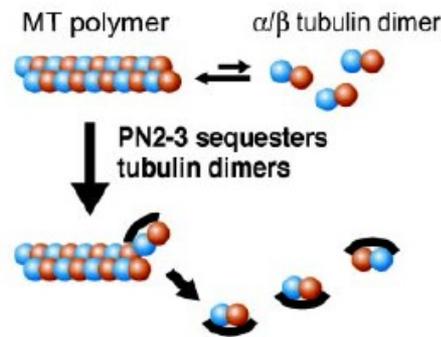
- coupure du microtubule (ex: katanin) créant de nouvelles extrémités
- déclenchent hydrolyse du GTP en (+) : perte de la coiffe
- séquestration des dimères

(A) The capping model

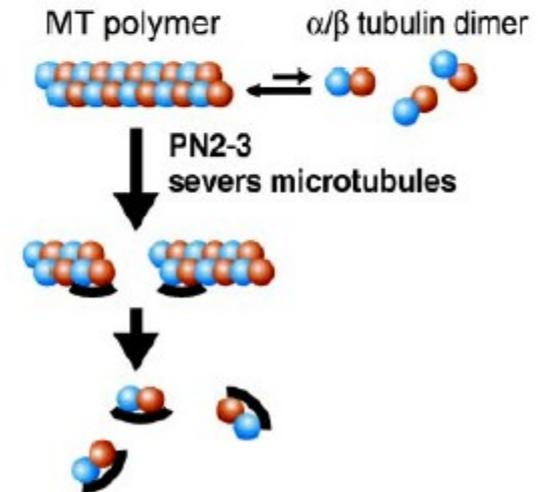


PN2-3 caps the plus end of microtubules

(B) The sequestering model



(C) The severing model



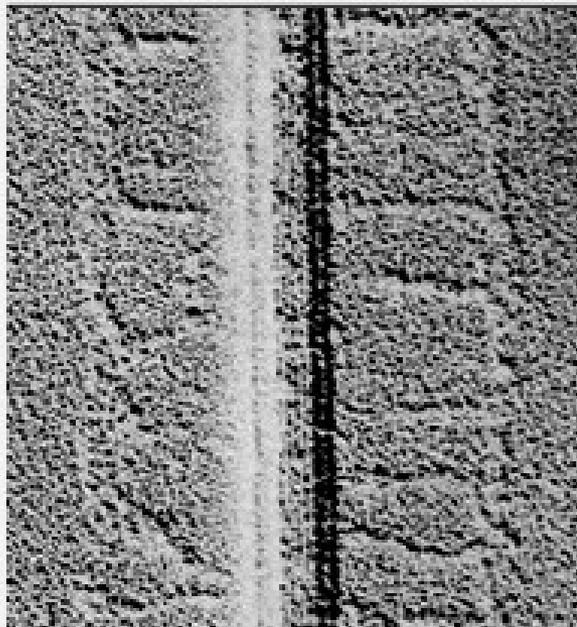
Nombreuses protéines de déstabilisation interviennent au cours du cycle

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

# Les protéines associées aux microtubules: MAP

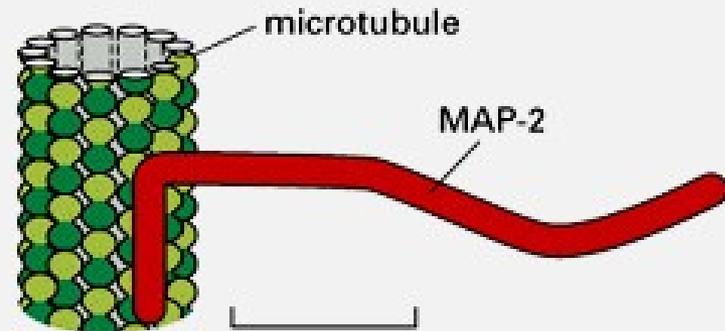
## Protéines stabilisatrices:

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



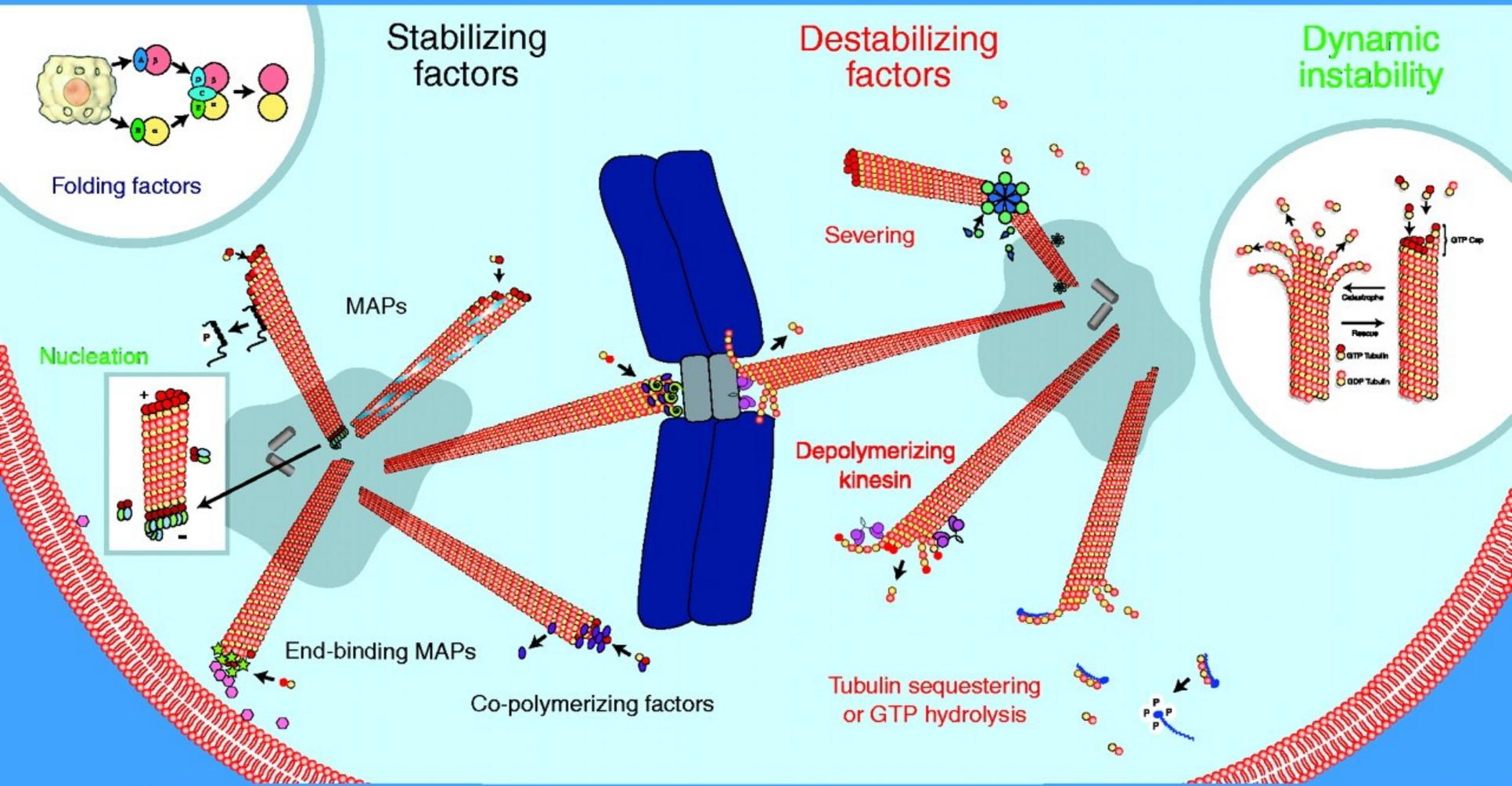
(A)

100 nm



(B)

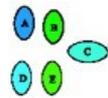
25 nm



$\alpha\beta$ -Tubulin



CCT



Folding cofactors:  
A to E



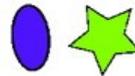
$\gamma$ -TURC  
•  $\gamma$ -Tubulin  
• Grips



