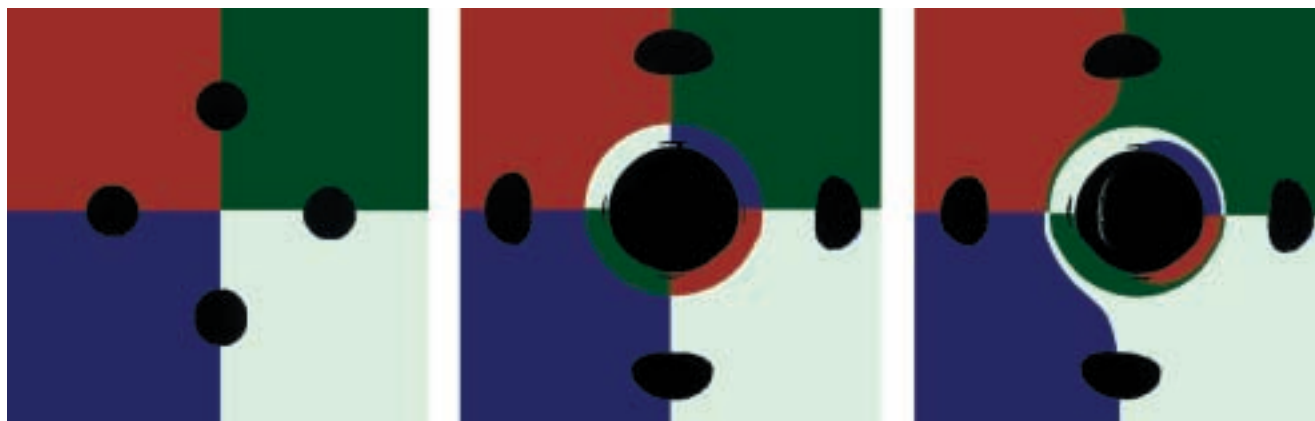


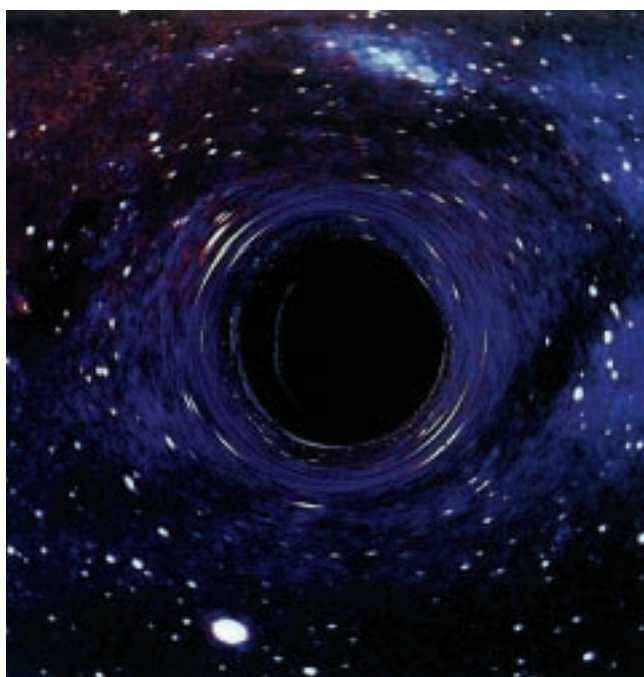


11. UN TROU NOIR agit comme une lentille gravitationnelle. Pour simuler son effet sur un arrière-plan, on divise celui-ci en quatre zones colorées différemment. Les quatre points noirs servent de repères (à gauche). Un trou noir qui se trouverait entre cette surface et l'ob-

servateur déformerait fortement l'image de la surface. La première simulation (au centre) résulte de la présence d'un trou noir statique (géométrie de Schwarzschild), la seconde (à droite), est le résultat d'un trou noir en rotation (géométrie de Kerr).



12. PHOTOGRAPHIE DU NUAGE D'ANDROMÈDE, galaxie voisine de notre Voie lactée (à gauche). Un trou noir qui se trouverait dans l'axe de visée de l'observateur agirait comme une lentille gravita-



tionnelle, et les images presque ponctuelles des étoiles se déformeraient pour ressembler à des taches circulaires ou «anneaux d'Einstein» (à droite, simulation en géométrie de Kerr).

lumineux, et les galaxies massives sont aussi des lentilles gravitationnelles. La répartition des étoiles et des nuages de gaz des galaxies fait que l'on obtient généralement plusieurs images partielles et plus ou moins intenses de la source de lumière située à l'arrière-plan. En 1979, Dennis Walsh, de l'Université de Manchester, et ses collègues Robert Carswell et Ray Weyman remarquèrent que deux quasars angulairement très proches présentaient des spectres presque identiques. Les chercheurs n'avaient pas découvert de jumeaux cosmiques, mais la première lentille

gravitationnelle : si le quasar paraît double, c'est que sa lumière est déviée par une galaxie interposée entre lui et la Terre. Nous connaissons aujourd'hui de nombreux exemples de len-

tilles gravitationnelles. La comparaison de ces observations et des simulations sur ordinateur confirment que les simulations sont conformes à la réalité.

Norbert QUIEN, Rainer WEHRSE et Christoph KINDL travaillent à la simulation sur ordinateur de trous noirs, à l'Université de Sarrebruck, en Allemagne.

Banesh HOFFMANN, *Histoire d'une grande idée, la relativité*, collection Regards sur la Science, éditions Pour la Science, 1985.

J.D. FOLEY, A. van DAM, S.K. FEINER et J.F. HUGHES, *Computers Graphics*, Addison Wesley, 1990.

J.-P. LUMINET, *Les trous noirs*, éditions du Seuil, 1992.

J. FRANK, A. KING et D. RAINE, *Accretion Power*, Cambridge University Press, 1992.

Vésicules et trafic intracellulaire

JAMES ROTHMAN • LELIO ORCI

Une collaboration transatlantique découvre la machinerie qui assure la formation des vésicules, ces conteneurs minuscules et indispensables qui stockent des protéines, puis les transportent là où elles sont nécessaires dans la cellule.

Toutes les cellules à noyau, qu'elles appartiennent aux colonies de levures, aux plantes ou à l'organisme humain, ont une organisation interne qui ressemble à celle d'une ville bien gérée. Dans les deux cas, le fonctionnement général résulte d'une coordination entre des services spécialisés. Dans les cellules, ces «services» sont délimités par des membranes et se nomment les organites.

