

En 2012, une méthode de curiethérapie à base de nanoparticules d'or a aussi été testée. Imaginée en 1901 par Pierre Curie, la curiethérapie consiste à placer directement une source radioactive à proximité de la tumeur, afin de réaliser une sorte de radiothérapie interne. L'emploi à cet effet de nanoparticules d'or radioactif a été testé par Kattesh Katti, de la Faculté de médecine de l'Université Missouri-Columbia aux États-Unis, et par Marc-André Fortin, du Centre hospitalier universitaire de Québec, pour soigner des cancers de la prostate. L'isotope radioactif de l'or utilisé, ^{198}Au , a une période de demi-vie (durée de réduction par moitié du nombre d'atomes radioactifs) de 2,7 jours, de sorte qu'au bout de quelques semaines, toute la radioactivité a disparu du corps. Déjà testée sur des souris, la méthode va bientôt l'être sur des chiens, le cancer de la prostate des canins étant similaire à celui des humains.

La vectorisation de nanoparticules fonctionnalisées est en outre envisagée dans le domaine du diagnostic médical, par exemple afin de détecter des cellules cancéreuses ou des agents infectieux. Ainsi, on pourrait faire appel à des nanoparticules d'or adéquatement fonctionnalisées pour détecter des bactéries, telles *Mycobacterium tuberculosis* responsable de la tuberculose, ou des virus, tels ceux du sida ou de l'hépatite B.

Un autre domaine d'application des nanoparticules d'or est celui des biocapteurs, pour détecter certaines molécules biologiques par exemple. Dans ce type d'applications, ce sont les propriétés plasmoniques que l'on exploite en général : l'onde plasmonique qui naît à la surface des nanoparticules d'or quand elles sont correctement éclairées dépend en effet de l'environnement. En particulier, l'adsorption de molécules organiques à leur surface modifie la fréquence de résonance plasmon. Le décalage de fréquence correspondant dépend de la nature et de la quantité des molécules adsorbées.

Cette propriété des ondes plasmoniques a été mise à profit de diverses façons. Ainsi, certains tests de grossesse actuellement en vente sont à base de nanoparticules d'or fonctionnalisées avec des anticorps de l'hormone β -hCG, caractéristique de la grossesse. Si cette hormone est présente dans l'urine testée, elle va se fixer aux anticorps greffés aux nanoparticules. Ces

dernières s'agrègent et sont retenues par un filtre qui se colore en rouge.

L'application des nanoparticules d'or en imagerie médicale est aussi à l'étude, car ces nano-objets font un bon agent de contraste en microscopie, en imagerie par rayons X ou encore en imagerie par résonance magnétique (IRM).

Signalons pour terminer que l'or n'est pas le seul élément métallique intéressant sous la forme de nanoparticules. Les particules d'argent font aussi l'objet de nombreuses recherches, notamment pour leurs propriétés antibactériennes.

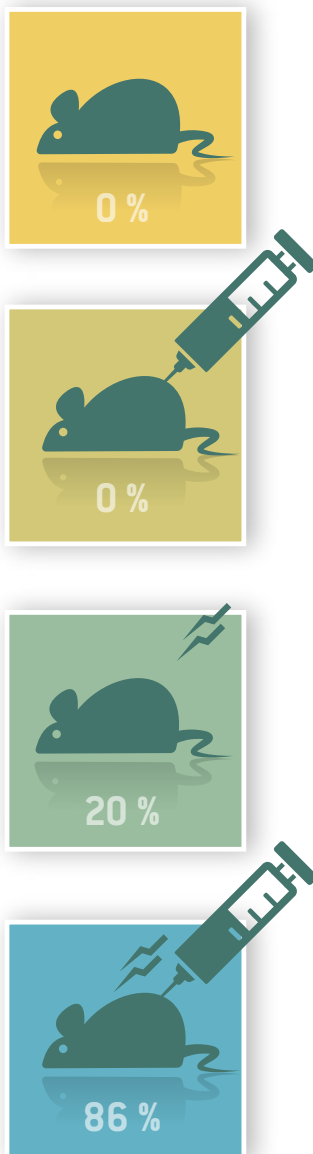
Un essor attendu

Il en est des nanoparticules d'or comme de tant de techniques prometteuses en laboratoire : une fois leur intérêt démontré, il reste à les introduire dans la pratique, qu'elle soit industrielle, médicale, légale, etc. Cela dépend de nombreux facteurs tels que les coûts, les avantages et inconvénients des techniques alternatives, les habitudes professionnelles, etc. C'est pourquoi les applications concrètes, parvenues au stade industriel, des nanoparticules d'or sont encore peu nombreuses.

S'agissant des applications biologiques, l'un des freins est que la toxicité des nanoparticules, tant pour l'environnement que pour l'homme, reste mal connue. On sait que l'or est un élément biocompatible, mais des études sont en cours pour évaluer les risques potentiels de ce métal sous forme de particules nanométriques et les moyens d'y parer.

Les résultats montrent que la toxicité dépend non seulement de la nature chimique des nanoparticules considérées, mais aussi de leur taille, de leur forme et de leur enrobage (les molécules présentes à leur surface), de sorte qu'elles varient d'une application à l'autre. De nouvelles analyses plus approfondies sont en cours, tandis que des progrès sont réalisés dans le contrôle de la forme et la taille des nanoparticules, et par conséquent de leurs propriétés.

Par ailleurs, l'or étant le troisième meilleur des conducteurs métalliques, l'utilisation de ses nanoparticules en microélectronique excite aussi les imaginations, tandis que ses propriétés optiques n'ont sûrement pas été exploitées sous toutes leurs facettes. La ruée vers le nano-or bat son plein dans les laboratoires, mais ne fait que commencer dans l'industrie. ■



3. DES SOURIS atteintes de cancer mammaire ont été traitées par radiothérapie, avec ou sans injection intraveineuse de nanoparticules d'or au préalable. Le taux de survie un an après le traitement des souris ayant bénéficié du double traitement était bien supérieur à celui des autres souris.