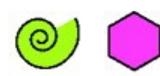
Tau, MAP2, MAP4



Dis1p, TOG,  
Stu2p,  
XMAP215,  
ZYG-9, Msps



CLIP170,  
Bik1p, EB1



APC, CLASPs  
LIS1/dynein-dynactin



Katanin



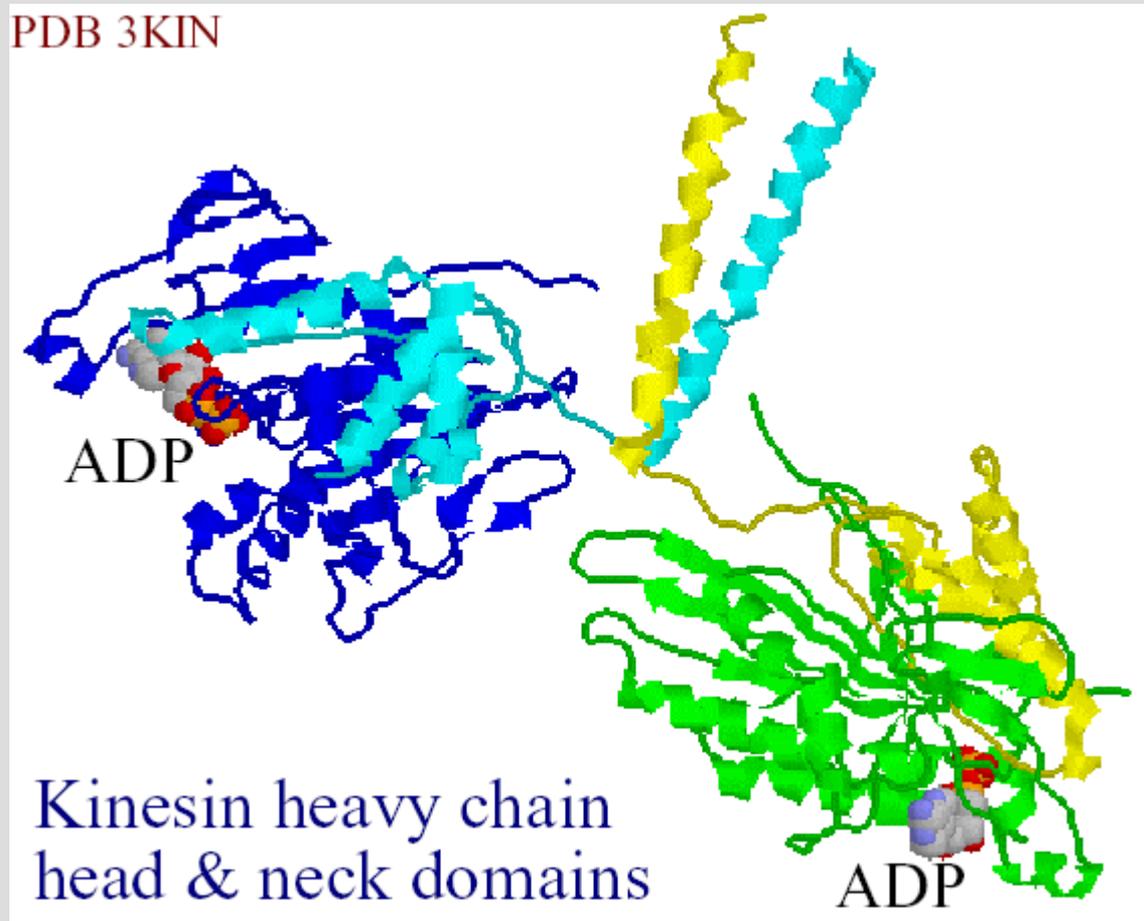
MCAK,  
XKCM1



Op18/  
Stathmin

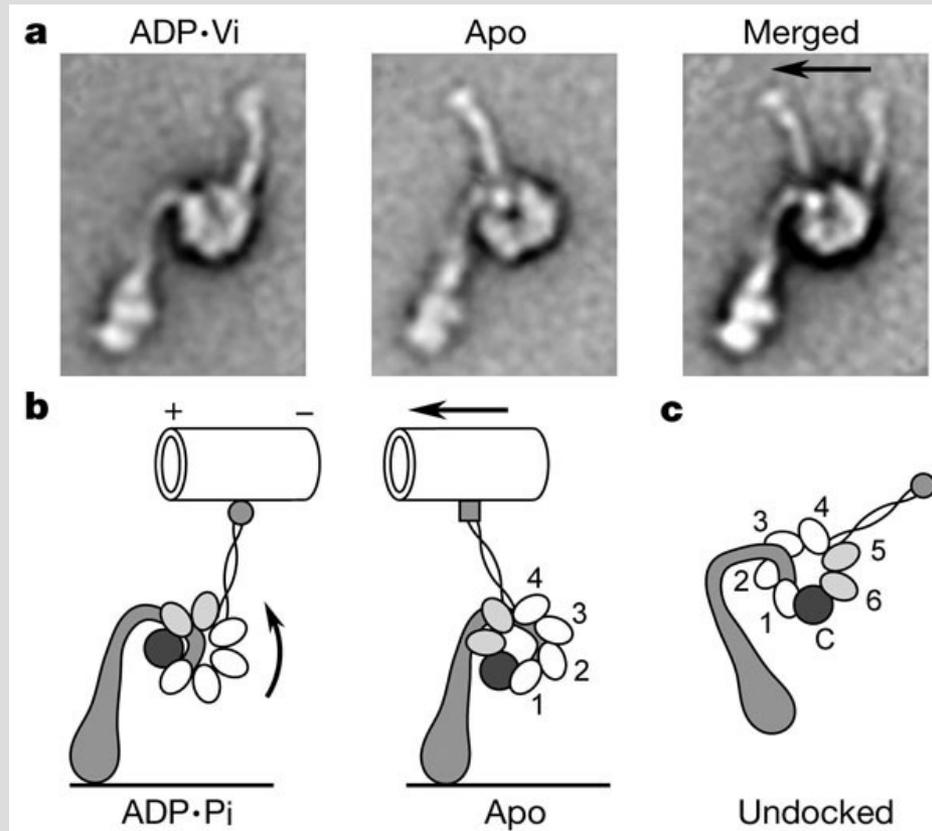
# Les moteurs moléculaires

## Kinésines et dynéines

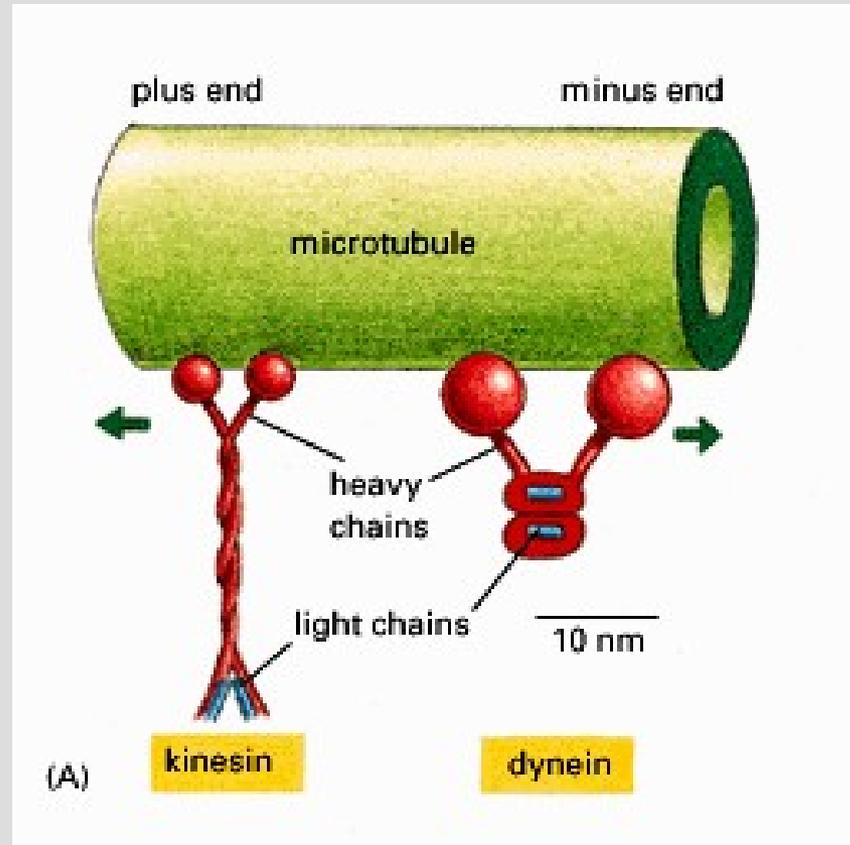


Protéines ATPases (énergie), dimères (processivité)