Une visite rapide des services les plus importants d'une «cité» cellulaire commence à la membrane externe. Cet organite s'apparente aux murs d'enceinte percés de quelques portes qui entouraient autrefois les villes : la membrane contrôle l'apport de nourriture et d'autres matériaux, ainsi que l'excrétion de substances fabriquées dans la cellule. À l'intérieur des cellules, un autre service crucial joue le rôle d'une grande usine : c'est ici, dans le réticulum endoplasmique, que sont produites de nombreuses protéines, les principales molécules actives des cellules. Après leur synthèse, ces protéines sont transportées vers un autre service, l'appareil de Golgi, où elles sont modifiées (souvent par l'addition de sucres), puis expédiées vers d'autres destinations, à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule. Dans la cité cellulaire, l'appareil de Golgi est un centre de tri.

Les cellules comportent également leurs centres de recyclage, les lysosomes, qui cassent les protéines trop vieilles, ainsi que d'autres molécules, afin de récupérer leurs constituants.

Les lysosomes détruisent et recyclent également des substances externes, qui ont été captées par la cellule.

Les cellules disposent bien sûr d'un système de transport afin d'acheminer les protéines entre les différents services. Ce système est comparable aux zones de fret des aéroports : toutes les marchandises ayant une même destination sont rassemblées dans un même conteneur, une vésicule de transport, qui ne s'ouvre qu'à destination. Les cellules produisent plusieurs sortes de vésicules de transport, chacune étant spécialisée dans une voie d'expédition intracellulaire ou un type de cargaison ; elles produisent également des vésicules de transport qui stockent des substances indispensables à la communication intercellulaire (des neuromédiateurs ou des hormones, l'insuline par exemple) ; la cargaison est déversée à l'extérieur des cellules quand parvient un signal spécifique.

À l'évidence, les vésicules de transport sont indispensables au bon fonctionnement des cellules et des individus. Pendant des années, néanmoins, on a ignoré comment elles naissaient. Récemment, avec nos collègues, nous avons réussi à préciser plusieurs aspects moléculaires de leur formation. Outre leur intérêt intrinsèque, ces résultats pourraient avoir des applications médicales : les cellules tumorales, par exemple, ne peuvent se multiplier que si leurs vésicules de transport fonctionnent correctement ; en conséquence, toute substance inhibant leur

formation devrait augmenter l'effet des médicaments anticancéreux.

Notre aventure illustre bien la stratégie de la biologie cellulaire actuelle : elle se fonde sur la microscopie (qui a révélé l'existence de vésicules de transport) et elle doit la finesse de son analyse à la biochimie (qui a détaillé de nombreuses réactions moléculaires intervenant dans la formation des vésicules). Elle éclaire également le fonctionnement de la recherche scientifique. Ceux qui connaissent mal la science considèrent souvent les découvertes comme le résultat de processus impersonnels, purement intellectuels, où la logique trouve limpidement la solution des problèmes. Ils ignorent ainsi le rôle que jouent les erreurs, les coups de chance inattendus et l'acharnement opiniâtre. Et les publications scientifiques ne montrent jamais le plaisir de «la chasse» ! Une grande part du nôtre est d'avoir travaillé en étroite collaboration, malgré l'océan Atlantique qui nous séparait et ne nous permettait que des entrevues annuelles.

Qui êtes-vous donc ?

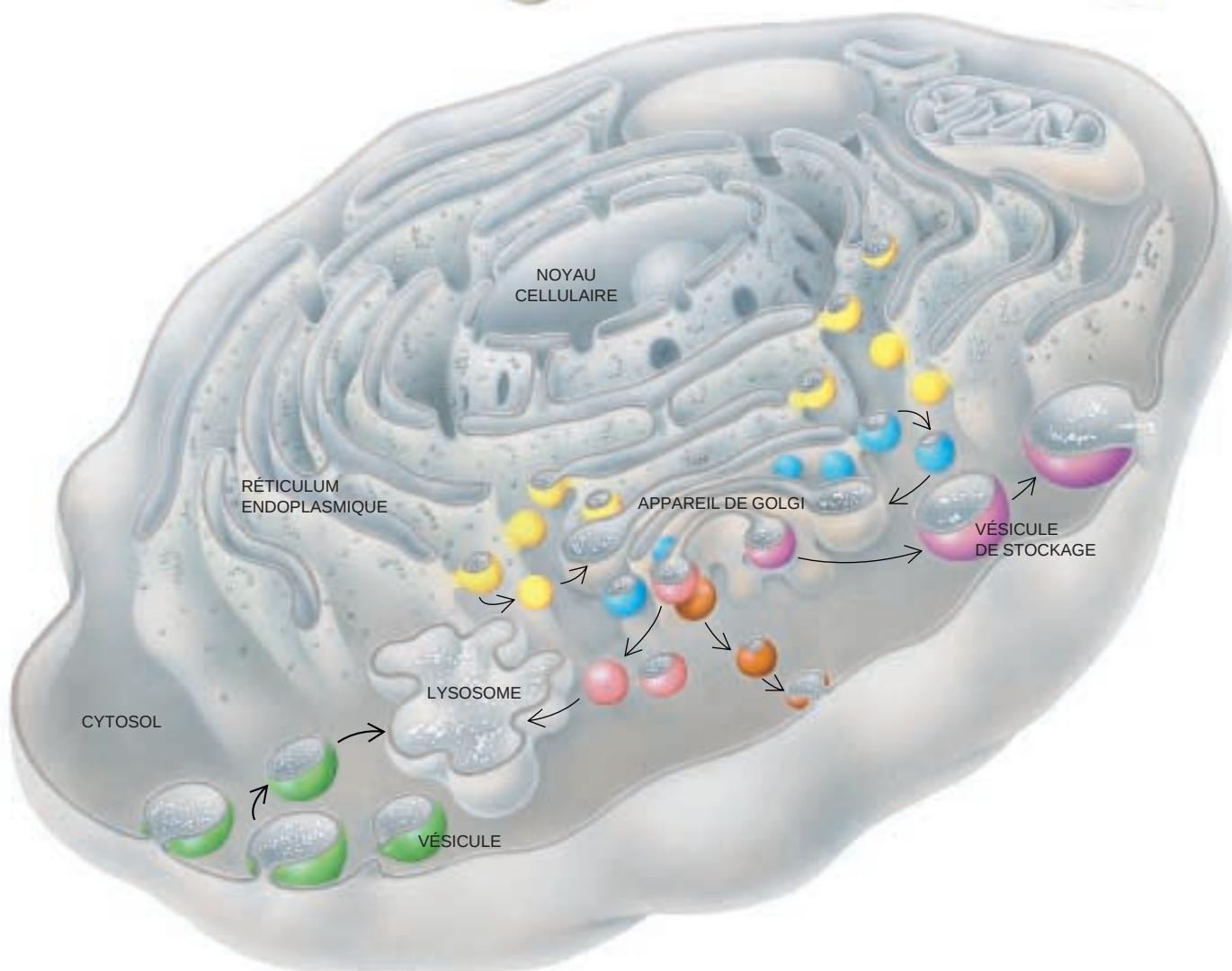
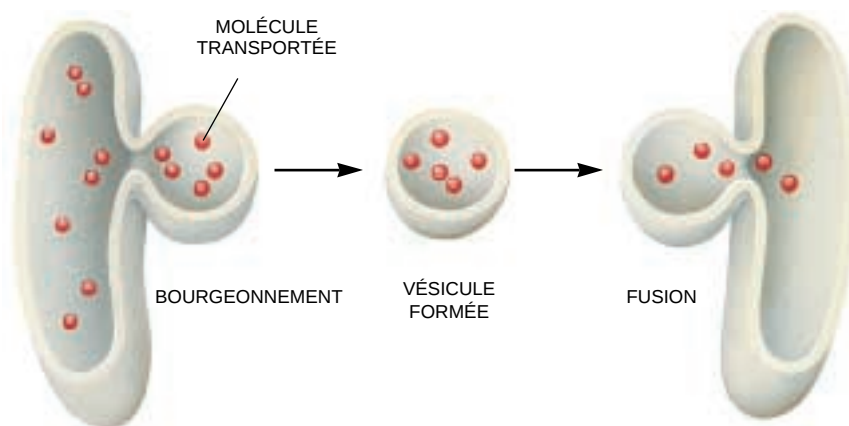
Avant le début de notre collaboration, vers le milieu des années 1980, l'examen au microscope de coupes de cellules entières avait déjà identifié quelques étapes de base du transport des protéines par des vésicules. Grâce aux travaux effectués dans les années 1960 par George Palade (prix Nobel de physiologie et de médecine en 1974), les biologistes savaient que ces