In the context of the celebration of Inserm 50th anniversary
Dans le cadre de la célébration des 50 ans de l'Inserm



With the support of / Avec le soutien de



Scientific organizer / Organisateur scientifique :

Thierry Galli (Inserm, ERL U950, Institut Jacques-Monod)

Organizing committee / Comité d'organisation :

Hélène Barelli (SBCF), Christine Lemaître (Aviesan, Inserm),
William Rostène (Société de biologie)

Journée Claude Bernard 2014

**Conférence Trafic vésiculaire
avec les trois Nobels 2013**

19 novembre 2014 - 10 h

**Vesicular Traffic Conference
with the three Nobel 2013**

November, 19th 2014 - 10 AM

With the support / Avec le soutien de :



Collège de France
Amphithéâtre Marguerite de Navarre
11, place Marcelin-Berthelot - Paris 5^e

**The 2013 Nobel Prize in Physiology or Medicine
Les Prix Nobel de physiologie ou de médecine 2013**

<http://vesicul-traffic.sciencesconf.org>
inscription gratuite mais obligatoire



James E. Rothman,
Yale University



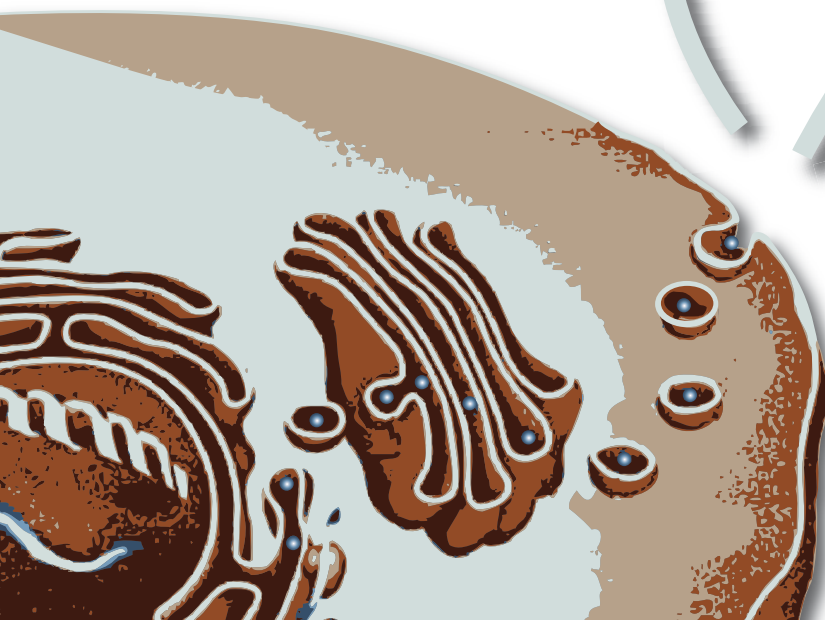
Randy W. Schekman,
University of California, Berkeley



Thomas C. Südhof,
Stanford University

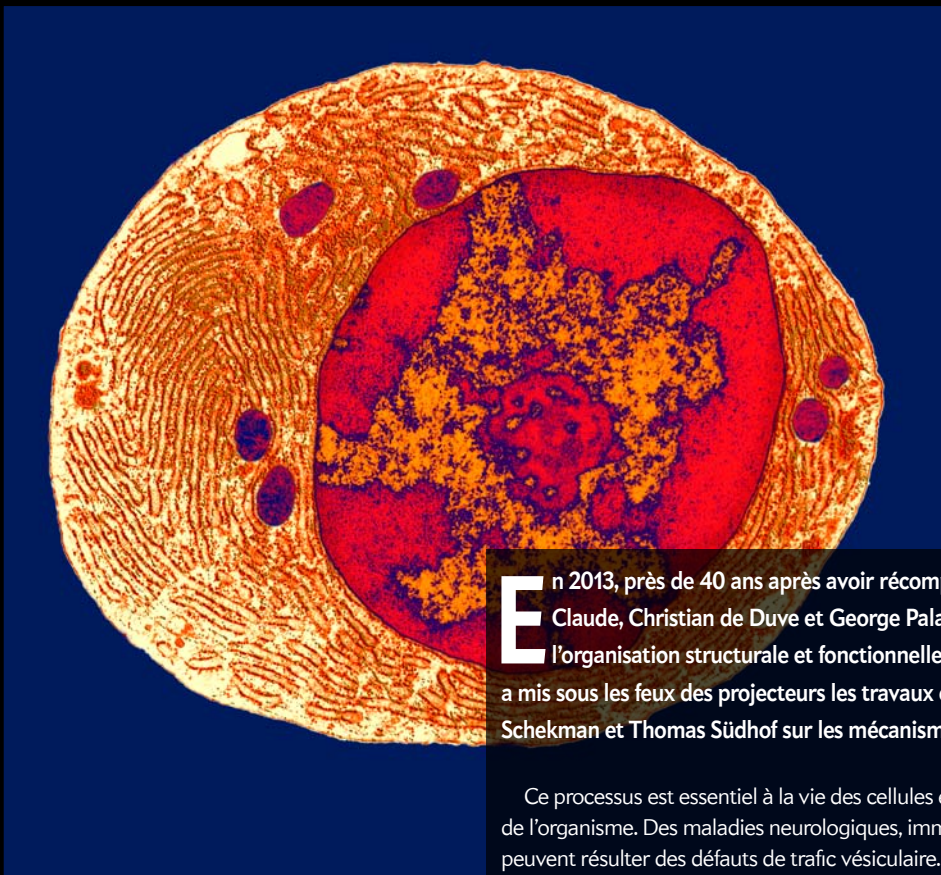
**Speakers and chairpersons /
Conférenciers et présidents de séance :**