# Mouvement par changement conformationnel



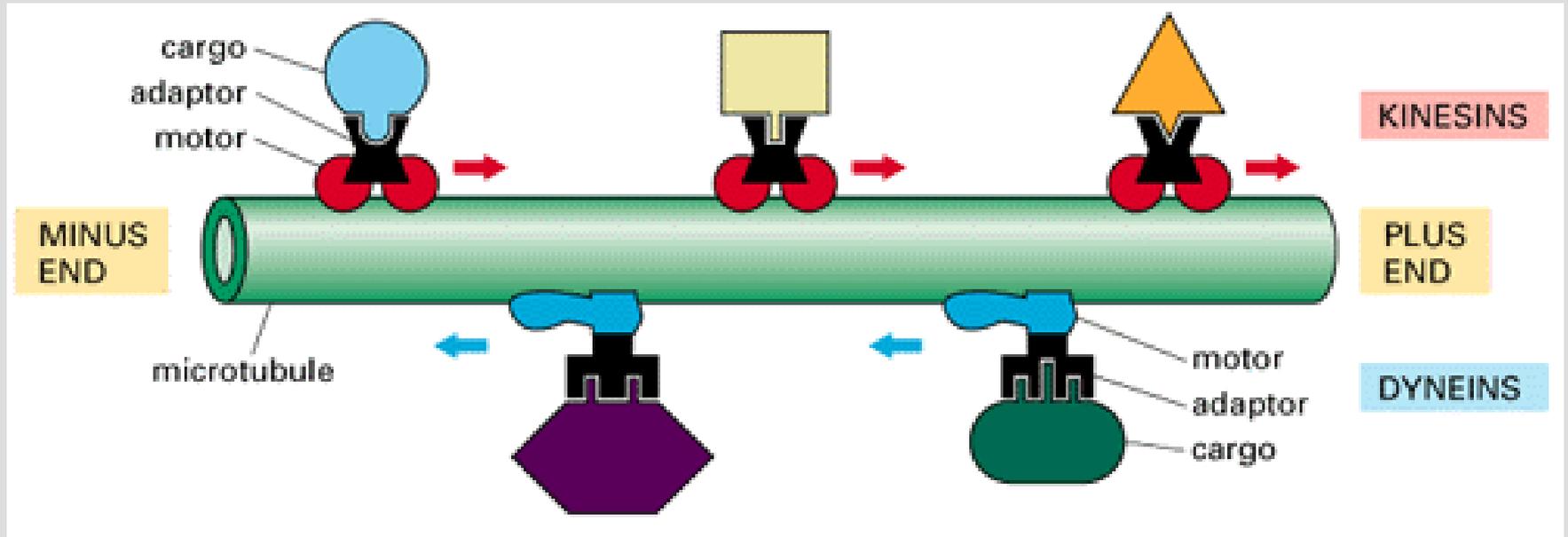
# Les moteurs moléculaires



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

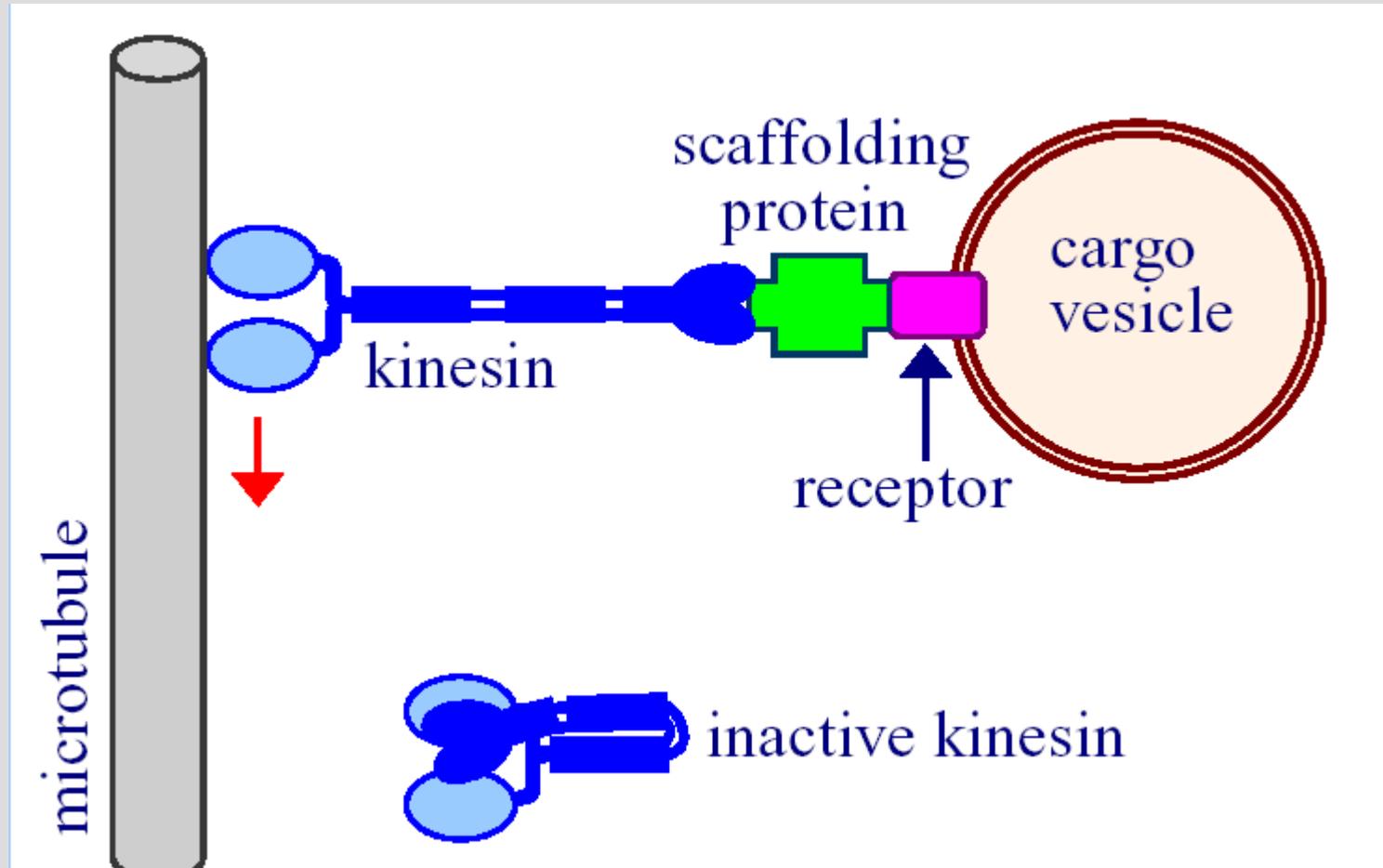
Vidéo 167

# Adaptateurs: plusieurs objets transportés par un seul moteur



**Ex des kinésines: actives seulement si cargo+adaptateur 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

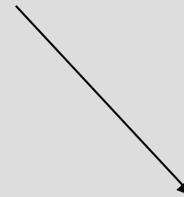
A partir des MTOC , les MT s'allongent et disparaissent en permanence