vésicules naissaient par bourgeonnement à partir de la membrane des organites : le bourgeonnement engendrait de petites poches qui se détachaient de l'organite, puis migraient dans le cytosol (ce milieu riche en protéines, où flottent les organites) et venaient se fixer sur la membrane extérieure d'un autre organite. Puis la membrane de chaque vésicule fusionnait avec celle de l'organite cible, tandis que les protéines contenues dans la vésicule se déversaient à l'intérieur de la cible. Autrement dit, une fois à destination, le «conteneur» s'ouvrait et déchargeait sa cargaison.

Afin d'élucider les mécanismes détaillés du bourgeonnement, nous

voulions l'étudier *in vitro* : hors d'une cellule, sans éléments étrangers. Avec un système de ce type, nous pouvions manipuler les éléments de la

«machine» à fabriquer des vésicules afin de déterminer quelles étaient les premières molécules à intervenir, puis les suivantes, etc. Toutefois personne



1. LES CELLULES regorgent de vésicules de transport. Certaines (*en jaune*) acheminent des protéines du réticulum endoplasmique, où elles sont fabriquées, vers l'appareil de Golgi, où elles sont modifiées. D'autres (*en bleu*) leur font faire la navette entre les divers compartiments de l'appareil de Golgi. Trois sortes de vésicules sont issues de cet appareil. Les unes (*en orange*) libèrent immédiatement des protéines hors de la cellule. D'autres – les vésicules sécrétrices (*en rose foncé*) – relarguent leur contenu

lorsqu'un signal leur en est donné. Une troisième catégorie (*en rose clair*) conduit les enzymes digestives jusqu'à des compartiments nommés lysosomes, qui dégradent des molécules variées, y compris celles que d'autres vésicules (*en vert*) ont fait entrer dans la cellule. Les vésicules naissent par bourgeonnement à partir de la membrane d'un organite (*schéma supérieur*) ; elles déchargent leur contenu (*en rouge*) par fusion de leur membrane avec celle de l'organite cible.

n'avait encore obtenu un tel système «acellulaire», jusqu'à ce que l'un d'entre nous (J. Rothman) en mette un au point, en 1980.

En 1984, J. Rothman et ses collègues publièrent un article où ils annonçaient que leur système acellulaire permettait de recréer la formation des vésicules que l'on observait dans les cellules entières : ils avaient provoqué le bourgeonnement de vésicules de transport à partir des membranes de l'appareil de Golgi, un organite composé de plusieurs compartiments. La plupart des vésicules issues de ces membranes servent de navettes entre les divers compartiments de l'appa-

reil de Golgi ; ce sont elles qui furent observées. D'autres vésicules distribuent des protéines vers des sites plus éloignés (voir *L'appareil de Golgi*, par James Rothman, *Pour la Science*, novembre 1985).

C'est alors que commença notre collaboration, de façon mémorable. Moins d'une semaine après la parution de l'article en question, en fin d'après-midi, le téléphone sonna dans le laboratoire de J. Rothman. Ce dernier, interrompant son travail, prit la communication, mais avant qu'il n'ait dit «allô», une voix grave se lança, en anglais avec un accent italien, dans un monologue soutenu, rapide et totale-

ment incompréhensible. J. Rothman, qui n'est pourtant pas avare de discours prolongés, était réduit au silence par ce flot. Après de longs instants, perplexe, il laissa son interlocuteur monologuer et reprit son travail. Après quelques instants encore, où les seuls mots perceptibles étaient «collaboration» et «nous serons confrères», J. Rothman, à bout, s'écria : «Mais qui êtes-vous donc?»

