

# 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.*

**T**outes 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 ?

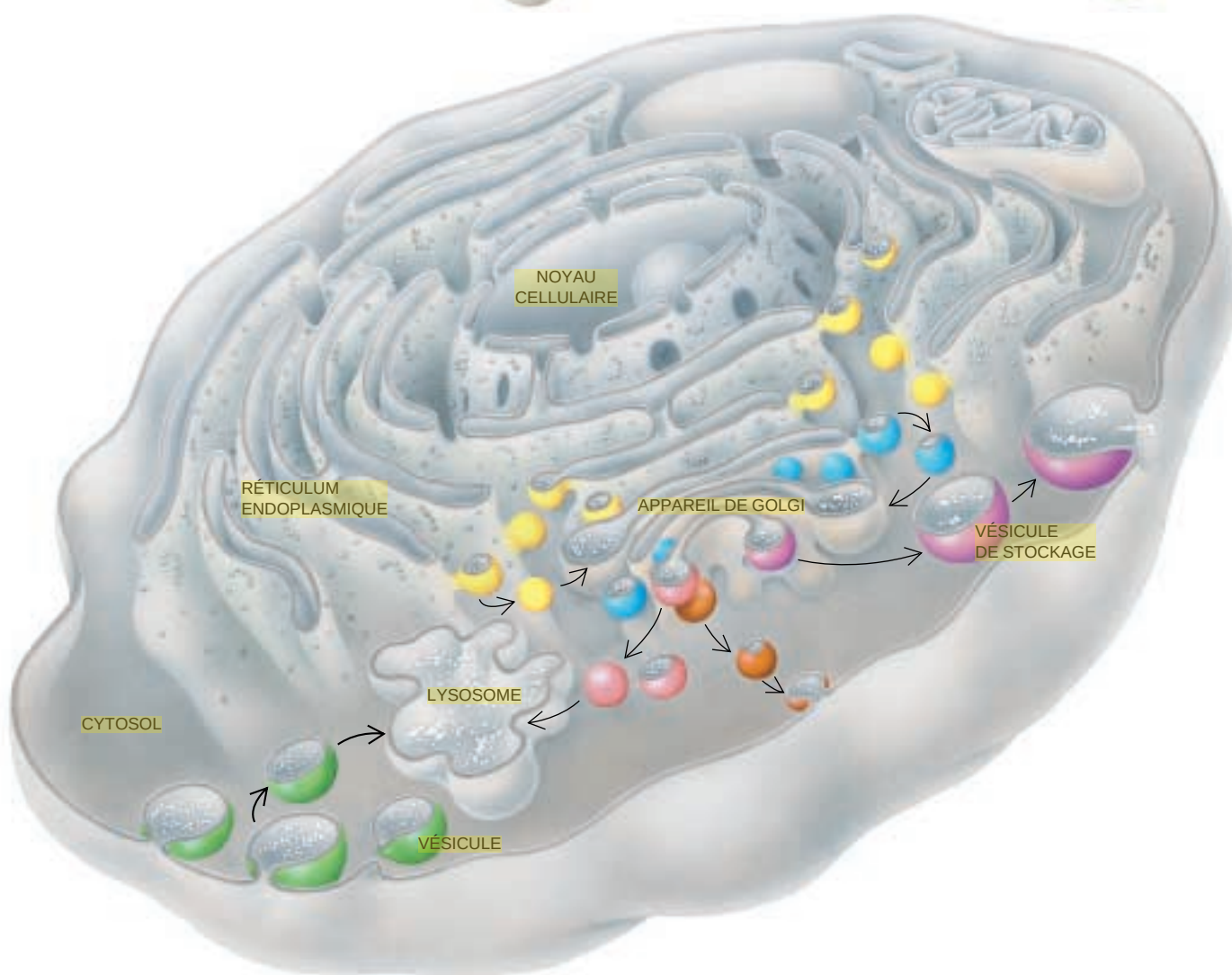
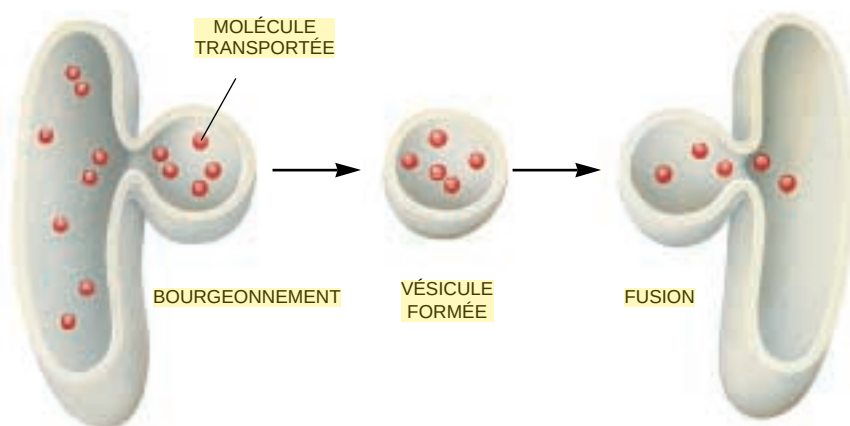
Avant le début de notre collaboration, vers le milieu des années 1980, l'examen au microscope de coupes de cellules entières avait déjà identifié quelques étapes de base du transport des protéines par des vésicules. Grâce aux travaux effectués dans les années 1960 par George Palade (prix Nobel de physiologie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