Exploration aléatoire de l'ensemble de l'espace



Stabilisation sélective en fonction  
des MAP présentes



déstabilisation sélective en fonction  
des MAP présentes

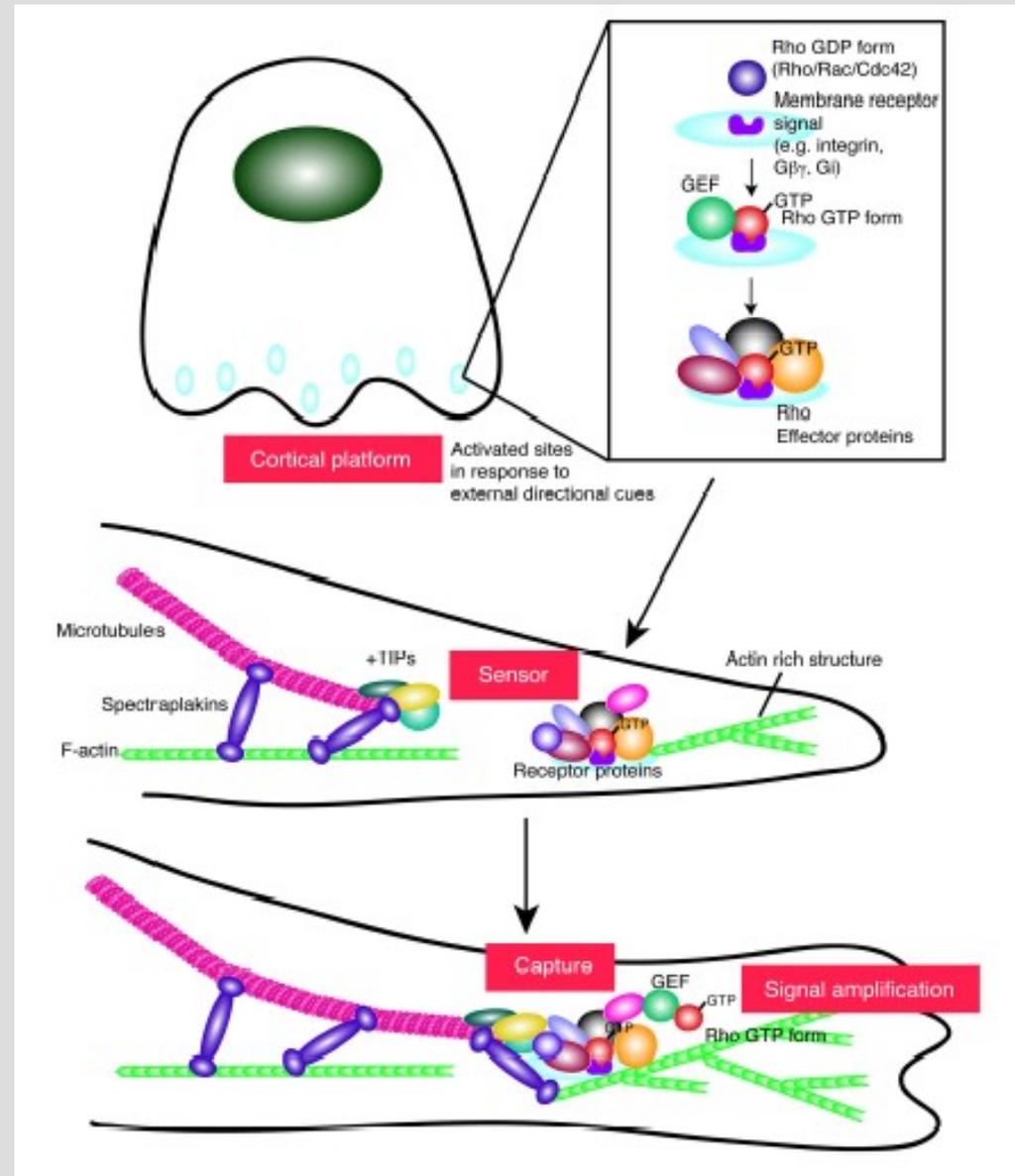
**Vidéo 163**

# Déplacement cellulaire

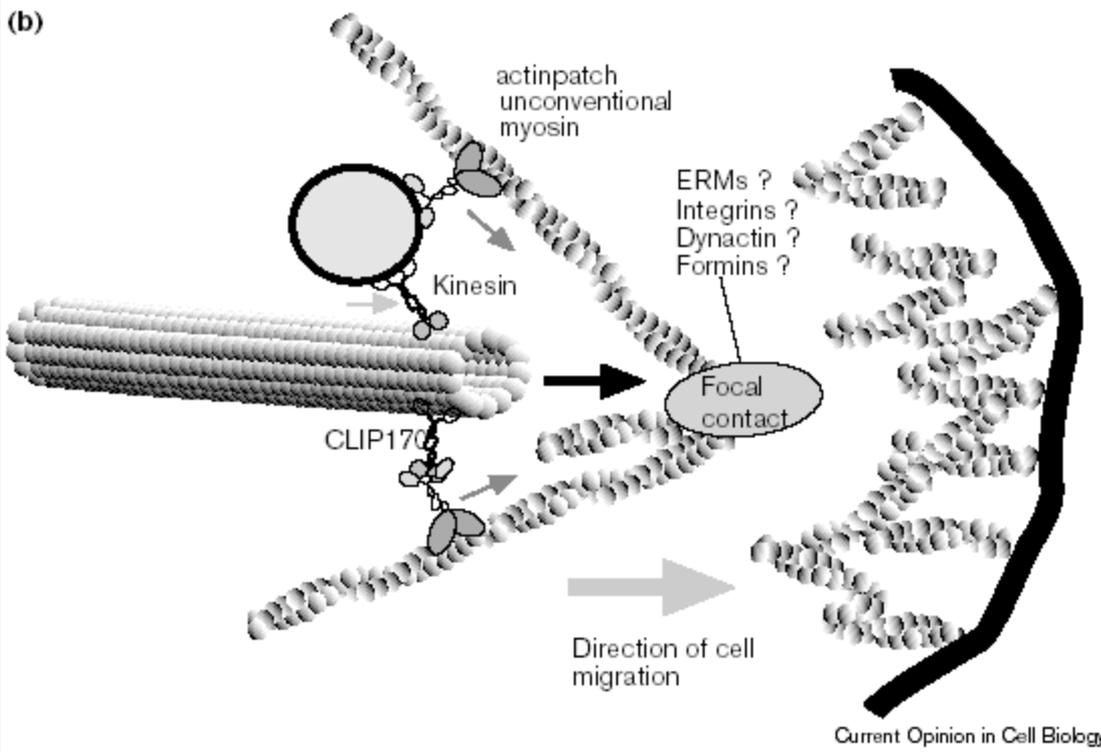
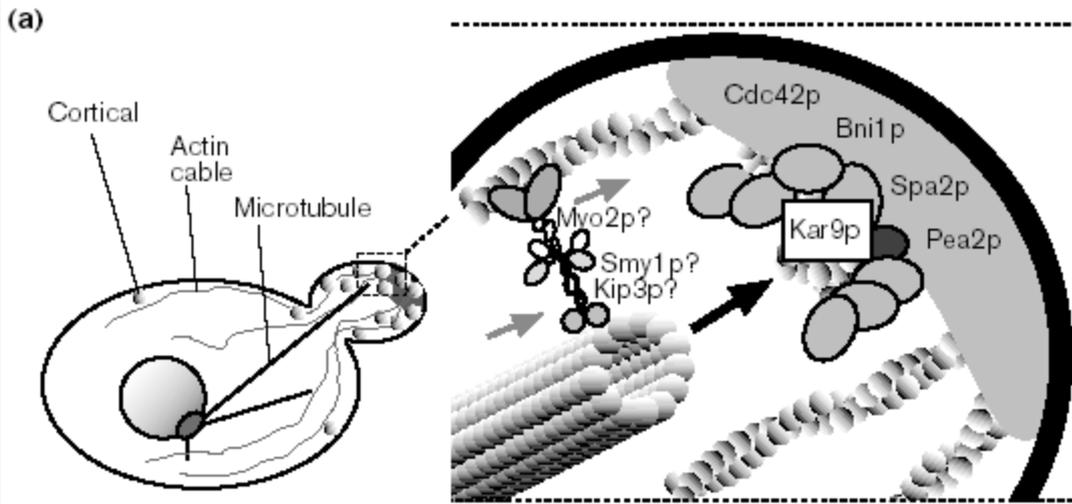
Interventions de tout le cytosquelette  
(protéines de liaison: spectraplakines)