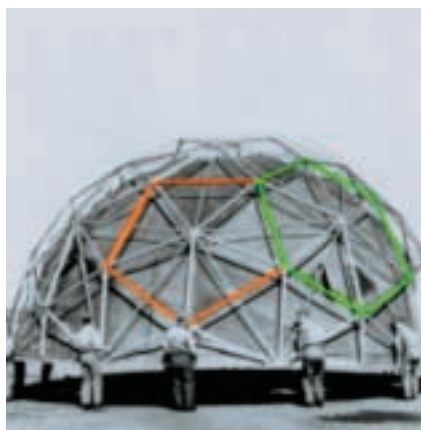
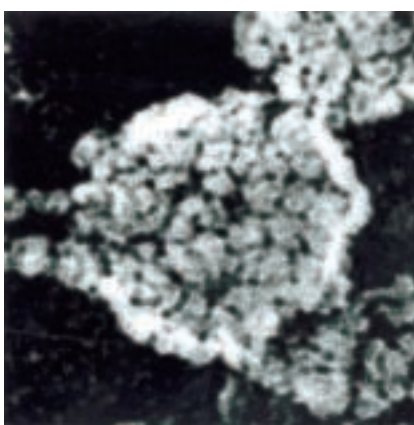
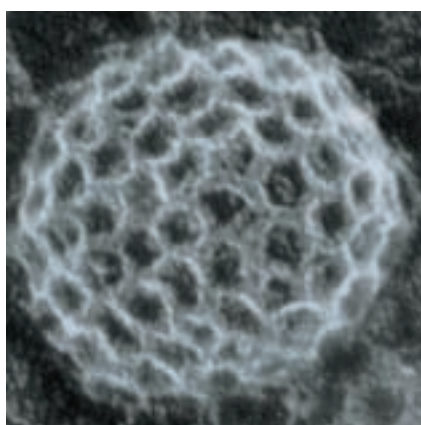
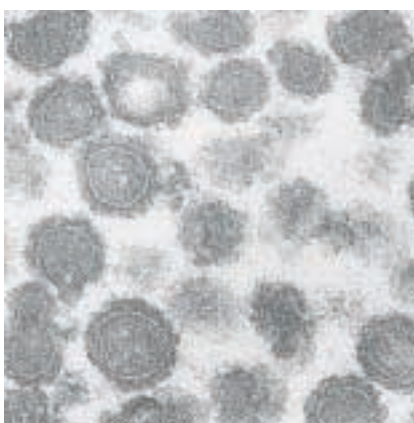
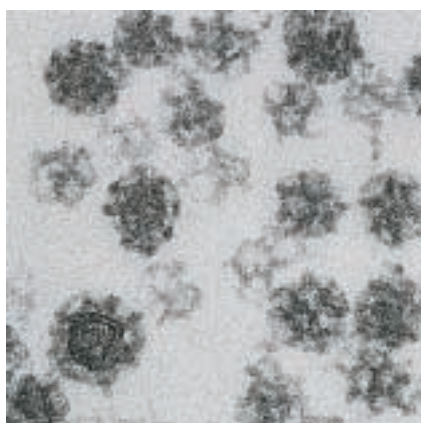
La voix marqua une pause, puis annonça très calmement et très distinctement : «Je suis Lelio Orci et j'enseigne à l'Université de Genève.»

Naturellement, J. Rothman reconnut immédiatement ce nom : L. Orci était un chercheur bien connu en microscopie électronique. Il présenta ses excuses, tandis que L. Orci parla plus lentement, et il s'ensuivit une conversation longue et productive, alors qu'il était déjà largement plus de minuit à Genève.

Idée fausse, travail fructueux

Quelques semaines plus tard, J. Rothman était à Genève pour établir un projet qui utiliserait les techniques de microscopie genevoises afin de déterminer si les vésicules qui bourgeonnaient de l'appareil de Golgi, dans les extraits acellulaires, étaient douées de propriétés particulières. Nous voulions notamment savoir si ces vésicules étaient recouvertes d'une pellicule épaisse et enveloppante, essentiellement composée d'une protéine fibreuse nommée clathrine.

Nous nous posions cette question, car on savait que certaines vésicules de transport possédaient des enveloppes de ce type, le seul connu à l'époque (les vésicules à enveloppe de clathrine véhiculent des protéines de l'extérieur de la cellule vers les lysosomes, où elles sont dégradées ; elles résultent d'un bourgeonnement de la membrane externe de la cellule, vers le cytosol). Toutefois, en l'absence d'un système acellulaire, on n'avait pas pu décrypter ce mécanisme de bourgeonnement. Si L. Orci parvenait à confirmer que les vésicules originaires de l'appareil de Golgi étaient enveloppées de clathrine, J. Rothman pourrait alors entreprendre immédiatement des études biochimiques dans son système acellulaire, afin d'établir un modèle de formation de ces vésicules.



2. COMPARAISON DES ENVELOPPES de clathrine et de protéines COP. On trouve des enveloppes de clathrine principalement sur des vésicules qui apportent aux lysosomes des substances provenant de l'extérieur de la cellule. Des images de microscopie électronique montrant une coupe (*en haut à gauche*) ou la surface (*au centre à gauche*) de ces vésicules révèlent l'organisation de l'enveloppe. Sa constitution en hexagones et en pentagones rappelle celle d'une structure architecturale nommée «dôme géodésique» (*en bas à gauche*). Des enveloppes composées de protéine COP (*à droite, en haut et au centre*) recouvrent les vésicules de transport qui bourgeonnent à partir de l'appareil de Golgi. Leur structure est très différente des enveloppes de clathrine.

Un premier modèle avait été proposé vers 1960, à partir d'études de Toku Kanaseki et de Ken Kadota, de l'Université d'Osaka. En 1969, T. Kanaseki et K. Kadota purifièrent des vésicules enveloppées et découvrirent que la structure de ces enveloppes avait une régularité étonnante. L'explication de cette régularité apparut six ans plus tard, lorsque Barbara Pearse, à Cambridge, découvrit que cette enveloppe était principalement composée de plusieurs exemplaires d'une protéine qu'elle nomma clathrine. T. Kanaseki et K. Kadota comprirent ensuite que le bourgeonnement provenait de cette protéine : l'élaboration de la « cage » de clathrine, probablement à partir d'éléments membranaires, déformerait la membrane sous-jacente (qui est une structure très malléable) pour constituer, une fois détachée de la membrane d'origine, la fameuse vésicule enveloppée.

Vers 1984, ce modèle simple avait montré ses limites. Lorsque J. Rothman obtint un bourgeonnement dans ses tests *in vitro*, il observa que ce processus ne pouvait pas se produire à partir des membranes isolées seules : le cytosol était nécessaire, ainsi qu'une source d'énergie, ce qui indiquait que l'enveloppe provenait de substances

contenues dans le cytosol. Toutefois le modèle originel de T. Kanaseki et K. Kadota était attrayant et méritait d'être testé.