Hélène Barelli, Nice - Alain Fischer, Paris -
Sylvie Friant, Strasbourg - Maximilian
Fürthauer, Nice - Patricia Gaspar, Paris -
Bruno Goud, Paris - Alain Marty, Paris -
Guillaume Montagnac, Paris - Christine Petit,
Paris - Alain Prochiantz, Paris - William
Rostène, Paris - Geneviève de Saint-Basile,
Paris - Simon Scheuring, Marseille - Antoine
Triller, Paris



NOBEL 2013

Du trafic dans les cellules



En 2013, près de 40 ans après avoir récompensé les biologistes Albert Claude, Christian de Duve et George Palade pour la découverte de l'organisation structurale et fonctionnelle de la cellule, le comité Nobel a mis sous les feux des projecteurs les travaux clés de James Rothman, Randy Schekman et Thomas Südhof sur les mécanismes du trafic vésiculaire.

Ce processus est essentiel à la vie des cellules et à leur communication au sein de l'organisme. Des maladies neurologiques, immunologiques et endocrines peuvent résulter des défauts de trafic vésiculaire. La récompense de 2013 clôt plusieurs séries de travaux remarquables alliant la physico-chimie des membranes, la biologie cellulaire, la génétique et les neurosciences. Une nouvelle ère s'est ouverte, où l'on s'attache désormais à comprendre et modéliser comment ce trafic est relié aux autres processus importants dans la vie d'une cellule et à décrire ses multiples rôles dans le développement, le vieillissement et les pathologies.

Les Nobels 2013 de physiologie et médecine seront réunis le 19 novembre 2014 pour une conférence exceptionnelle à Paris avec des biologistes français qui ont apporté des contributions majeures à la compréhension du trafic vésiculaire. C'est l'occasion de revenir avec eux sur l'histoire de leurs découvertes (voir l'entretien page 42) et de demander à deux des acteurs français du domaine, Geneviève de Saint-Basile et Bruno Goud, leur vision des recherches futures (voir Et maintenant ?, page 46).

L'un des enseignements des travaux présentés ici est la puissance des approches multidisciplinaires en biologie. C'est sans doute aussi la clé des découvertes à venir.

-Thierry Galli

Inserm U950, Institut Jacques Monod, Paris



Entretien avec J. ROTHMAN
R. SCHEKMAN
Th. SÜDHOF

d'une découverte

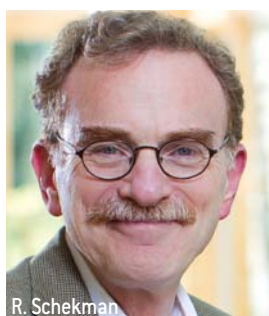
Les cellules sont le siège d'un intense trafic : sans cesse, des protéines transitent d'un endroit à un autre, transportées par des vésicules. Retour sur la découverte des mécanismes qui régulent ce trafic.

En 2013, James Rothman, de l'Université Yale, Randy Schekman, de l'Université de Californie à Berkeley, et Thomas Südhof, de l'Université Stanford, aux États-Unis, ont reçu le prix Nobel de physiologie et médecine pour « leurs découvertes de la machinerie qui régule le trafic vésiculaire, un système de transport majeur dans nos cellules ». De quoi s'agit-il ? Quel cheminement les a conduits à ces mécanismes indispensables au fonctionnement de l'organisme ? Voici leur témoignage.

POUR LA SCIENCE

Qu'est-ce que le trafic vésiculaire et qu'en savait-on lorsque vous avez commencé à vous y intéresser ?

JAMES ROTHMAN : Le trafic vésiculaire est le mode de transport des protéines dans la cellule. Dans les années 1970, lorsque j'ai commencé à m'y intéresser, il n'existait que des images statiques de l'intérieur des cellules, obtenues par microscopie électronique. Mais l'idée d'un transport intracellulaire était déjà née depuis les années 1950 dans la tête d'une personne, George Palade (1912-2008), alors à l'Université Rockefeller, à New York. À cette époque, il était bien compris que la cellule est divisée en une série de compartiments connectés, chacun ayant sa propre fonction. Palade avait étudié ces compartiments de près, notamment en les récupérant après avoir fractionné les cellules. Il avait ainsi



montré qu'un de ces compartiments, le réticulum endoplasmique, est recouvert de particules qui fabriquent les protéines – les ribosomes.