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

Allongement MT en réponse à  
signal externe

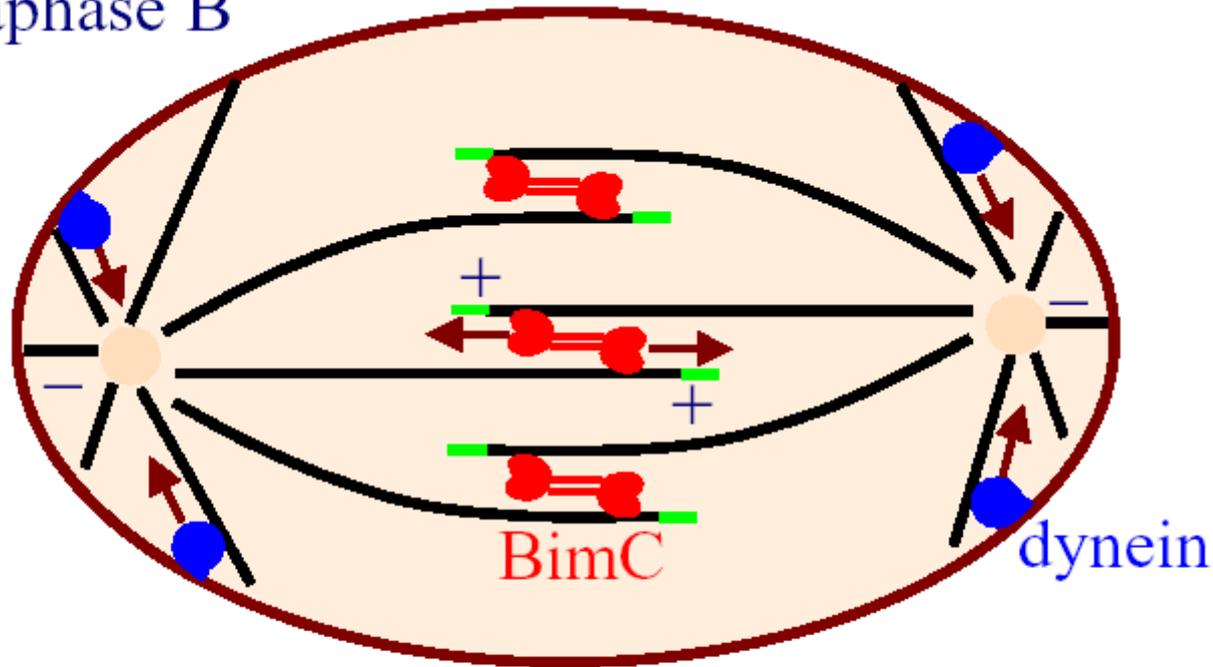


# Déplacement cellulaire



## Le fuseau mitotique

Anaphase B



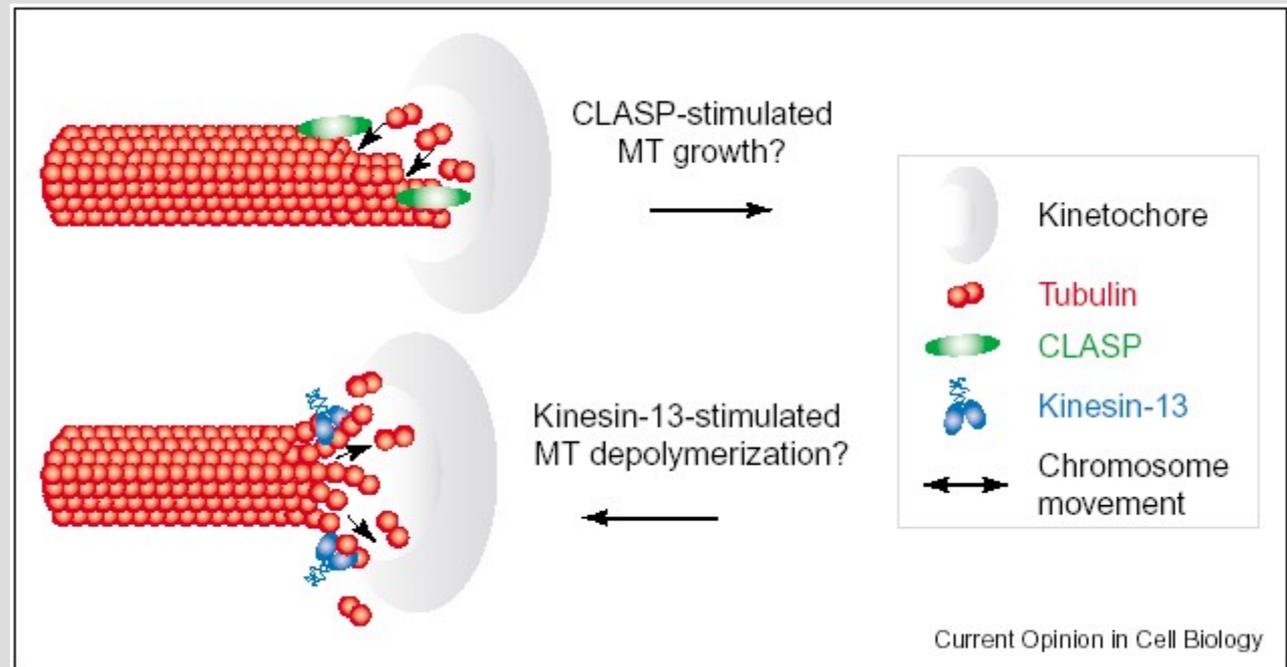
**BimC** mediates sliding of polar microtubules;  
**dynein** pulls asters to membrane; **tubulin**  
dimers add at plus ends of polar microtubules.

**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**

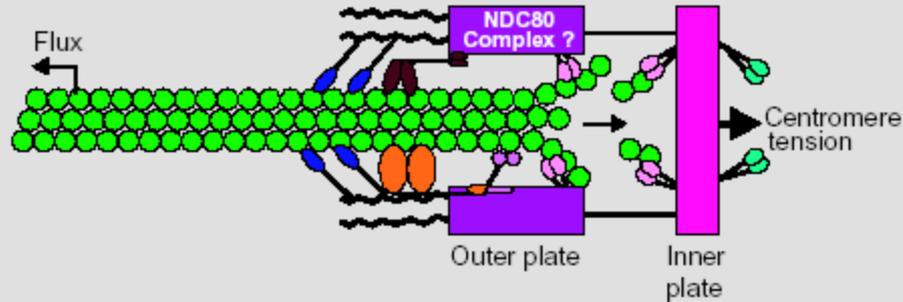


# Mouvements des chromosomes lors de la mitose

## B Kinetochore Bi-Stability

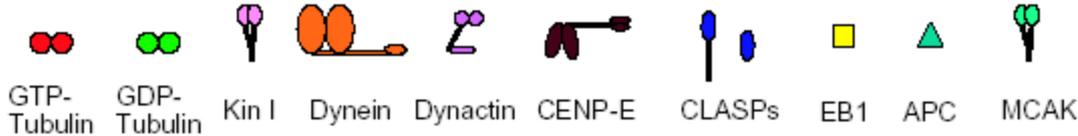
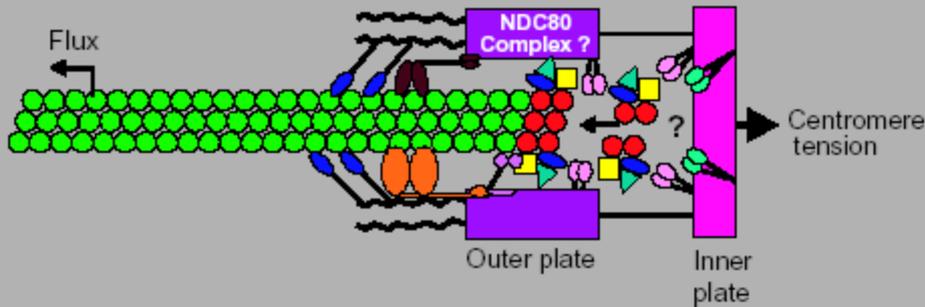
Lower Tension