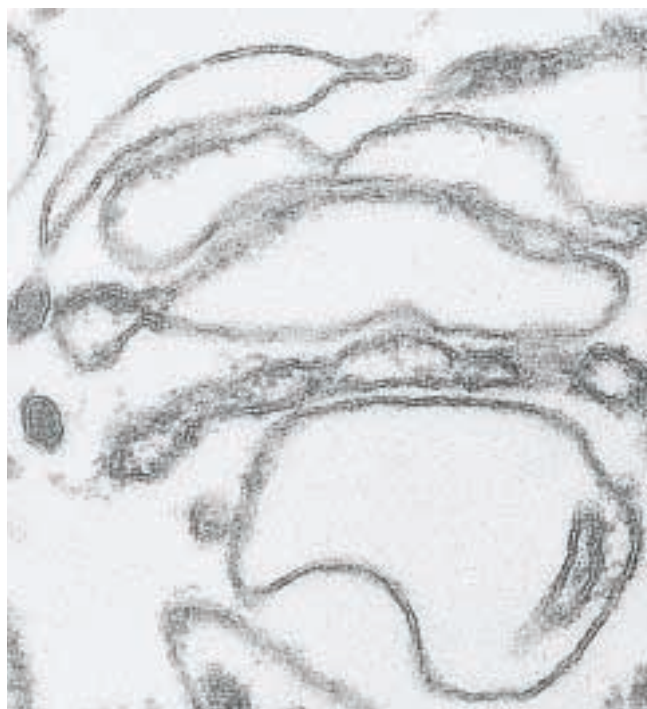
Peu après le retour de J. Rothman à Stanford, l'un de ses étudiants commença à donner suite au projet : Benjamin Glick forma, *in vitro*, des vésicules de transport en incubant l'appareil de Golgi en présence de cytosol et d'une source d'énergie. Il envoya alors à Genève les échantillons qu'il avait prélevés pour une analyse au microscope. En quelques jours, l'équipe genevoise détermina que les vésicules issues de l'appareil de Golgi étaient effectivement recouvertes d'une enveloppe, mais d'un type complètement différent des enveloppes de clathrine : les anticorps spécifiques contre la clathrine ne la

reconnaissaient d'ailleurs pas. Ainsi les cellules utilisaient au moins deux classes de vésicules de transport. On sait aujourd'hui qu'il y a encore d'autres sortes de vésicules de transport et qu'à chacune correspond une enveloppe distincte.

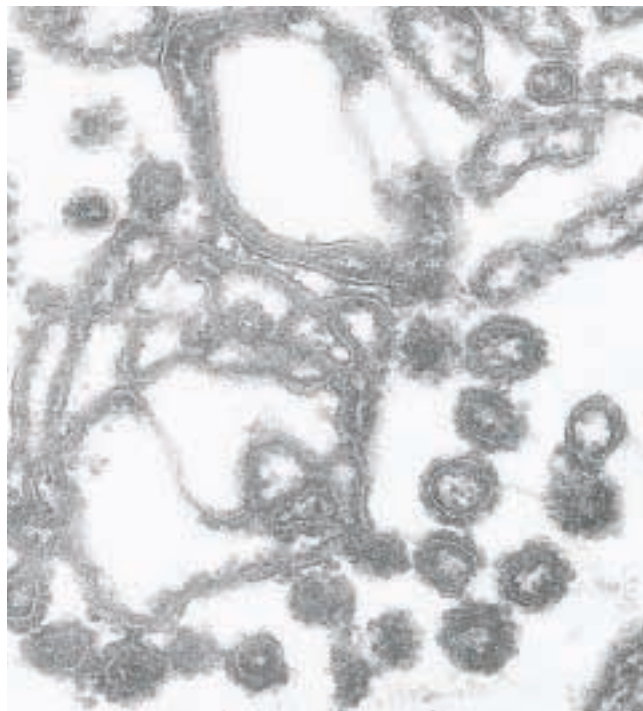
Cette première observation montre l'intérêt des erreurs : notre hypothèse erronée – la présence d'enveloppe de clathrine autour des vésicules de l'appareil de Golgi – nous a amenés à faire une expérience qui nous a détournés des vésicules recouvertes de clathrine et nous a conduits vers une nouvelle voie de recherche qui a permis d'élucider la formation des vésicules de transport en général. Entre-temps, la compréhension des mécanismes de formation des vésicules recouvertes de clathrine a pro-



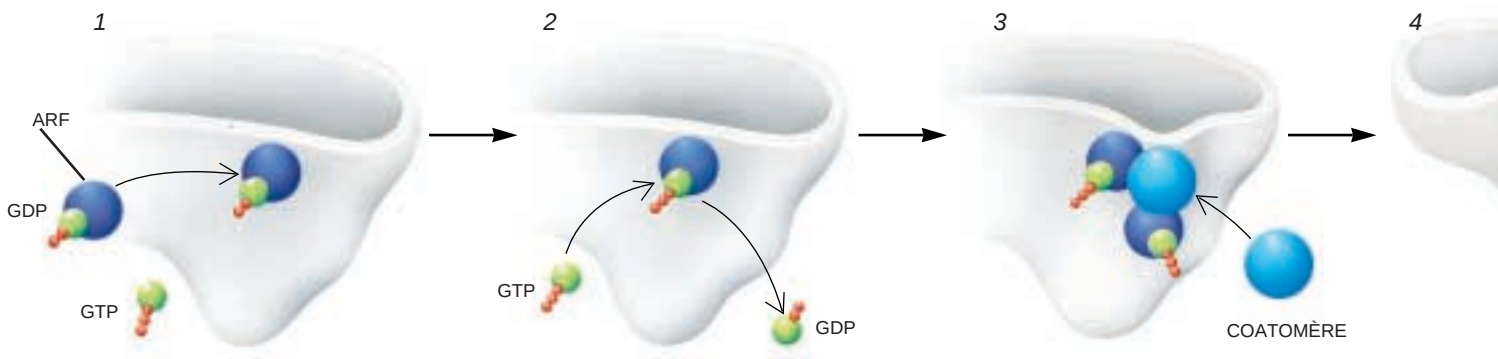
3. Deux vésicules COP en cours de bourgeonnement, à partir d'une membrane de l'appareil de Golgi.



4. LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE a révélé que le bourgeonnement des vésicules COP est commandé par les coatomères (voir la figure 5). Lorsque seule la protéine ARF est fixée aux membranes de l'appareil de Golgi, aucun bourgeonnement ne se produit ; les membranes



restent planes (micrographie de gauche). En revanche, la liaison de coatomères à ces membranes, déjà pourvues de molécules d'ARF, déclenche le bourgeonnement de vésicules enveloppées (micrographie de droite).



5. LA FORMATION D'UNE VÉSICULE COP sur une membrane de l'appareil de Golgi est bientôt suivie de l'élimination de l'enveloppe. La vésicule commence à se développer (1) quand une protéine, l'ARF, liée à une très petite molécule nommée GDP, adhère à la membrane. Bientôt (2) une enzyme remplace la GDP par la GTP, modification qui permet à l'ARF de recruter un complexe de protéines : le coatomère

(3). La liaison de l'ARF et de coatomères provoque la formation d'un bourgeon (4), puis son détachement (5) de la membrane. La vésicule ne fusionne ensuite avec son organite cible qu'après l'élimination de son enveloppe, ce qui se produit lorsque la conversion de la GTP en GDP, par libération d'un groupe phosphate (partie droite de 5), provoque le détachement des molécules d'ARF et des coatomères (6 et 7).

gressé plus lentement ; il y a peu de temps que l'on a obtenu un système acellulaire pour les étudier.