PLS

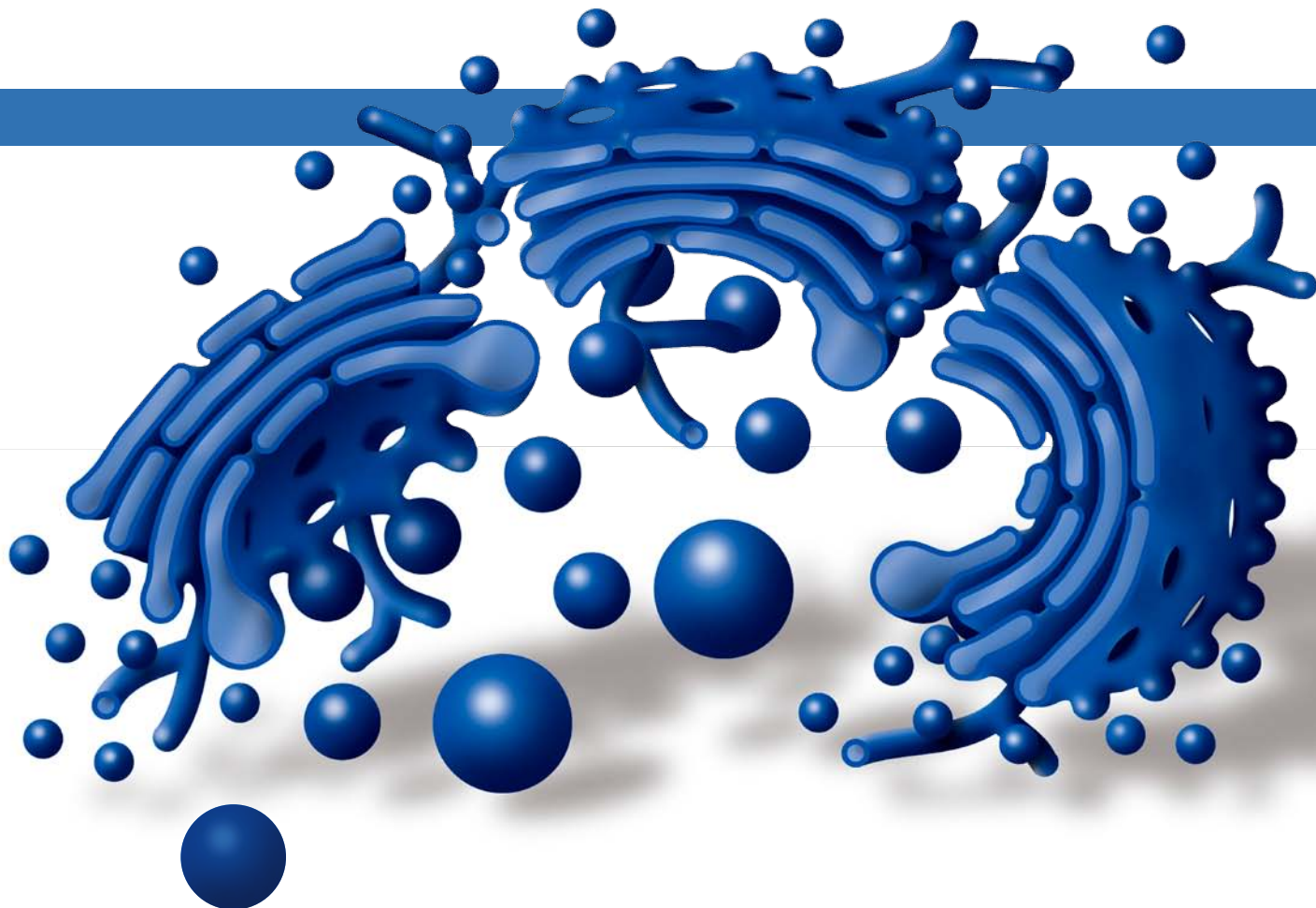
Comment l'idée d'un transport de ces protéines s'est-elle imposée ?

J. R. : Dans une cellule, les ribosomes fabriquent jusqu'à 10 000 types différents de protéines, qui vont ensuite à l'endroit de la cellule où elles jouent leur rôle. Comment sont-elles acheminées ? C'est ce que Palade et ses collègues ont découvert, d'une part en étudiant la composition chimique des compartiments extraits des cellules et, d'autre part, en montrant que de « nouveaux » compartiments sont produits à partir d'« anciens » : les protéines sont déplacées du réticulum endoplasmique jusqu'à un compartiment intermédiaire nommé l'appareil de Golgi, puis vers diverses destinations dans la cellule. Palade a reçu le prix Nobel en 1974 pour cette découverte, et beaucoup de nos travaux commencent avec lui.

PLS

Pourquoi qualifie-t-on ce trafic de vésiculaire ?

J. R. : Nous y arrivons. La question clé soulevée par Palade et ses collègues était : comment les bonnes protéines sont-elles libérées au bon



endroit et au bon moment ? Ils ont alors eu une idée, qui s'est révélée correcte : ils avaient remarqué, entre les compartiments, plein de petits objets sphériques, de 50 nanomètres de diamètre environ, qu'ils avaient nommés vésicules. Ils ont émis l'hypothèse que ces vésicules véhiculent les protéines. Palade a imaginé que ces vésicules se formaient en bourgeonnant à la membrane d'un compartiment, puis voyageaient jusqu'à une autre membrane à laquelle elles se joignaient alors, combinant leur membrane à celle-ci – un processus qu'il a nommé fusion membranaire.

PLS

C'est alors que vous, Randy Schekman et James Rothman, êtes entrés en scène, par deux approches distinctes.

RANDY SCHEKMAN : En effet, Palade avait dessiné la carte de la voie de sécrétion des protéines, mais il fallait encore comprendre ce qui, mécaniquement, permettait ce processus. J'ai donc décidé d'utiliser la génétique pour disséquer cette voie et aller à la pêche aux gènes impliqués. J'avais travaillé dans le laboratoire d'Arthur Kornberg (prix Nobel en 1959), qui avait mis en évidence le mécanisme de réplication de l'ADN, et j'y avais acquis la conviction qu'une approche génétique pouvait aider à comprendre les processus complexes. En 1976, à Berkeley,

j'ai commencé à travailler sur la voie de sécrétion des protéines de la levure du boulanger. Au microscope, on distinguait des vésicules dans le bourgeon de la levure – l'excroissance qui devient une cellule fille après la division cellulaire. Ces vésicules sécrétaient peut-être des protéines ? Nous avons montré que non seulement c'était bien le cas, mais qu'elles fournissaient de la membrane au bourgeon cellulaire. Le système paraissait donc propice à l'étude du trafic vésiculaire.

PLS

Comment va-t-on « à la pêche » aux gènes impliqués dans le transport vésiculaire ?

R.S. : En recherchant des mutations qui perturbent la croissance de la surface cellulaire. Nous nous sommes dit que toute mutation qui interromprait cette croissance tuerait la cellule. Alors, avec Peter Novick, un de mes premiers étudiants, nous avons décidé de rechercher des mutations létales pour la cellule et sensibles à la température. Après quelques essais, Peter a compris qu'il serait possible d'obtenir des mutations qui bloqueraient la sécrétion simplement en analysant un ensemble de clones présentant des mutations aléatoires : il suffisait d'exposer des cultures de levures à un agent chimique favorisant les mutations génétiques, de cultiver chaque cellule et d'analyser les clones obtenus.