Depolymerisation state - Force generating



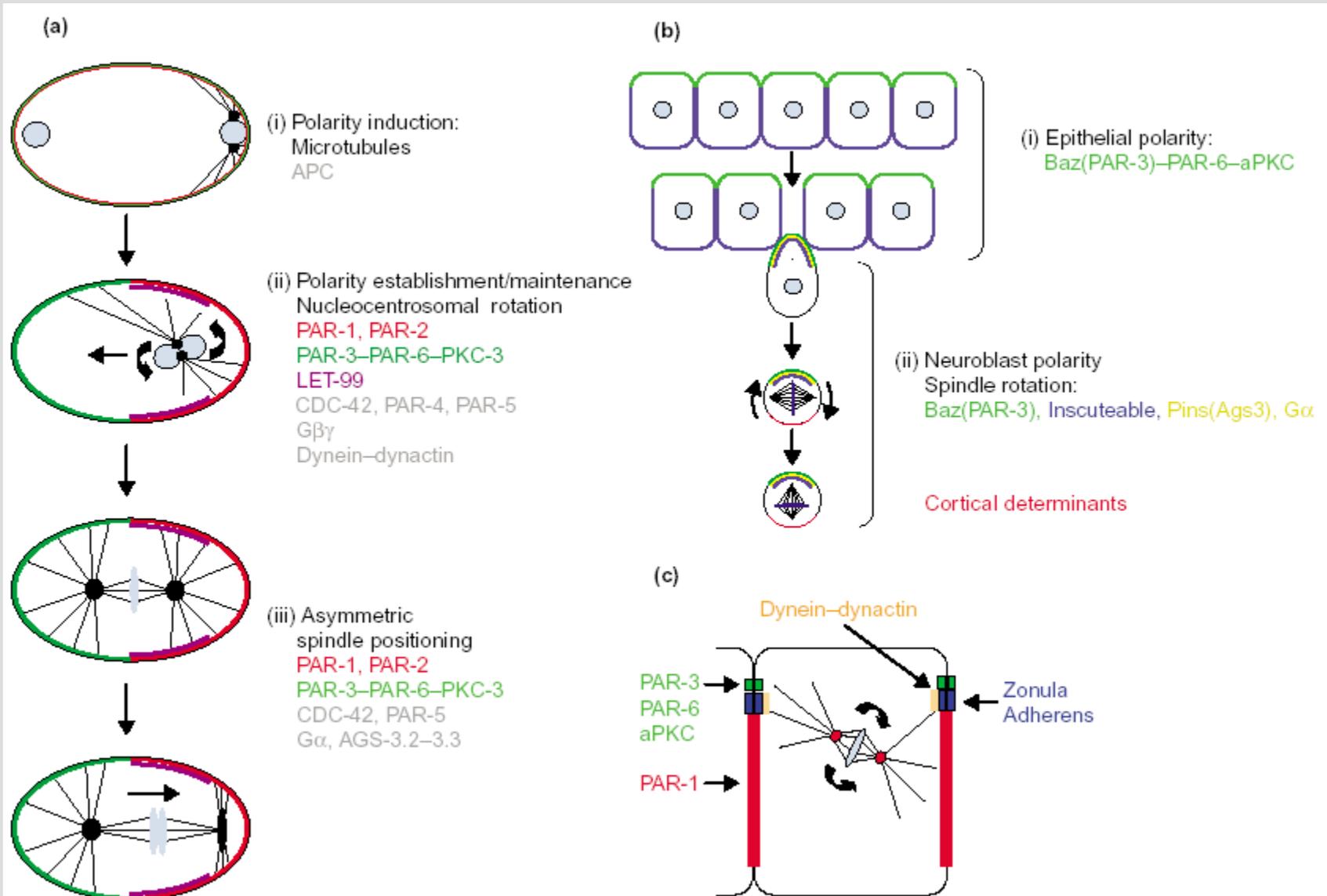
Higher Tension

Polymerisation state - Resistive

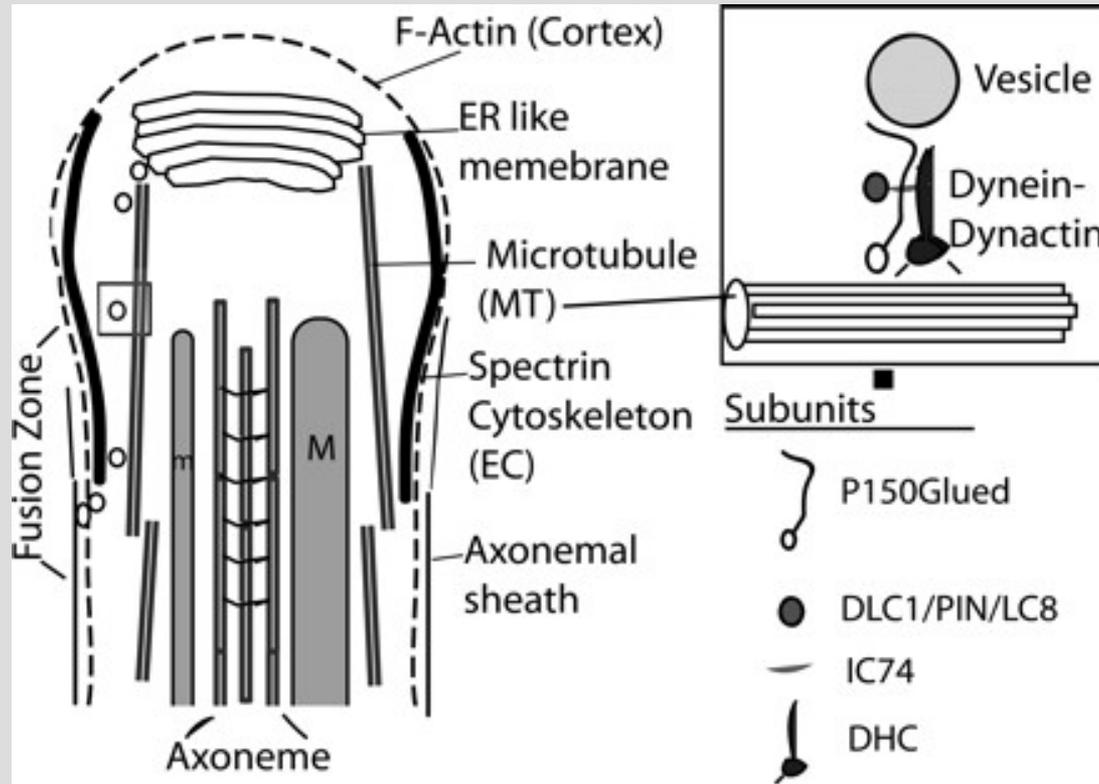


Ensemble de protéines moteurs et de stabilisation/déstabilisation du kinétochore permettent le mouvement des chromosomes

