

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?»

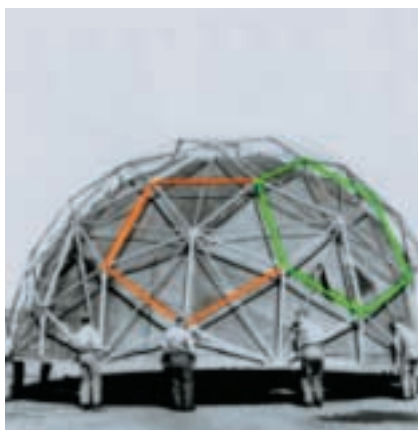
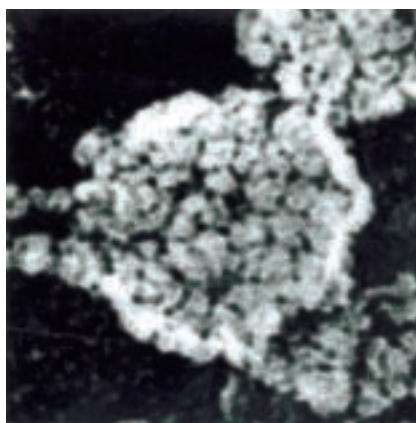
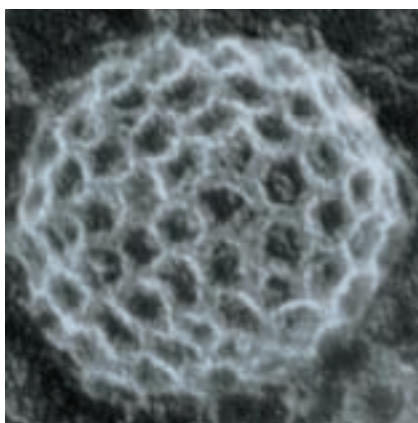
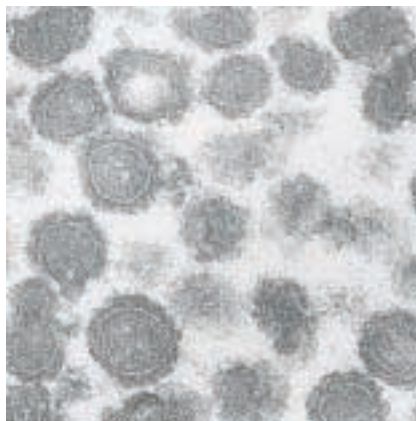
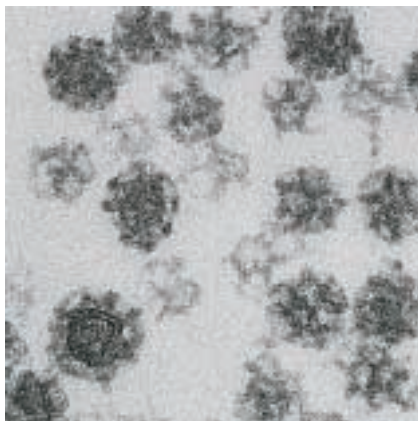
La voix marqua une pause, puis annonça très calmement et très distinctement : «Je suis Lelio Orci et j'enseigne à l'Université de Genève.»

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.

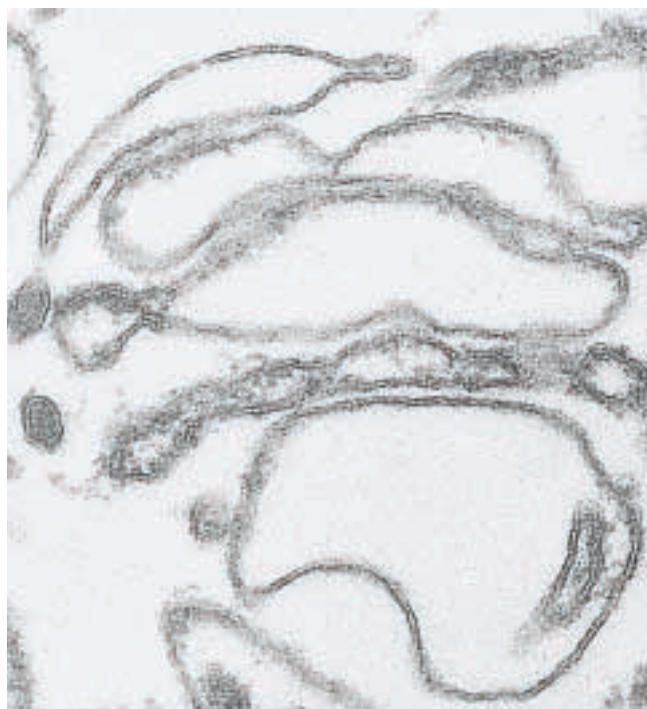
Peu après le retour de J. Rothman à Stanford, l'un de ses étudiants commença à donner suite au projet : Benjamin Glick forma, *in vitro*, des vésicules de transport en incubant l'appareil de Golgi en présence de cytosol et d'une source d'énergie. Il envoya alors à Genève les échantillons qu'il avait 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.

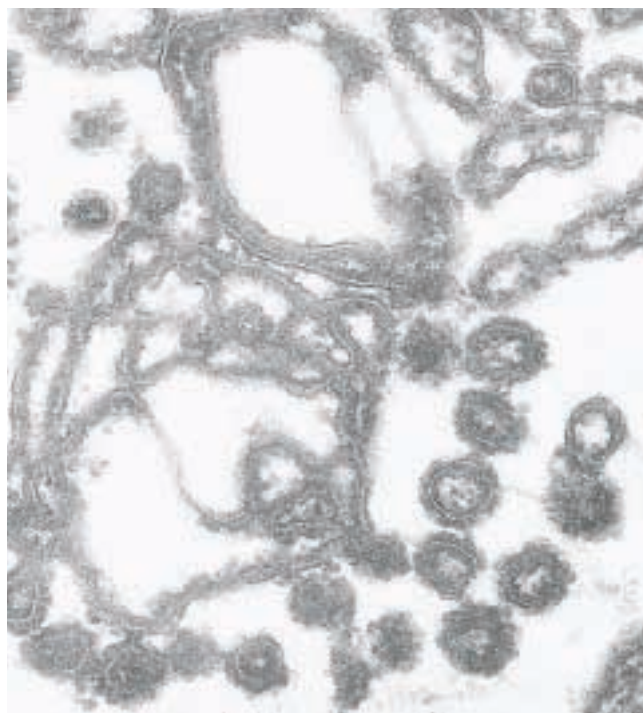
Cette première observation montre l'intérêt des erreurs : notre hypothèse erronée – la présence d'enveloppe de clathrine autour des vésicules de l'appareil de Golgi – nous a amenés à faire une expérience qui nous a détournés des vésicules recouvertes de clathrine et nous a conduits vers une nouvelle 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).