

L'observation au microscope d'une synapse révèle l'existence de trois compartiments : le bouton présynaptique (terminaison du neurone A), la fente synaptique et l'appareil de réception postsynaptique (dendrite du neurone B). Les boutons présynaptiques sont caractérisés par de petits renflements, ou varicosités, présents le long de l'axone ou à leur extrémité. Ces varicosités sont remplies de vésicules synaptiques contenant les messagers chimiques, lesquels sont libérés par les vésicules de la terminaison présynaptique et captés par les récepteurs présents sur la membrane postsynaptique. Ainsi, pour que l'information soit transmise efficacement, ces vésicules doivent être en nombre suffisant et recyclées localement dans chaque terminaison.

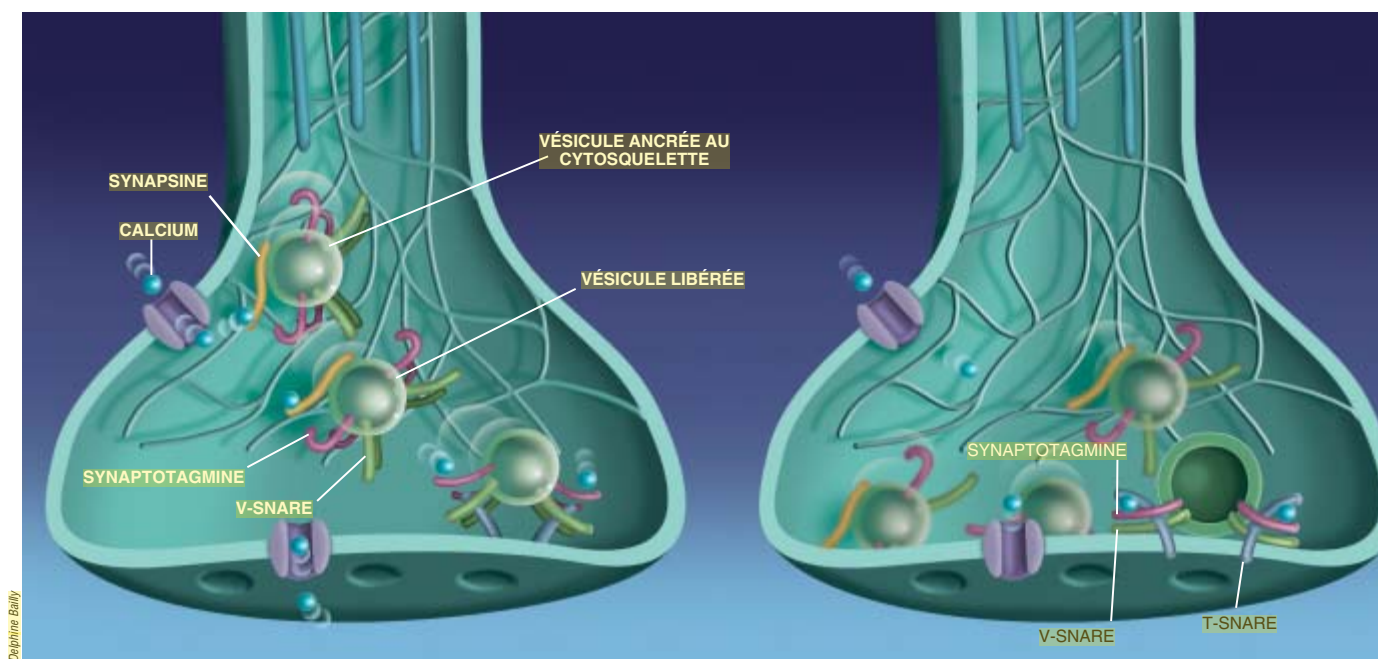
En moyenne, chacun des quelque 100 milliards de neurones du cerveau humain établit environ 10 000 connexions synaptiques avec ses voisins, chacune de ces connexions utilisant un ou plusieurs messagers chimiques. De tels messagers peuvent avoir une action excitatrice, inhibitrice ou simplement modulatrice. La vaste majorité des connexions sont excitatrices et utilisent le glutamate comme neuromédiateur. La neurotransmission inhibitrice, quant à elle, est assurée par la glycine ou par le GABA (acide gamma-aminobutyrique), tandis que la neurotransmission modulatrice est effectuée, notamment, par la noradrénaline, la sérotonine, la dopamine, l'acétylcholine et les neuropeptides. Ces neuromédiateurs sont stockés dans deux classes de vésicules, des petites vésicules de 40 nanomètres de diamètre environ, nommées vésicules synaptiques, et des vésicules plus grosses, de 80 à 200 nanomètres de diamètre, nommées vésicules à cœur dense ou grains de sécrétion. Les petites vésicules contiennent des neuromédiateurs de faible poids moléculaire, tels le glutamate, l'acétylcholine ou encore le GABA, tandis que les grosses vésicules transportent des messagers

peptidiques (la substance P ou les endorphines, par exemple). Ces deux types de vésicules ne sont pas sécrétées à la même vitesse : bien que les deux catégories de vésicules utilisent la même machinerie de fusion, les petites subissent une exocytose (la libération vers l'extérieur) rapide, les grains de sécrétion une exocytose plus lente.