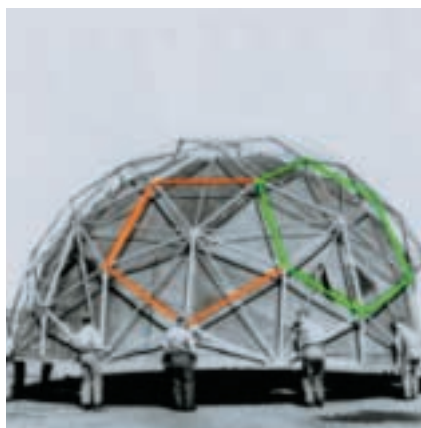
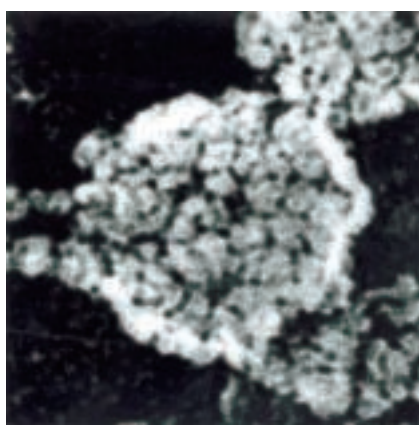
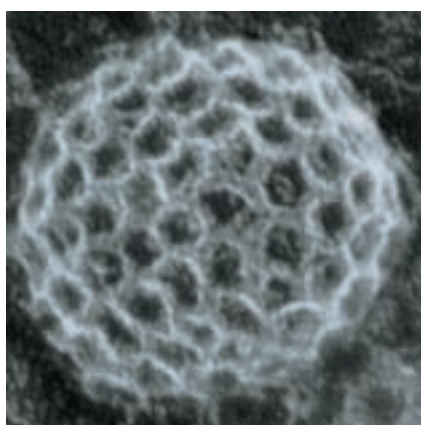
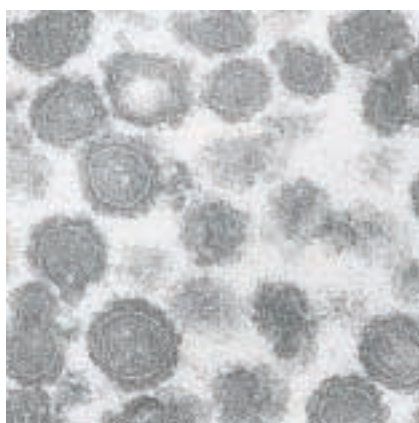
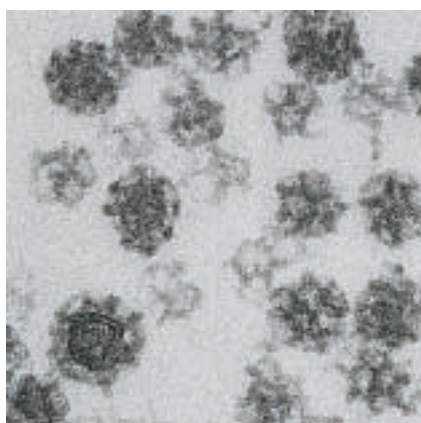
La voix marqua une pause, puis annonça très calmement et très distinctement : «Je suis Lelio Orci et j'enseigne à l'Université de Genève.»

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.