Un jour, Peter m'appelle au microscope électronique. Nous n'avions jamais vu une telle cellule : à une température restrictive où elle aurait dû mourir, elle était comme constipée de vésicules ! Remis à une température permissive, ce mutant a libéré le contenu des vésicules à la surface cellulaire. Nous avons trouvé une mutation qui perturbait la sécrétion en fonction de la température. Nous avons nommé *sec1* le gène muté.

PLS

Il « suffisait » donc de rechercher les mutations qui « constipaient » les cellules ?

R.S. : C'est ce que nous pensions, mais nous n'avons trouvé que peu de mutants impliqués, jusqu'à ce que Peter remarque qu'à la température restrictive, ces cellules ne grossissaient plus, mais produisaient toujours des vésicules. Nous avons supposé que la densité des cellules augmentait à cette température et qu'il serait donc possible de les récupérer en les centrifugeant dans un gradient de densité. C'est ce que nous avons fait. En n'analysant plus que ces cellules denses, Peter a identifié, dans l'année qui a suivi, une centaine de mutations qui perturbaient la sécrétion en fonction de la température. Ces mutations touchaient 23 gènes, que nous avons nommés *sec1* à *sec23*. Aujourd'hui, on sait que la voie de sécrétion fait très probablement intervenir une centaine de gènes, impliqués à toutes les étapes.

PLS

James Rothman, en quoi consistait votre approche et comment l'avez-vous choisie ?

J. R. : Le transport de protéines intervient dans nombre de processus cellulaires : croissance, division cellulaire, régulation de l'insuline, métabolisme, immunité, communication entre neurones... Face à cette complexité, il est naturel d'imaginer qu'il y a autant de mécanismes que de fonctions. Mais l'idée la plus simple est de dire qu'il n'y a qu'un seul mécanisme pour tous ces processus. Cela peut paraître simpliste, surtout pour un biologiste, mais je venais de la physique ! J'ai grandi à une époque où l'on entendait beaucoup parler de physique avec la compétition des États-Unis et de l'Union soviétique engendrée par la guerre froide. Je me suis mis à penser le monde en physicien et à étudier la physique. Et lorsque je me suis intéressé à la biologie, je l'ai regardée à la façon d'un physicien.

La physique de la fusion membranaire n'est pas un problème. Une membrane biologique est constituée de deux couches de lipides, et fusionner deux membranes n'est pas plus compliqué que réunir deux bulles de savon. La question était : comment la biologie exploite-t-elle la physique pour libérer le bon chargement à la bonne place au bon moment ? S'il existait un mécanisme commun à tous les transports vésiculaires, il serait peut-être plus facile de le mettre en évidence dans un système biologique simplifié. Avec Erik Fries, un postdoctorant suédois, nous avons donc décidé de travailler hors cellule, avec des extraits de cellules de mammifères.

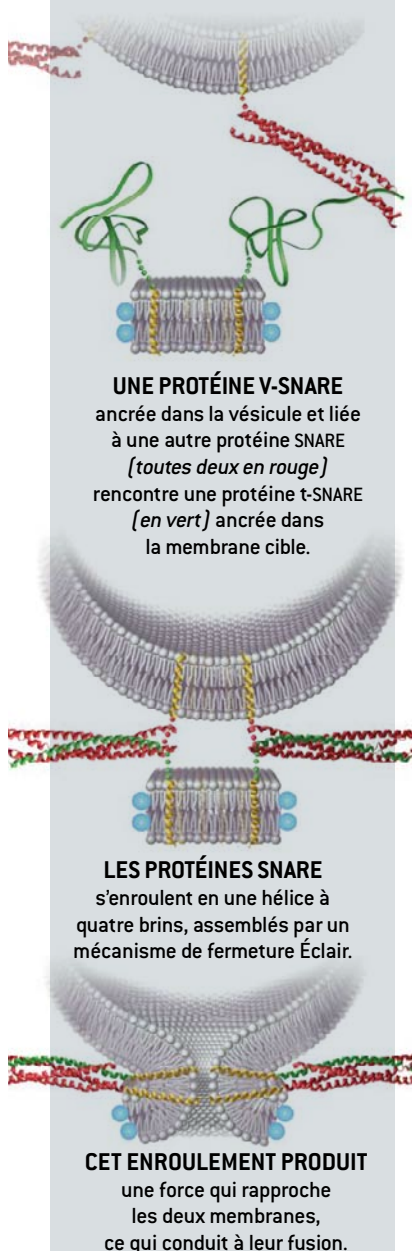
PLS

Comment s'y retrouver dans un tel mélange ?

J. R. : L'idée clé a été de suivre une protéine que sécrètent les cellules infectées par le virus de la stomatite vésiculaire : la glycoprotéine VSV-G. Sur son chemin vers la surface cellulaire, cette protéine est glycosylée : des molécules de sucre se forment sur elle par l'ajout progressif de résidus de sucre le long de la voie de sécrétion. Nous avons donc mesuré l'élaboration de ces sucres dans notre système en examinant si de nouveaux résidus se liaient à la protéine. L'ajout de chaque résidu étant spécifique d'un compartiment de la voie de sécrétion, en trouver de nouveaux sur la protéine signifiait que la protéine s'était déplacée d'un compartiment à un autre. Après quelque temps,

La fusion membranaire

Aujourd'hui, on connaît la structure tridimensionnelle des protéines qui régissent la fusion d'une vésicule avec une membrane cible, et le mécanisme qui déclenche cette fusion.



enfin, en mai 1979, nous avons observé que la glycoprotéine était bien modifiée.

PLS

Comment avez-vous exploité ce système ?