Pour comprendre comment se forment les vésicules issues de l'appareil de Golgi, nous devons d'abord connaître la composition de leur enveloppe. Cette recherche dura plusieurs années. Avant tout, il nous fallait isoler un échantillon pur de ces sphères minuscules, ce qui était alors une tâche redoutable. Après bien des déboires, en 1989, Vivek Malhotra et Tito Serafini en isolèrent une quantité infime, mais suffisante pour des analyses qui démontrèrent que l'enveloppe était composée de huit types de protéines que nous avons nommées protéines COP (de l'anglais *COat Protein*, c'est-à-dire «protéine d'enveloppe»).

Un nouveau type d'enveloppe

Pour clarifier le mécanisme du bourgeonnement, nous avons alors étudié les protéines COP et leurs interactions. En 1990, nous avons d'abord découvert que sept des huit types de protéines COP forment un gros complexe avant de se fixer en bloc à la membrane de Golgi. Nous avons nommé coatomères ces complexes ; les protéines de la huitième sorte se fixaient indépendamment. Cette découverte simplifiait les choses : nous pouvions dès lors analyser les étapes principales du bourgeonnement sans devoir étudier séparément chaque protéine de l'enveloppe.

Puis la chance intervint, et nos esprits, préparés à la recevoir, en tirèrent parti. Un soir de 1990, dans le labo-

ratoire de J. Rothman, Gerard Waters était en train d'examiner ses résultats après avoir essayé de purifier une substance qui est nécessaire pour que les vésicules de transport fusionnent avec les membranes des organites cibles. Par pure coïncidence, T. Serafini passait par là et, en regardant par-dessus l'épaule de G. Waters, il fut stupéfait de ce qu'il aperçut.

Expliquons brièvement pourquoi. Pour purifier une protéine, on sépare les composants d'un extrait cellulaire en différents groupes, ou fractions, selon leurs propriétés physiques et chimiques, puis on teste chaque fraction à la recherche de l'activité attendue (on examine, dans notre cas, si la fraction provoque la fusion d'une vésicule et d'une membrane). Puis on subdivise les fractions actives et l'on teste à nouveau les fractions de fractions. Généralement on élimine les fractions inactives. On obtient finalement un échantillon ne contenant que la protéine douée de l'activité biologique considérée : une protéine purifiée.

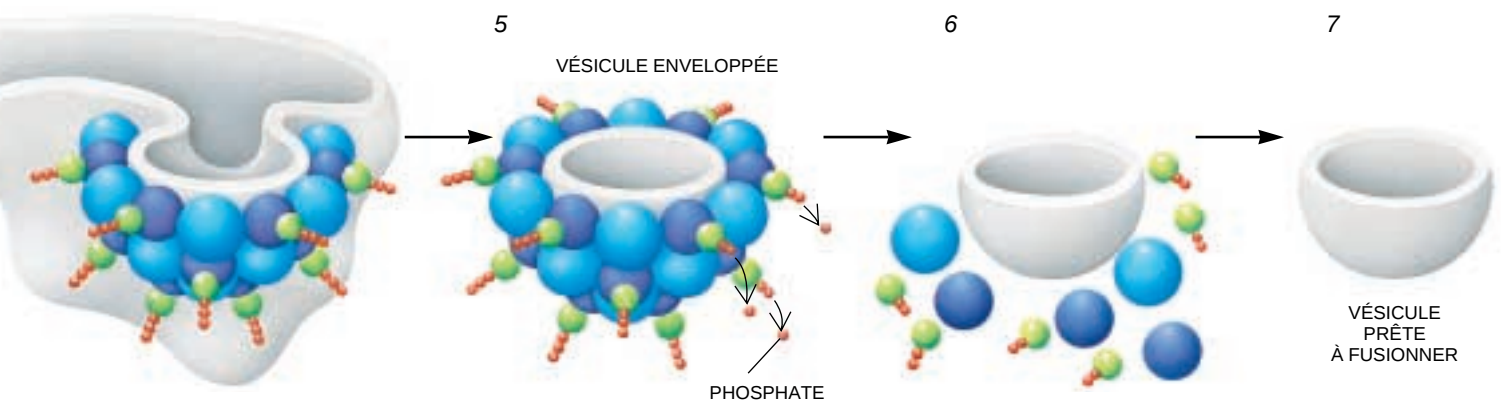
Par acquit de conscience, G. Waters venait d'analyser encore une fois le contenu protéique d'une fraction qui n'était pas active et que, depuis des mois, il éliminait parce qu'elle semblait inutile. C'est précisément ce contenu protéique qui avait frappé T. Serafini, tant il ressemblait à ce que lui-même et V. Malhotra avaient précédemment identifié comme les protéines COP.

Rapidement l'analyse montra que la fraction inactive était, en effet, presque essentiellement constituée de sept protéines COP, étroite-

ment associées. Nous savions qu'elles étaient associées, car cette fraction résistait obstinément à toute tentative de fractionnement supplémentaire. C'était un comble ! Tandis qu'une partie du laboratoire de J. Rothman s'évertuait à isoler des vésicules enveloppées (afin d'obtenir des quantités infimes des protéines de l'enveloppe), l'autre possédait ces mêmes protéines à foison, et les jetait ! Grâce à la vigilance de T. Serafini et de G. Waters, ce gaspillage prit fin, on admit l'existence du coatomère et des années d'efforts furent épargnées. Nous avons maintenant à notre disposition une source intarissable des protéines du coatomère.

Nous nous sommes alors intéressés à la huitième protéine. Pour diverses raisons, nous soupçonnions qu'elle correspondait à une molécule dénommée ARF (pour *Adenosine-diphosphate Ribosylation Factor*, ou «facteur de ribosylation de l'adénosine diphosphate»). Cette molécule fut décrite pour la première fois par Richard Kahn et Alfred Gilman, de l'Université du Texas, et l'on savait qu'elle permettait à la toxine du choléra de provoquer la maladie. Toutefois son rôle «normal» chez l'individu demeurait un mystère. Grâce à R. Kahn, qui nous donna des anticorps spécifiques contre cette molécule, nous avons établi que la huitième protéine COP était bien l'ARF.

Après six années de travail acharné, nous avions ainsi toutes les protéines de l'enveloppe à l'état pur et nous étions enfin prêts à décrypter le mécanisme du bourgeonnement. Nous avons commencé ce projet en 1991,



après le déménagement du laboratoire de J. Rothman au Centre de recherche sur le cancer Memorial Sloan-Kettering, à New York, et nous avons énormément progressé en deux années seulement.