# Division cellulaire et polarité

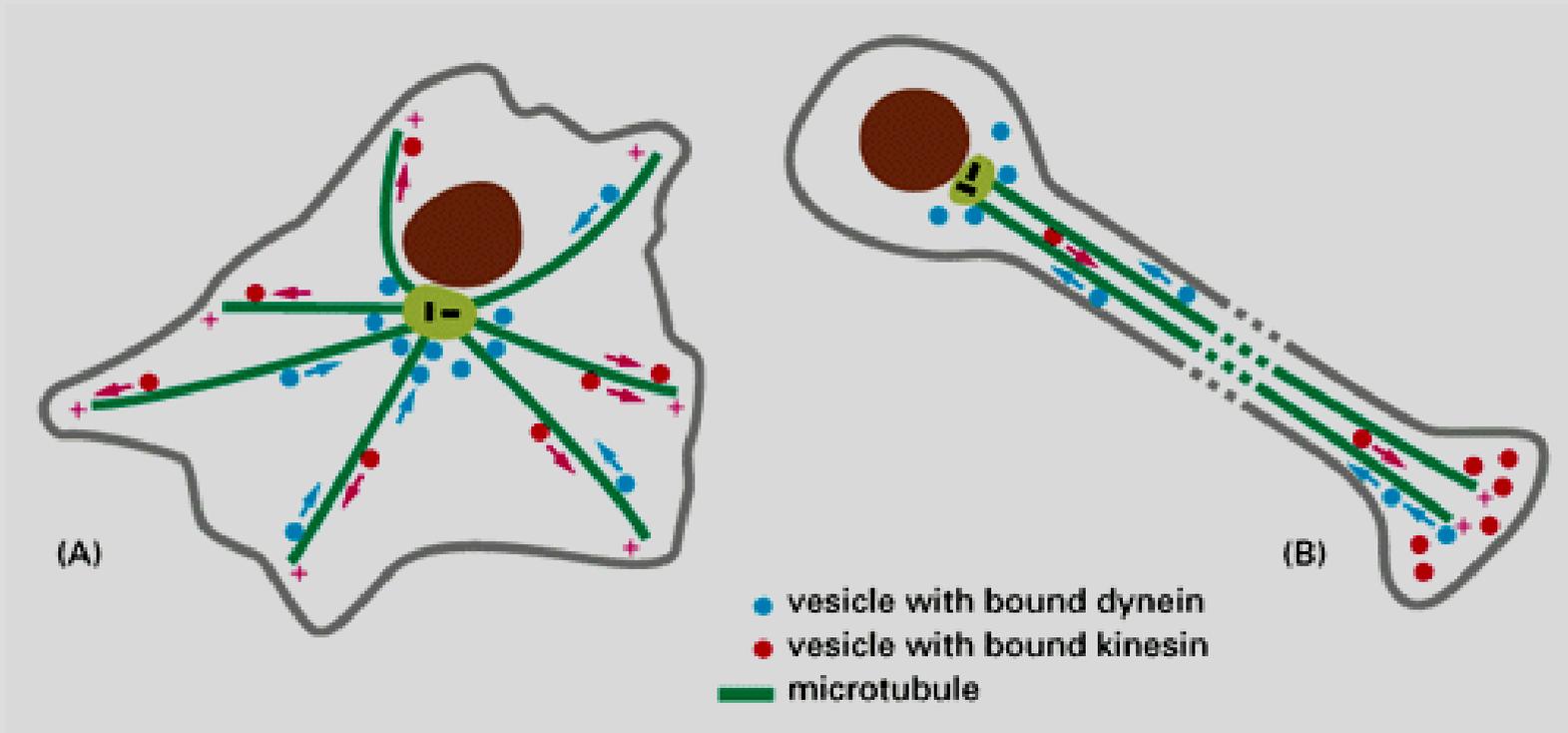


# Les transports

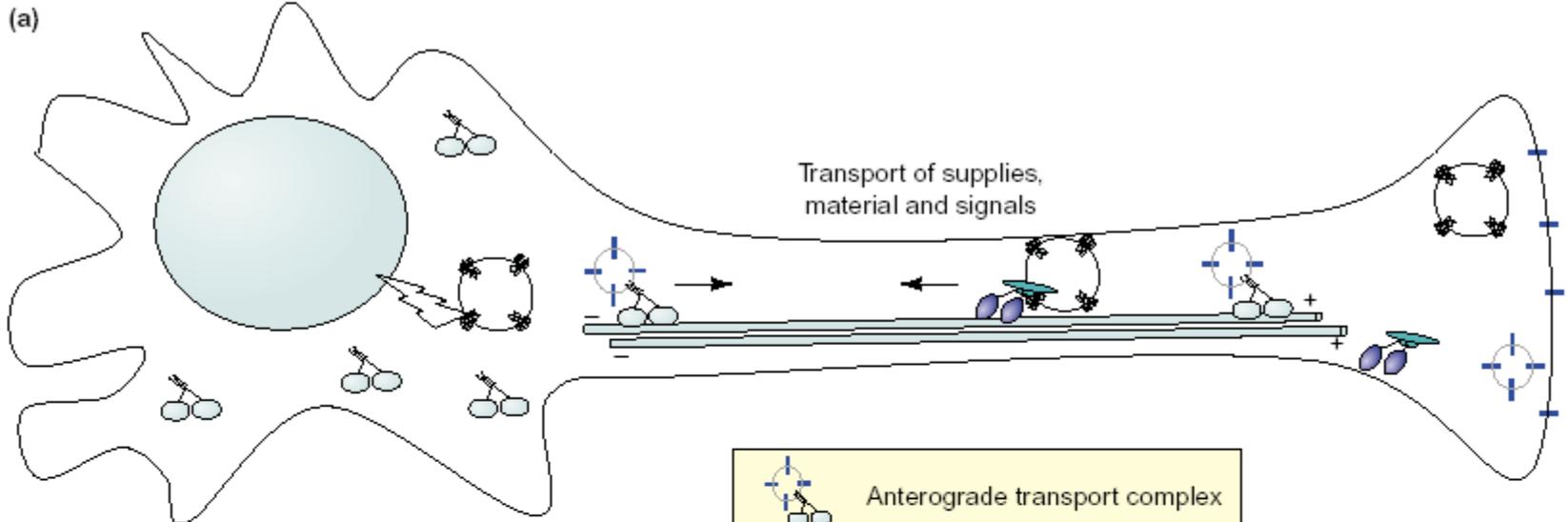


Exemple de transport: formation du flagelle des spermatozoïdes

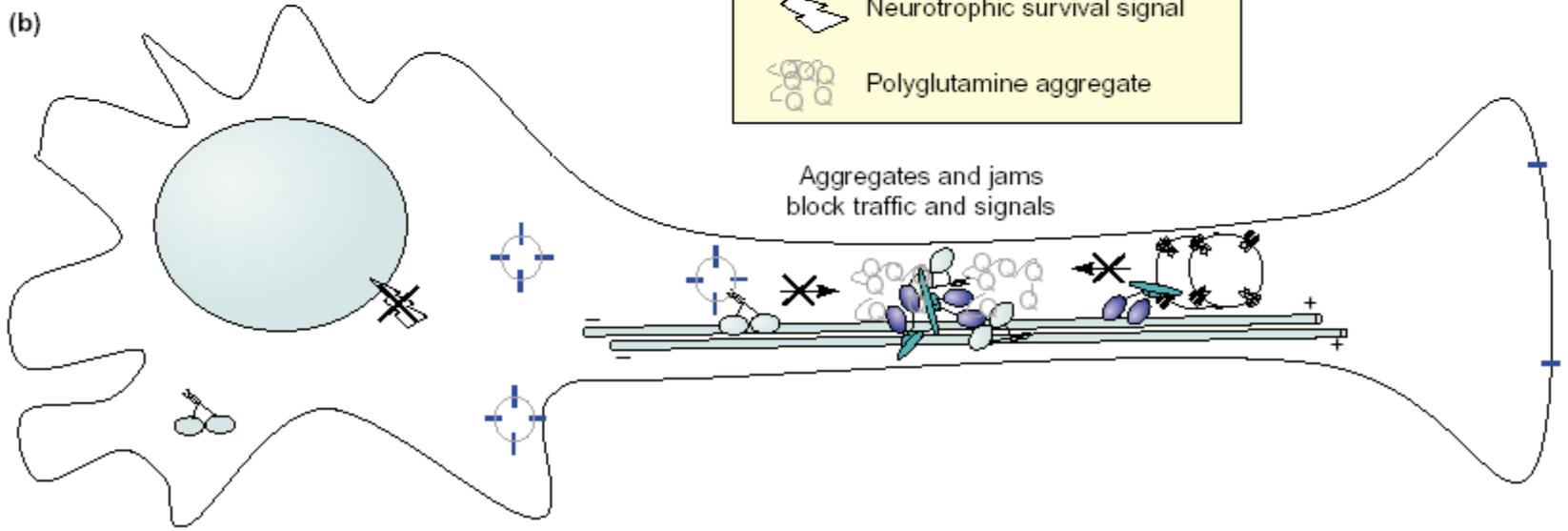
# Les transports



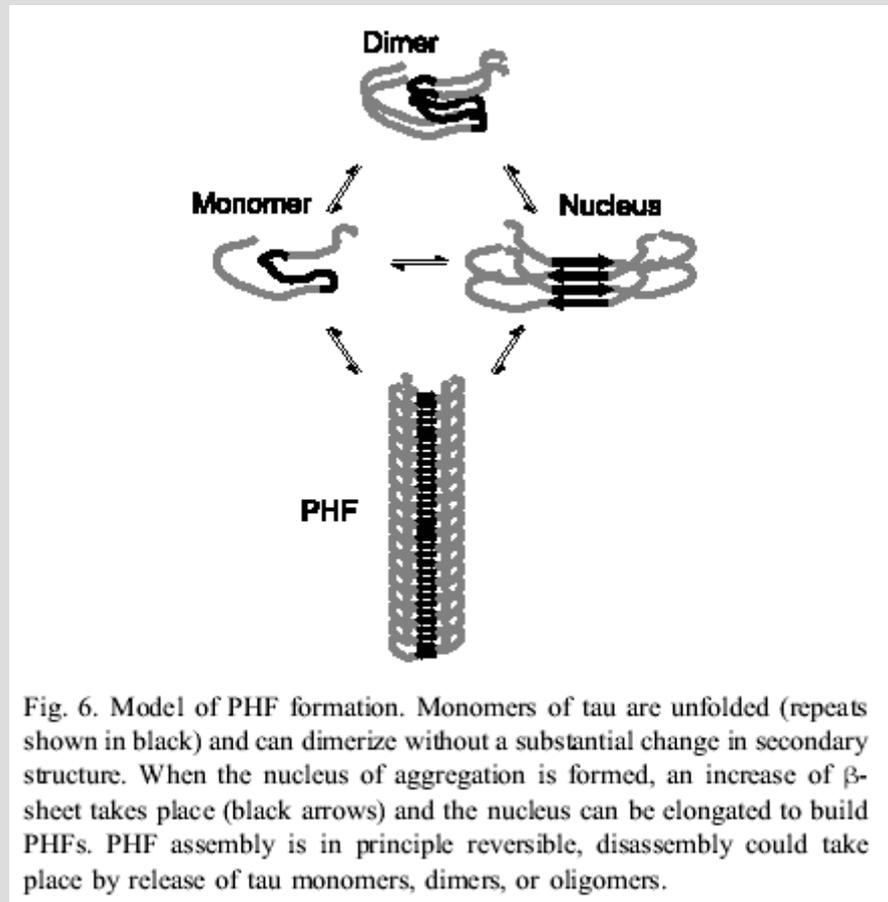
Cellules spécialisées (neurones): orientation des MT dans l'axone