J. R. : Nous l'avons d'abord perfectionné, ce qui nous a permis de montrer que certains éléments de la cellule étaient indispensables au transport vésiculaire, notamment le liquide intracellulaire ou cytosol. Nous avons alors testé l'effet d'inhibiteurs d'enzymes du cytosol. L'un d'eux, le NEM, a entraîné une accumulation de vésicules. Il existait donc un facteur sensible au NEM qui permettait la fusion en l'absence de NEM. Nous avons réussi à purifier ce facteur et l'avons nommé NSF (*NEM Sensitive Factor*). Lorsqu'on l'ajoutait à notre système *in vitro*, NSF reconstituait le transport et la fusion membranaire. La protéine jouait donc un rôle dans la fusion membranaire, et nous pourrions l'utiliser comme appât pour, nous aussi, aller à la pêche – à ses partenaires. Nous avons ainsi isolé une protéine du cytosol qui joue le rôle d'intermédiaire entre NSF et la membrane, que nous avons nommée SNAP (*Soluble NSF Attachment Protein*).

PLS

D'un côté, les 23 gènes *sec* identifiés chez la levure, de l'autre, les protéines NSF et SNAP isolées dans des cellules de mammifères. Comment avez-vous réuni les deux histoires ?

R. S. : Au début des années 1990, les gènes de la levure impliqués dans la voie de sécrétion étaient connus. De leur côté, J. Rothman et ses collègues avaient séquencé les gènes codant les protéines NSF et SNAP chez les mammifères. En comparant les séquences, ils ont découvert que le gène codant NSF était très semblable à *sec18*, et celui codant SNAP, très similaire à *sec17*. À ce point, nos deux chemins ont convergé. Cette convergence était fondamentale, car elle signifiait que les acteurs du trafic intracellulaire sont conservés de la levure aux mammifères.

PLS

Les acteurs identifiés expliquaient-ils la spécificité des voies de sécrétion ?

J. R. : Ils ont permis de préciser les choses. Il est apparu que NSF et SNAP intervenaient dans tous

les processus de fusion membranaire connus à cette époque. Les deux protéines ne portaient donc pas la spécificité, et des récepteurs de SNAP sur la membrane des vésicules devaient remplir ce rôle. Nous sommes à nouveau partis à la pêche pour isoler ces protéines, que nous avons nommées SNARE, à partir d'un extrait de cerveau bovin.

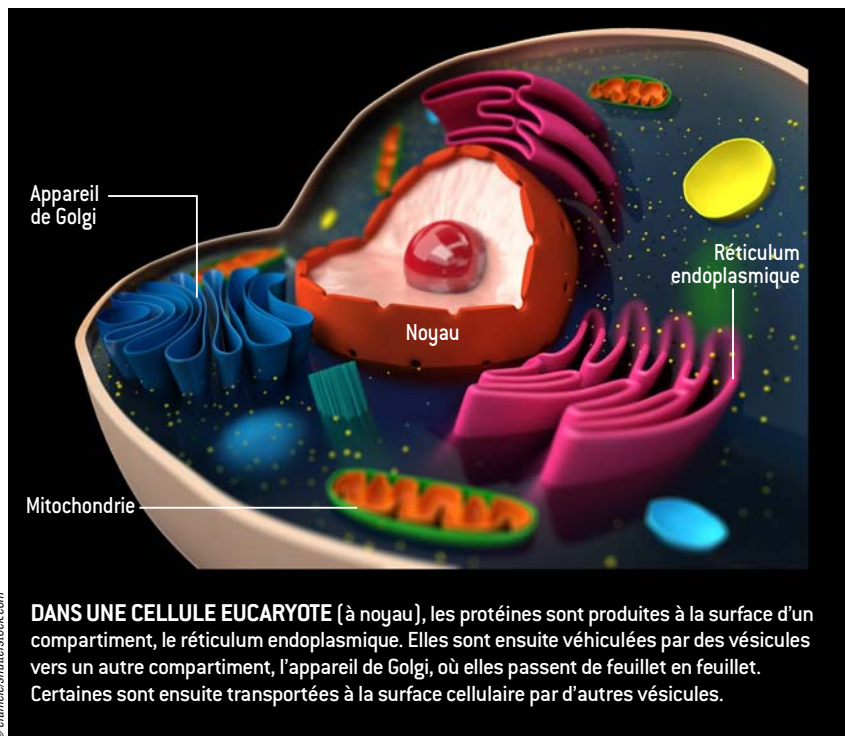
Nous avons utilisé des extraits de cerveau car la concentration de SNARE y était dix fois plus importante que dans tout autre tissu de l'organisme. Nous avons ainsi récolté trois protéines... déjà bien connues des neuroscientifiques : la syntaxine, SNAP-25 et VAMP faisaient partie des acteurs de la transmission synaptique – la communication entre les neurones. Nous avons montré que ces trois protéines forment un complexe où l'une est localisée dans les vésicules synaptiques, tandis qu'une autre réside dans la membrane du neurone.

Nous avons alors imaginé le scénario suivant : une vésicule s'accroche et fusionne avec une membrane cible lorsqu'une protéine v-SNARE de la vésicule interagit avec une protéine t-SNARE de la membrane cible. Chaque vésicule et chaque membrane partenaire auraient leurs propres et uniques protéines v-SNARE et t-SNARE, qui constitueraient des partenaires spécifiques et démarreraient la fusion membranaire. Ce mécanisme serait une source majeure de spécificité de la fusion membranaire. Cette hypothèse a été validée quelques années plus tard, quand nous avons montré *in vitro*, avec des membranes artificielles, que ces trois protéines sont nécessaires et suffisantes pour la fusion membranaire.

PLS

Thomas Südhof, vos travaux sur le transport vésiculaire dans les neurones débutent à ce moment. Pourquoi ce sujet ?