Le bourgeonnement est dévoilé

Nous nous sommes d'abord demandés si le coatomère et l'ARF étaient les seules protéines nécessaires au bourgeonnement des vésicules COP issues de l'appareil de Golgi : d'autres protéines intervenaient-elles au moment du bourgeonnement ? Un premier travail a montré que non. Bien que nous ayons initialement utilisé des extraits de cytosol brut, contenant plusieurs milliers de protéines différentes, les méthodes de la biochimie ont indiqué que le coatomère et l'ARF faisaient le travail toutes seules.

Puis nous avons voulu ajouter les protéines une par une, et non toutes ensemble, afin de déterminer les rôles respectifs de chacune. Nous avons observé que l'ARF se fixait à la membrane de l'appareil de Golgi en l'absence du coatomère, puis attachait ce dernier à la membrane. Ainsi le coatomère ne s'associe pas directement à l'appareil de Golgi. La microscopie électronique révéla que, lorsque l'ARF est fixé seul à la membrane de l'appareil de Golgi, celle-ci demeure plane, alors que l'ajout de coatomère et d'ARF provoque le bourgeonnement d'une vésicule. Ainsi l'ARF et le coatomère ont des rôles distincts dans la formation des vésicules de transport : le coatomère commande la déformation de la membrane et le bourgeonnement, tandis que l'ARF déclenche ces événements, en signifiant au coatomère où et quand faire son travail.

Nous avons ensuite progressivement élucidé des étapes intermédiaires du bourgeonnement. L'ARF, qui flotte dans le cytosol, est normalement reliée à une molécule de guanosine diphosphate (GDP) : une molécule composée d'une base azotée, d'un sucre et de deux groupes phosphate. Lorsque le complexe du GDP relié à l'ARF rencontre l'appareil de Golgi, une enzyme membranaire remplace le GDP par une molécule apparentée provenant du cytosol, la guanosine triphosphate (GTP), qui porte trois groupes phosphate. Cette modification est doublement importante : d'une part, seule l'ARF associée à la GTP peut s'arrimer solidement à la membrane, ce qui permet ensuite au coatomère de se lier ; d'autre part, la fixation de la GTP sur l'ARF apporte une énergie qui est importante pour la formation de la vésicule.

Comment s'effectue alors le bourgeonnement ? Chaque coatomère s'accroche à la membrane par une ou plusieurs molécules d'ARF ; leur nombre exact n'est vraisemblablement ni constant ni important. Nous pensons (mais nous n'en avons pas encore la preuve) que ces complexes s'enchaînent alors régulièrement, les uns à côté des autres, jusqu'à former une cage analogue à celles de clathrine sur la membrane. Progressivement ce réseau s'accroît et s'incurve, transformant en vésicule la partie de membrane qui est emprisonnée dans l'enveloppe. L'émergence des vésicules COP résulte ainsi du même mécanisme que celui qui engendre les vésicules recouvertes de clathrine. Pour qu'une vésicule bourgeonne, une nouvelle enveloppe doit s'élaborer, pièce par pièce, à partir de constituants du cytosol ; en outre, l'assemblage est commandé par l'ARF et nécessite de l'énergie apportée par la GTP.

Bien que l'enveloppe soit primordiale pour le bourgeonnement des vési-

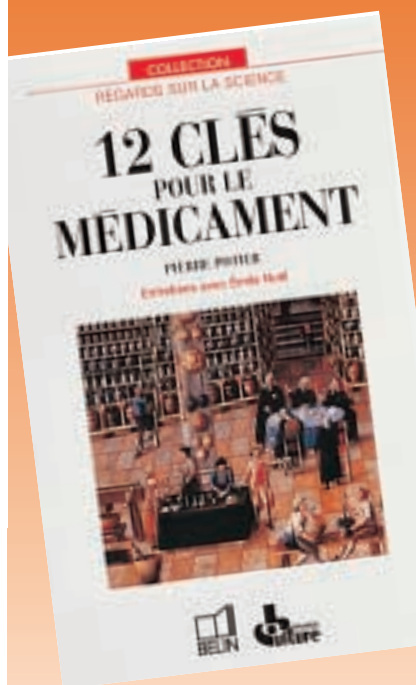
cules COP, elle empêche ultérieurement la fusion de la membrane de la vésicule avec celle de l'organite cible ; la vésicule doit donc perdre son enveloppe pour fusionner avec sa cible et y déverser son contenu. Ce « déshabillage » se fait par le mécanisme inverse de celui qui élabore l'enveloppe : dans une vésicule portant encore son enveloppe, les molécules d'ARF restent associées à la GTP. Bientôt pourtant, un groupe phosphate de la GTP est coupé, formant la GDP et libérant de l'énergie. De ce fait, les molécules ARF perdent leur affinité pour la membrane vésiculaire et s'en détachent. Les coatomères se dissocient également, puisque l'ARF est indispensable à leur liaison ; ils laissent derrière eux une vésicule « dévêtue », libre de fusionner avec un organite cible. Ainsi, au cours du bourgeonnement, la cellule installe quelques « bombes GTP à retardement » dans l'enveloppe, à la suite de quoi les charges éclatent pour éliminer cette enveloppe.

Comme celle-ci se désagrège avant que la vésicule n'atteigne sa destination, elle ne sert manifestement pas à diriger la vésicule vers sa cible. On suppose plutôt que la membrane vésiculaire contient d'autres protéines qui se chargent de cette fonction et qui attirent également des protéines supplémentaires nécessaires à la fusion proprement dite des vésicules avec la membrane de leur cible.

Un mécanisme commun

Toutes les vésicules de transport se forment-elles comme les vésicules COP ? On l'a pensé quand des collègues de J. Rothman ont découvert que l'élaboration de l'enveloppe de clathrine est également déclenchée par la fixation, sur les membranes, de molécules d'ARF associées à de la GTP. Partis de la clathrine, nous y revenons.

Entretiens avec Émile Noël



12 CLÉS POUR LE MÉDICAMENT

La plupart des médicaments actuels sont d'origine naturelle. Découverts le plus souvent par hasard, certains sont hérités du passé, d'autres sont plus récents. La quête de nouveaux produits toujours plus efficaces et mieux tolérés reste l'un des objectifs de la recherche de pointe.

Code : 2020 215 pages – 75 F



Bon de commande en p. 98

En réalité, la plupart des vésicules observées au microscope dans les cellules ne semblent pas être enveloppées : faut-il en conclure que le phénomène de bourgeonnement que nous avons décrit ne concerne que les vésicules COP ou les vésicules à clathrine ? Bien sûr que non. Cette absence fréquente d'enveloppe est simplement due au fait que l'enveloppe se désagrège rapidement après le bourgeonnement, rendant difficile sa visualisation par les méthodes classiques d'observation. C'est ainsi que, dans l'histoire de la découverte des vésicules, on a souvent supposé que leur formation survenait par un mécanisme différent de celui expliqué ici... jusqu'au moment où un système acellulaire de bourgeonnement était mis au point et permettait de surprendre l'état transitoirement « habillé » de la vésicule.