	Anterograde transport complex
	Retrograde transport complex
	Neurotrophic survival signal
	Polyglutamine aggregate

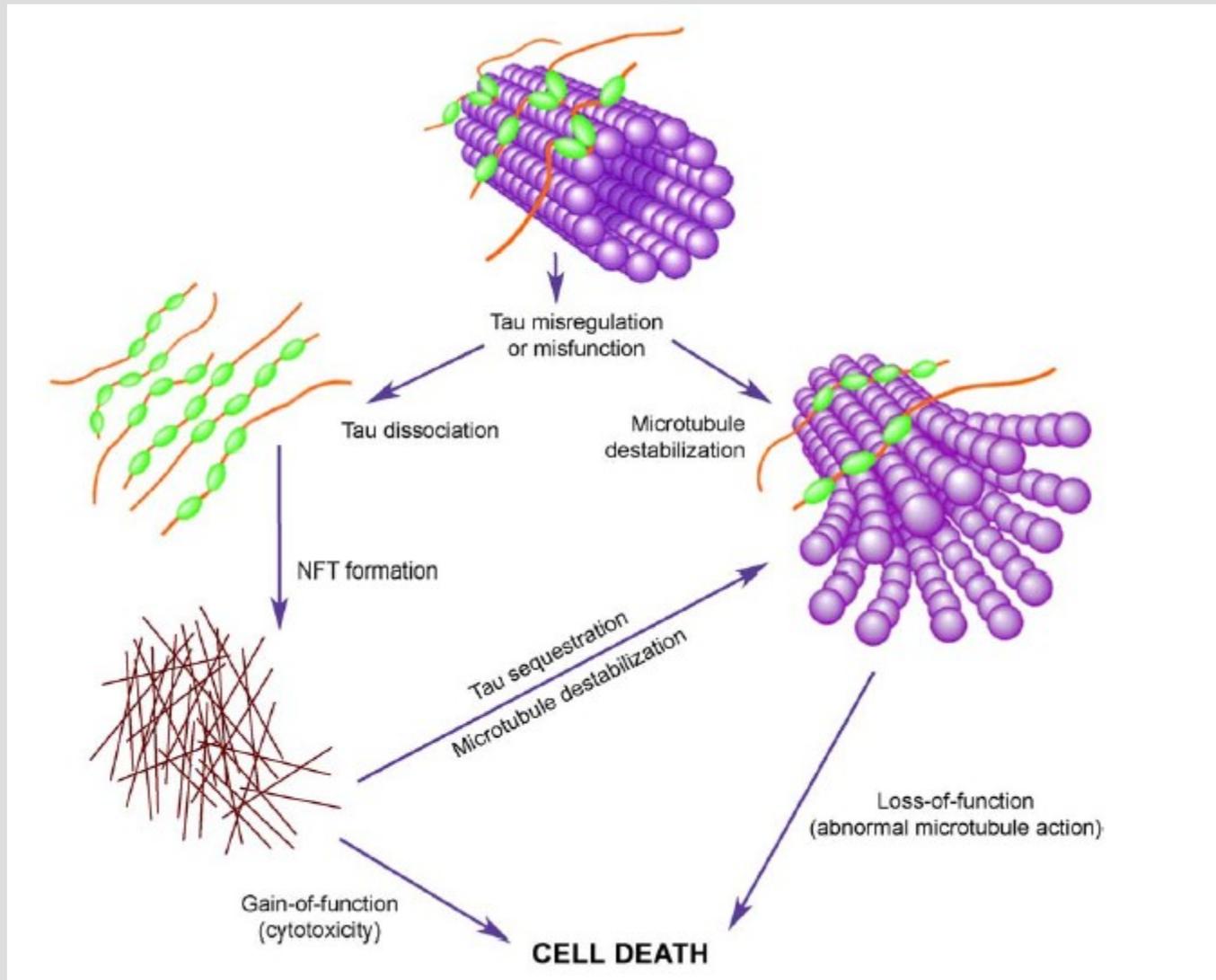


# Pathologies associées aux microtubules



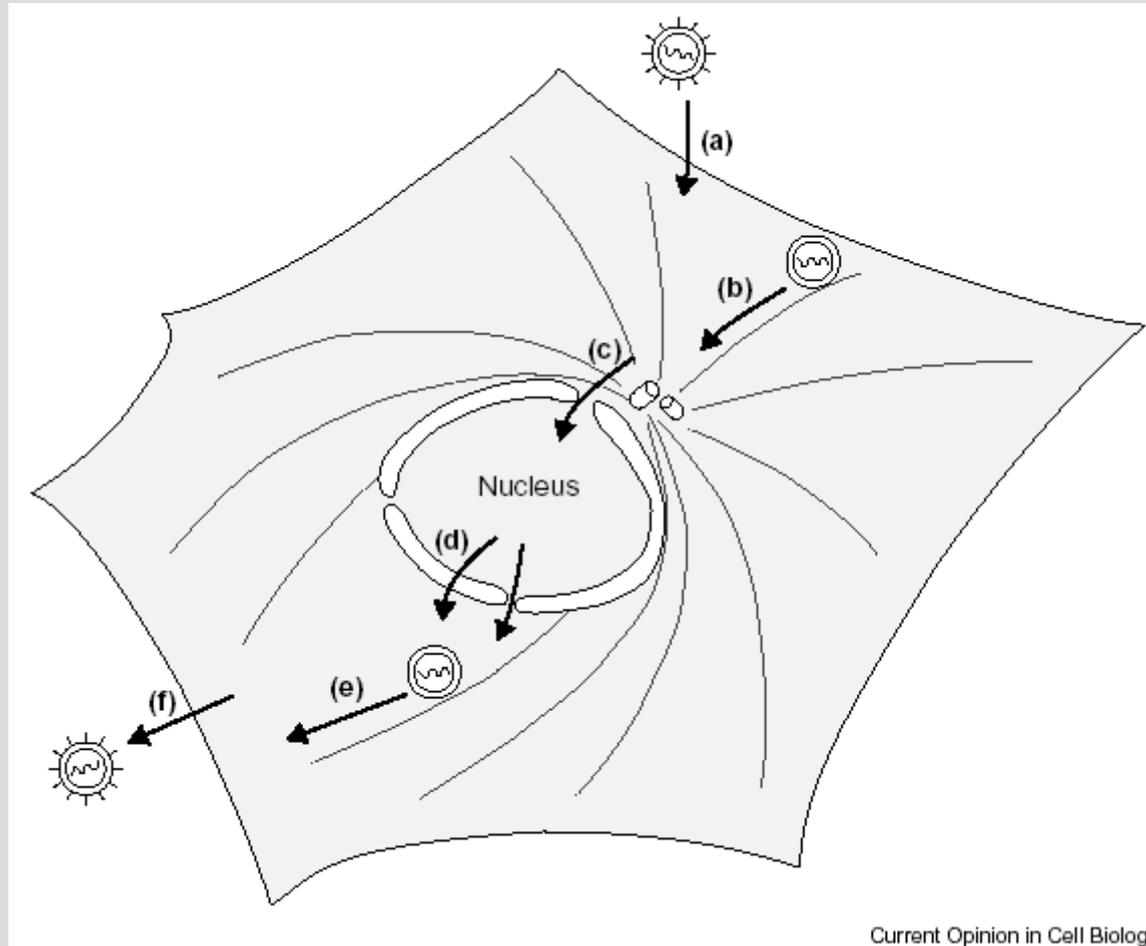
Exemple de formation d'agrégats de la protéine Tau  
PHF: paired helical filament

# 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)

