



Entretien avec J. ROTHMAN
R. SCHEKMAN
Th. SÜDHOF

d'une découverte

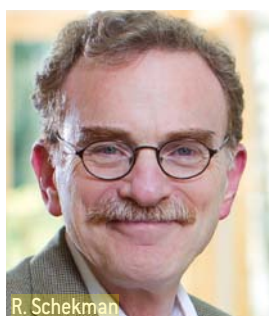
Les cellules sont le siège d'un intense trafic : sans cesse, des protéines transitent d'un endroit à un autre, transportées par des vésicules. Retour sur la découverte des mécanismes qui régulent ce trafic.

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

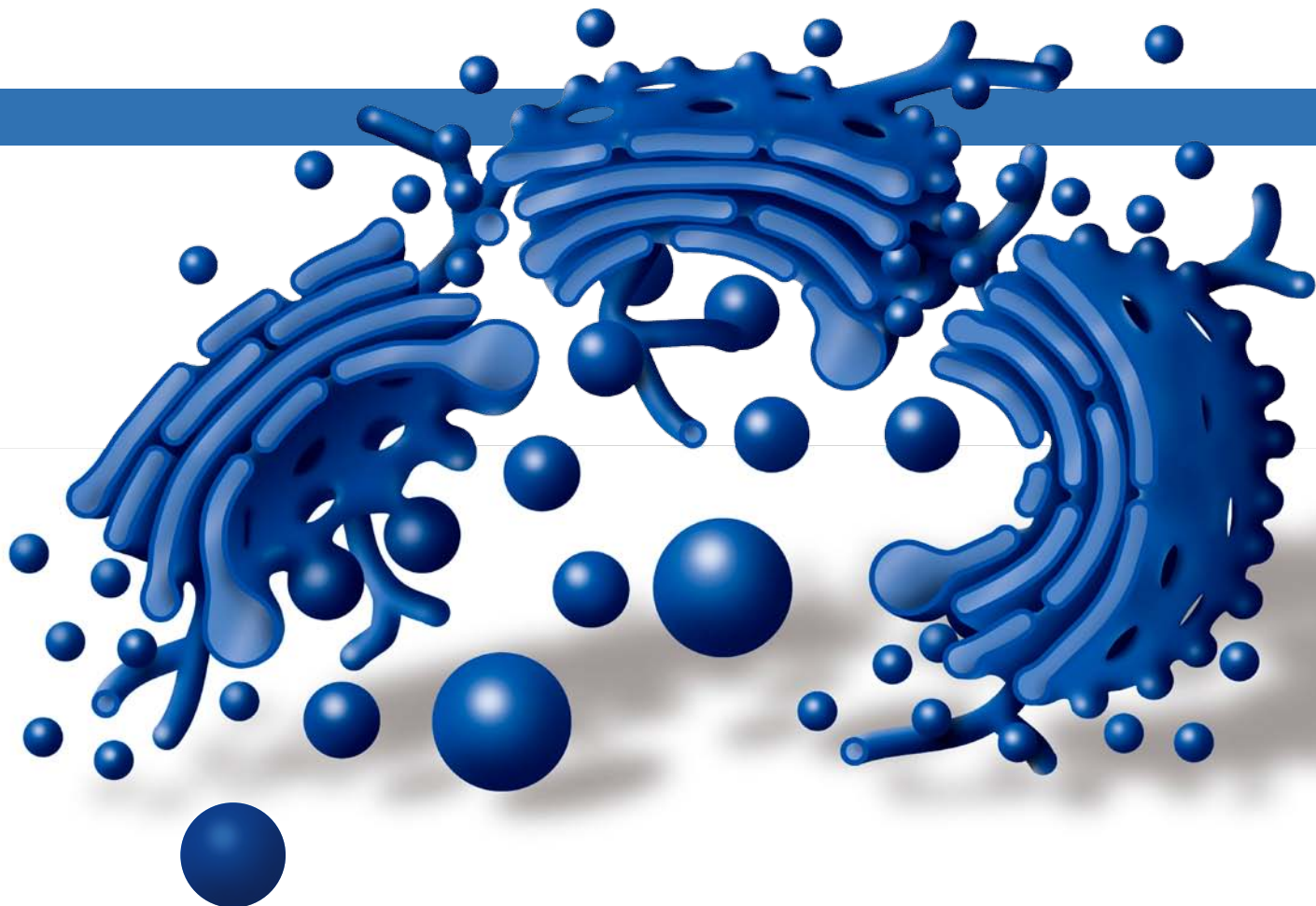
Comment l'idée d'un transport de ces protéines s'est-elle imposée ?

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.