Ainsi les vésicules qui transportent des protéines du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi sont les dernières en date pour lesquelles on a récemment trouvé une enveloppe. Randy Schekman, de l'Université de Berkeley, L. Orci et leurs collaborateurs respectifs ont montré que, dans ce cas, le rôle de l'ARF est tenu par une molécule analogue et qui déclenche le bourgeonnement. Un autre ensemble de protéines, nommées protéines COP II, remplace le coatomère.

Aujourd'hui il est quasi certain que toutes les cellules à noyau utilisent le même principe de formation des vésicules de transport. Ce système est si efficace qu'il a été conservé lorsque des espèces très simples, unicellulaires, ont évolué et formé des êtres pluricellulaires plus complexes. L'ARF ou une molécule apparentée déclenche la formation de l'enveloppe en captant

de la GTP et en se fixant sur la membrane. Cet initiateur recrute ensuite des composants supplémentaires, qui s'enchaînent en un dôme sphérique. Ainsi une petite partie de la membrane bourgeonne sous la forme d'une vésicule recouverte par une enveloppe. Ultérieurement les molécules de GTP favorisent l'élimination de l'enveloppe, pour laisser la vésicule fusionner avec un organelle cible.

Si l'enveloppe n'est importante que pour le bourgeonnement, pourquoi les cellules en utilisent-elles plusieurs sortes ? Sans doute parce que l'enveloppe sélectionne le contenu des vésicules. Parfois les protéines transportées se trouvent dans la membrane, directement fixées sur l'enveloppe. Parfois la « cargaison » est associée à l'enveloppe par un intermédiaire – un récepteur – qui plonge dans la membrane. L'emploi d'enveloppes différentes permettrait d'« embarquer » différentes cargaisons à partir d'un point de départ unique ou de compartiments différents.

D'autres questions restent ouvertes. On connaît mal, notamment, le mécanisme détaillé de la fixation de l'ARF ou des molécules analogues à la membrane, ou de l'ancrage aux protéines du coatomère. Certains lipides (des molécules de graisse) semblent aider l'ARF à capter le coatomère, et les protéines de transport pourraient participer à l'élaboration de l'enveloppe. Nous aimerions également mieux connaître les activités spécifiques des diverses sous-unités du coatomère. La biologie des vésicules a bien progressé, et il est apparu qu'aucune ville n'est aussi efficace que les cellules pour acheminer ses travailleurs de place en place.

James ROTHMAN dirige le Programme de biochimie et biophysique du Centre de recherche sur le cancer Memorial Sloan-Kettering. Lelio ORCI est directeur du Département de morphologie et professeur d'histologie et de biologie cellulaire à l'Université de Genève.

L. ORCI, B.S. GLICK et J.E. ROTHMAN, *A New Type of Coated Vesicular Carrier That Appears Not to Contain Clathrin : Its Possible Role in Protein Transport within the Golgi Stack*, in *Cell*, vol. 46, n° 2, pp. 171-184, 1986.

M.G. WATERS, T. SERAFINI et J.E. ROTHMAN, «Coatomer» : A Cytosolic Protein Complex Containing Subunits of Non-

Clathrin-Coated Golgi Transport Vesicles, in *Nature*, vol. 349, pp. 248-251, 17 janvier 1991.

T. SERAFINI, L. ORCI, M. AMHERDT, M. BRUNNER, R.A. KAHN et J.E. ROTHMAN, *Coated Vesicles*, in *Cell*, vol. 67, n° 2, pp. 239-253, 18 octobre 1991.

J. OSTERMANN, L. ORCI, K. TANI, M. AMHERDT, M. RAVAZZOLA et J.E. ROTHMAN, *Stepwise Assembly of Functionally Active Transport Vesicles*, in *Cell*, vol. 75, n° 5, pp. 1015-1025, 3 décembre 1993.

J.E. ROTHMAN, *Mechanisms of Intracellular Protein Transport*, in *Nature*, vol. 372, pp. 55-63, 3 novembre 1994.



Algorithmes et Optimisation

La Société de Calcul Mathématique, S.A

Des solutions algorithmiques efficaces au service des entreprises, dans tous les domaines :

- optimisation de stocks, de transports, de livraisons,
- mathématiques économiques, bancaires, financières ; algorithmes de codage,
- Calcul scientifique, Calcul Mathématique Assisté par Ordinateur.

La S.C.M. annonce :

Le logiciel de Calcul Mathématique Assisté par Ordinateur : *Simplex-AMP*, conçu par Jean-Michel Drouffe, est maintenant disponible dans sa version de base.

Fonctionnant sur PC équipé de Windows, cet *Assistant Mathématique*

est très simple d'emploi et est doté d'une interface très conviviale. Il réalise les opérations usuelles : définition d'une fonction, dérivations, opérations sur les polynômes, les matrices, trigonométrie, etc., et est doté d'un puissant langage de programmation.

Il peut être utilisé, dans l'enseignement, par les élèves à partir de la seconde et leurs professeurs, et dans l'industrie, par les techniciens et les ingénieurs. C'est à ce jour le seul logiciel satisfaisant aux normes conçues par la S.C.M. dans le cadre des études menées pour *Digital Equipment Corp.* Le logiciel, sous sa version de base, est disponible à un prix très bas : 300 F T.T.C.

L'*Institut de Calcul Mathématique*, en charge des opérations de recherche fondamentale liées aux activités de la S.C.M., est désireux de nouer des liens

- avec des équipes (industrielles ou universitaires), dans le but d'élaborer des programmes de recherche en commun,
- avec des chercheurs et des étudiants (niveau maîtrise et au-delà), désireux de participer aux programmes en cours ou à venir.

L'I.C.M. publie tous les trois mois la "Lettre de l'I.C.M.", forum d'in-

formation et de débats sur les orientations des mathématiques et leurs débouchés, destiné aux étudiants (niveau maîtrise et au-delà) et aux chercheurs. Au sommaire du numéro 2, daté avril 96 :

- Un dossier sur l'emploi en mathématiques, par Bernard Beauzamy,
- Thésard CIFRE, par Thierry Beley,
- L'emploi des jeunes en sciences : un point de vue «exotique», par Régis Caboz,
- L'enseignement de l'informatique, par Maurice Nivat.

Abonnement 100 F pour 4 numéros.

Institut de Calcul Mathématique



I.C.M. et S.C.M. :
37, rue Tournefort, 75005 Paris

Tél : 47 07 52 92
Fax : 48 07 83 97