THOMAS SÜDHOF : Le cerveau ressemble à un puissant ordinateur, constitué de circuits neuronaux dont les unités de base sont les synapses, les jonctions permettant la transmission de l'information d'un neurone à un autre. Les synapses fonctionnent toutes sur le même principe : un potentiel électrique déclenche l'ouverture de canaux de calcium dans la zone synaptique du premier neurone ; du calcium pénètre dans la cellule et déclenche à son tour la libération, dans la synapse, de neurotransmetteurs, des molécules qui se lient à des récepteurs à la surface du second neurone, y déclenchant ainsi un



DANS UNE CELLULE EUCARYOTE (à noyau), les protéines sont produites à la surface d'un compartiment, le réticulum endoplasmique. Elles sont ensuite véhiculées par des vésicules vers un autre compartiment, l'appareil de Golgi, où elles passent de feuillet en feuillet. Certaines sont ensuite transportées à la surface cellulaire par d'autres vésicules.

potentiel d'action. Ce qui est remarquable dans la transmission synaptique, c'est sa rapidité : il suffit de quelques millisecondes. La clé de cette rapidité devait se trouver dans l'étape la plus complexe du processus : la transformation du signal calcique en une fusion des vésicules synaptiques, contenant les neurotransmetteurs, avec la surface cellulaire. D'où mon intérêt pour cette étape. J'ai recherché les mécanismes qui assuraient cette fusion rapide.

PLS

Quelle approche avez-vous choisie ?

T. S. : D'une part, nous avons étudié la fusion des vésicules synaptiques elles-mêmes, ce qui nous a permis d'isoler un régulateur essentiel de l'activité de la syntaxine, une des protéines du complexe SNARE de ces vésicules. D'autre part, nous avons caractérisé de façon systématique les protéines des vésicules synaptiques et étudié leur fonction chez la souris, dans des neurones mutants où les gènes associés ne sont plus fonctionnels. Cette approche a conduit notamment à la découverte de deux protéines impliquées dans la régulation temporelle de la fusion membranaire, la synaptotagmine et la complexine, qui sont en quelque

sorte l'accélérateur et le frein de la fusion. La synaptotagmine, située sur les vésicules, capte le calcium, ce qui déclenche la libération des neurotransmetteurs. Liée au complexe SNARE, la complexine est une sorte de pince qui empêche la vésicule de fusionner tant que du calcium ne s'est pas lié à la synaptotagmine.

PLS

Aujourd'hui, comment décririez-vous la fusion des vésicules synaptiques et que reste-t-il à comprendre ?

T. S. : Ces dernières années, nous avons complété le schéma en élucidant le mécanisme qui permet au neurone présynaptique de ne faire entrer du calcium que là où des vésicules synaptiques sont amarrées : un complexe de protéines orchestre l'amarrage des vésicules près de canaux calciques. L'ensemble des protéines intervenant dans la fusion membranaire ressemble ainsi de plus en plus à une nanomachine dont le rôle serait de déclencher une libération rapide des neurotransmetteurs. Il s'agit maintenant de comprendre comment cette nanomachine fonctionne durant la « vie » d'une synapse...

Et maintenant ?

En mettant au jour la machinerie moléculaire orchestrant la fusion membranaire dans les cellules, James Rothman, Randy Schekman et Thomas Südhof ont découvert des acteurs et des mécanismes à l'œuvre dans des organismes aussi distants que l'homme et la levure, et dans des fonctions aussi variées que le transport des molécules dans la cellule, la communication neuronale, la sécrétion hormonale ou la réponse immunitaire.

Aujourd'hui, des centaines de biologistes explorent les voies de recherche ainsi tracées, qu'il s'agisse

d'expliciter les spécificités de chaque type de transport vésiculaire, d'étudier la contribution des phénomènes sécrétoires au développement du cerveau, de comprendre comment le trafic intracellulaire s'insère dans la vie de la cellule ou de préciser comment son dysfonctionnement intervient dans des pathologies telles que la maladie de Parkinson, l'épilepsie et certaines déficiences immunitaires. Deux volets de cette recherche multiforme sont ici mis en avant : le rôle du trafic vésiculaire dans la réponse immunitaire, et sa place dans le fonctionnement de la cellule.

Les défis de la recherche sur

Poursuivant les travaux pionniers de George Palade (prix Nobel de médecine en 1974), James Rothman, Randy Schekman, Thomas Südhof et leurs collègues ont élucidé certains des mécanismes moléculaires fondamentaux qui gouvernent le transport des protéines et des lipides à l'intérieur des cellules eucaryotes.

Beaucoup reste cependant à découvrir et ce champ de la biologie cellulaire mobilise un nombre croissant d'équipes de recherche à travers le monde, car le trafic vésiculaire est un processus essentiel de la cellule. Les recherches actuelles s'orientent dans de nombreuses directions, faisant appel à d'autres champs disciplinaires et à de nouvelles approches méthodologiques. Voici quelques-uns des principaux défis que les chercheurs auront à relever dans les prochaines années.

– Bruno Goud

CNRS UMR 144, Institut Curie, Paris

■ Comprendre dans l'espace et le temps la dynamique complexe des événements de transport. La révolution introduite au début des années 1990 par l'utilisation de protéines fluorescentes, qui permettent de visualiser le transport des protéines et des lipides en temps réel dans des cellules vivantes, a révélé la dynamique et la plasticité des compartiments de la cellule. Grâce au développement des techniques d'imagerie, les chercheurs arriveront bientôt à suivre le trajet d'une seule vésicule et de son contenu et à comprendre la dynamique de sa formation, de son déplacement le long du squelette cellulaire et de sa fusion avec les membranes cibles. Un défi que J. Rothman a relevé lors de sa conférence Nobel...

■ Expliquer aux niveaux moléculaires et structuraux l'ordre des événements présidant à la vie d'une vésicule. Les grandes familles de protéines impliquées sont identifiées, telles que les protéines formant un manteau autour des vésicules, les protéines de fusion SNARE, les moteurs moléculaires de type myosine ou kinésine qui se déplacent sur le squelette de la cellule, et les enzymes de la famille Rab. La façon dont leur fonction est coordonnée pour assurer la spécificité des processus de transport et le bon acheminement des cargaisons demeure encore mal comprise. De nombreuses études mettent actuellement en évidence des liens physiques entre ces protéines au sein d'édifices supramoléculaires.