La fusion des membranes

La rapidité de la transmission des messagers entre neurones résulte de la présence de vésicules synaptiques concentrées dans la zone dite active de la terminaison nerveuse. Ces zones sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules synaptiques, ainsi que d'une matrice protéique dense, riche en actine. Elle revêt la forme d'une grille où les vésicules restent accrochées en attendant de libérer le messager chimique. Cette matrice maintient les vésicules synaptiques de stockage à proximité de la membrane synaptique et les guide vers leur site d'amarrage. Ainsi, chaque neurone dispose d'un stock important de vésicules amarrées, en contact avec la membrane présynaptique, et prêtes à fusionner. Cette concentration des vésicules tout près de la membrane plasmique est l'assurance d'une réaction rapide et modulable à toute stimulation.

Par ailleurs, un deuxième groupe de vésicules est stocké dans le réseau du cytosquelette, plus loin de la zone active. Elles servent de réserve dans le cas où l'activation durerait longtemps. En effet, tant que les neurones sont au repos, l'exocytose des vésicules est modérée, mais dès que les neurones sont activés, les premières vagues de vésicules sont rapidement libérées. Si elles sont épuisées, le deuxième groupe vient en renfort ; il est libéré et prolonge l'activité (voir la figure 3). On pense que les synapsines,



3. FUSION d'une vésicule et d'une membrane synaptique. Un potentiel d'action arrive à l'extrémité d'un axone, ce qui déclenche un afflux de calcium dans le bouton synaptique. La synapsine relâche des vésicules ancrées au cytosquelette qui s'approchent de la membrane : c'est l'étape d'amarrage. Ensuite, les protéines de la membrane de

la vésicule (v-SNARE) se placent face à leurs partenaires t-SNARE de la membrane plasmique. Les molécules v-SNARE et t-SNARE forment un complexe. La synaptotagmine, excitée par le calcium, accélère le rapprochement de la vésicule et de la membrane plasmique. Les couches lipidiques fusionnent.

protéines qui retiennent les vésicules ancrées sur le cytosquelette d'actine sont modifiées chimiquement (phosphorylées) par une protéine elle-même rendue active par l'entrée de calcium dans le bouton présynaptique. Ces molécules de synapsine relâchent alors les vésicules qui se dirigent vers la membrane. Pendant ce temps, les vésicules qui ont libéré leur contenu de neuromédiateurs se rechargent et le cycle de fusion-libération peut se poursuivre.

Pour sécréter leur contenu dans l'espace intersynaptique, les vésicules s'associent à la membrane plasmique, de façon suffisamment étroite et stable pour que les deux membranes fusionnent. Trois étapes préparent la fusion. Lors de la première étape – l'étape d'amarrage –, les vésicules se fixent à la membrane du neurone. Cette fixation est réalisée par des protéines de la membrane des vésicules, qui «attirent» d'autres protéines de la membrane plasmique du neurone. Là, des protéines membranaires de la vésicule interagissent avec d'autres protéines de la membrane du neurone, réalisant l'arrimage des vésicules synaptiques à la membrane plasmique. En outre, les vésicules synaptiques doivent s'amarrer précisément sur la membrane du bouton synaptique. Suite à leur arrimage, les vésicules subissent des réarrangements qui les préparent à la fusion. Un certain nombre de réactions chimiques indispensables à la fusion se déroulent à ce moment-là. Elles consistent notamment en des modifications chimiques de certains lipides, par exemple des phosphorylations, mais se traduisent par la formation d'édifices moléculaires formés, pour l'essentiel,

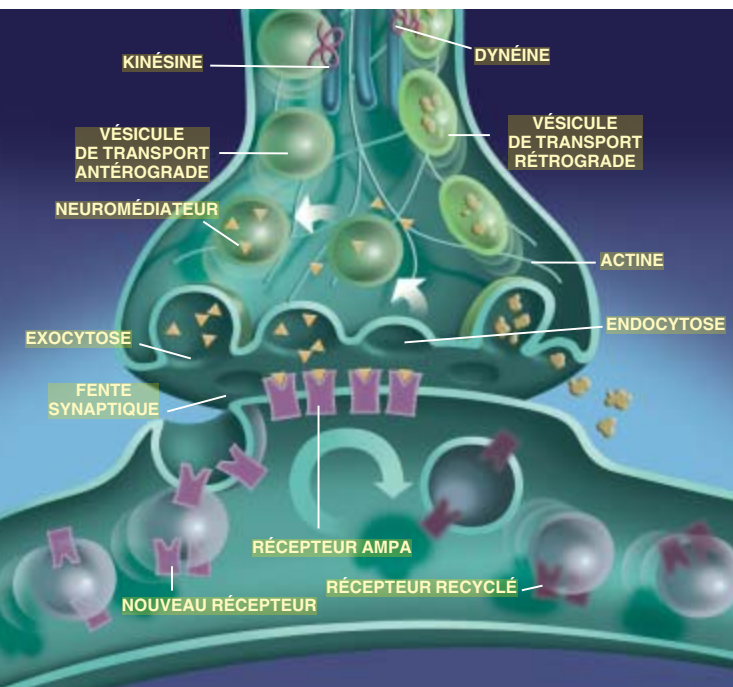
de protéines du cytoplasme. Une des fonctions de ces édifices moléculaires pourrait être d'amarrer les vésicules au bon endroit de la terminaison du bouton synaptique. Ainsi, si cet édifice est perturbé, la fusion n'a pas lieu. Une fois que tout ceci est prêt, la vésicule synaptique et la membrane plasmique fusionnent.