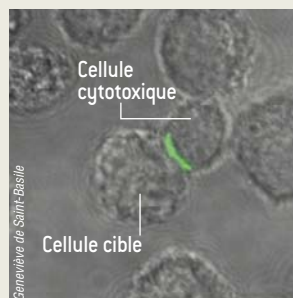
Du trafic à la réponse immunitaire

Pour exercer leur fonction, certaines cellules de l'organisme doivent sécréter à un moment et un endroit précis des constituants contenus dans des vésicules. C'est le cas des neurones du cerveau qui, en réponse à un stimulus, communiquent en sécrétant des neurotransmetteurs dans leur zone de contact – la synapse neurologique.

C'est aussi le cas des cellules tueuses de notre système immunitaire, les lymphocytes cytotoxiques, dont le rôle est d'éliminer les cellules infectées par un virus ou tumorales. Le lymphocyte tueur détecte la cellule indésirable et organise, dans leur zone de contact, une synapse immunologique. Des granules contenant des protéines cytotoxiques (en vert) sont transportés vers cette zone et déversent leur chargement dans la synapse, ce qui concentre l'attaque sur la cellule à éliminer.

L'utilisation de cette arme nécessite une cascade d'événements dont chaque étape est régulée par un effecteur (une protéine) précis. L'absence de l'un ou l'autre des effecteurs bloque la machinerie de sécrétion et conduit à une dérégulation du système immunitaire nommée syndrome hémophagocytaire. Au cours de ce syndrome, la réponse immunitaire, incapable d'éliminer le danger, s'emballe et finit par envahir et détruire les organes, ce qui peut conduire au décès en l'absence de traitement.

C'est l'étude des formes héréditaires de ce syndrome qui a permis, ces dernières années, d'identifier les effecteurs indis-



pensables à la sécrétion des granules. Par une approche génétique des patients, quatre acteurs critiques ont été identifiés, intervenant dans le transport et l'amarrage des granules à la synapse, leur préparation à la fusion et la fusion elle-même. Chacun avait son pendant dans

la machinerie qui régule la sécrétion des neurotransmetteurs à la synapse neurologique, ce qui a facilité la compréhension des mécanismes en jeu dans la synapse immunologique.

Certaines différences existent cependant, tel le fait que la synapse immunologique soit transitoire et puisse se former à un endroit quelconque de la membrane du lymphocyte, alors que la synapse neurologique est fixe. Il en résulte que la sécrétion y est plus lente. Il reste à déterminer si d'autres processus liés à la synapse neurologique existent pour la synapse immunologique, tel le recyclage des vésicules ou l'adaptation de la sécrétion à l'importance de la stimulation.

– **Geneviève de Saint-Basile**
Inserm 1163/Institut Imagine, Paris V,
Hôpital Necker-Enfants malades

le trafic vésiculaire

■ Identifier les paramètres physico-chimiques sous-tendant les processus de transport. Tous les organismes vivants dépendent de lois physico-chimiques qui gouvernent les échanges moléculaires et les mécanismes de base des cellules et tissus. Des études récentes ont par exemple mis en évidence le rôle essentiel (et inattendu il y a encore dix ans) de la composition lipidique, de la courbure et de la tension des membranes dans la formation des vésicules de transport. Le rôle de ces paramètres au cours d'autres étapes du transport, telles la fission ou la fusion des vésicules, reste très mal connu. Ces études seront indispensables pour parvenir à une description quantitative et intégrée du transport.

■ Comprendre les liens entre le transport et d'autres processus cellulaires essentiels tels que l'activation des voies de signalisation, la migration ou la division. Le transport intracellulaire et la dynamique membranaire sont couplés à toutes ces grandes fonctions de la cellule. En témoignent les études montrant l'importance de la dynamique des endomembranes (telles que l'appareil de Golgi ou les endosomes, les vésicules transportant dans la cellule les composants externes qu'elle a « avalés ») et de leur topologie dans la signalisation, ou celle de la sécrétion et du recyclage des composants de la surface pendant la migration. Beaucoup reste à faire pour intégrer tous ces processus.

■ Comprendre le rôle de la dérégulation du transport intracellulaire dans de nombreuses pathologies. Un nombre croissant d'études montre un rôle direct de la dérégulation du transport intracellulaire dans des pathologies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer ou encore le diabète. Un défi majeur pour le futur sera d'identifier, parmi les centaines de protéines régulant le transport intracellulaire, celles qui constituent des cibles thérapeutiques potentielles.

■ EN VIDÉO



Les conférences et interviews des trois prix Nobel 2013 de physiologie et médecine :

James Rothman
<http://www.nobelprize.org/mediaplayer/index.php?id=1975>

Randy Schekman
<http://www.nobelprize.org/mediaplayer/index.php?id=1977>

Thomas Südhof
<http://www.nobelprize.org/mediaplayer/index.php?id=1986>

Du gaz galactique aux étoiles

Comment naissent les étoiles dans les nuages de gaz d'une galaxie spirale ? Des simulations numériques élucident le lien entre la dynamique de ces nuages et la formation des étoiles.

Clare Dobbs

L'ESSENTIEL

- Les étoiles se forment dans les nuages de gaz galactique denses.
- Les astrophysiciens utilisent des simulations numériques pour étudier le lien entre ces nuages et les étoiles.
- Les importantes différences d'échelles nécessitent d'étudier d'abord la formation des nuages avant de zoomer sur les étoiles.
- La dynamique des nuages est soumise à des forces antagonistes : la gravité condense le gaz et la rétroaction des étoiles, tel le vent stellaire, le disperse.