Lors de l'étape de fusion, une importante barrière énergétique doit être franchie : les structures lipidiques des bicouches membranaires, autant celle de la vésicule que celle de la membrane plasmique du neurone, sont des structures thermodynamiquement stables. La cellule eucaryote a adopté une machinerie de fusion membranaire qui repose sur des protéines SNARE (pour *Soluble NSF Attachment Protein Receptor*) et sur des protéines qui régulent leur action. Une partie des SNARE est portée par les vésicules : ce sont les v-SNARE, tandis que l'autre partie est ancrée dans la membrane du neurone et est nommée t-SNARE (pour *target-SNARE*). Les t-SNARE sont constituées d'une chaîne lourde (aussi nommée syntaxine) et de deux chaînes légères. Schématiquement, on peut dire que les v-SNARE s'arriment sur les t-SNARE comme une amarre sur un quai, et rapprochent la vésicule de la membrane plasmique, comme lorsqu'on tire sur une amarre.

Le complexe v-SNARE/t-SNARE rapproche les membranes pour qu'elles puissent fusionner. Quand on observe la structure du complexe v-SNARE/t-SNARE cristallisé, on constate que l'association des deux SNARE donne naissance à une structure en tresse, très stable thermodynamiquement. Ainsi, la barrière énergétique importante à franchir pour rapprocher les membranes est en partie compensée par le gain d'énergie lié à la formation de cette tresse. De surcroît, on constate que les deux SNARE sont disposées de façon colinéaire, de telle sorte qu'un enroulement d'une protéine sur l'autre rapproche mécaniquement la vésicule de la membrane (voir la figure 5).

Nous avons mis en évidence le rôle des protéines SNARE au cœur de la machinerie de fusion, grâce à un test *in vitro*. Dans ces expériences, la membrane d'une vésicule contient deux types de molécules fluorescentes. Lorsque ces deux molécules sont physiquement très proches (moins de cinq nanomètres de distance), l'excitation de la première molécule libère une énergie aussitôt transférée à la seconde molécule. La première molécule n'émet donc pas cette énergie sous forme de lumière. Au cours de la fusion, les deux molécules sont dispersées dans les membranes et s'éloignent l'une de l'autre. Dans ce cas-là, quand la première molécule est excitée, elle émet de la lumière puisque son énergie n'est plus transférée à la seconde molécule. Ainsi, l'augmentation de lumière fluorescente indique que la fusion a eu lieu. La présence de v-SNARE et de t-SNARE est nécessaire et suffisante pour provoquer la fusion. En effet, des liposomes sans protéines SNARE placés dans un tube à essais ne fusionnent pas. À l'inverse, les mêmes liposomes dans lesquels sont insérés des protéines SNARE, fusionnent.

In vivo, ce mécanisme est déclenché par l'activité électrique des neurones. La régulation serait assurée par des protéines qui, soit retarderaient la formation du complexe SNARE, soit au contraire l'accéléraient. La synaptotagmine, ancrée dans la membrane de la vésicule, changerait de conformation au moment où elle capte des ions calcium, accélérant l'enroulement des protéines SNARE en tresse et le rapprochement de la vésicule avec la membrane plasmique. Les membranes fusionnent, créant un pore qui laisse



4. LA SYNAPSE fonctionne grâce à deux modes de transport. Des vésicules sont acheminées dans un transport antérograde vers la synapse par des moteurs moléculaires, les kinésines. Ces vésicules se chargent en neuromédiateurs qu'elles relâchent en fusionnant avec la membrane du neurone, avant d'être recyclées par endocytose. Le neuromédiateur se fixe sur les récepteurs postsynaptiques, entraînant leur ouverture et l'apparition d'un nouveau signal électrique. Du côté postsynaptique, les récepteurs sont également soumis à un trafic. Des vésicules apportent les récepteurs nouvellement synthétisés, tandis que d'autres emportent ceux qui ont servi pour les recycler.