

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.

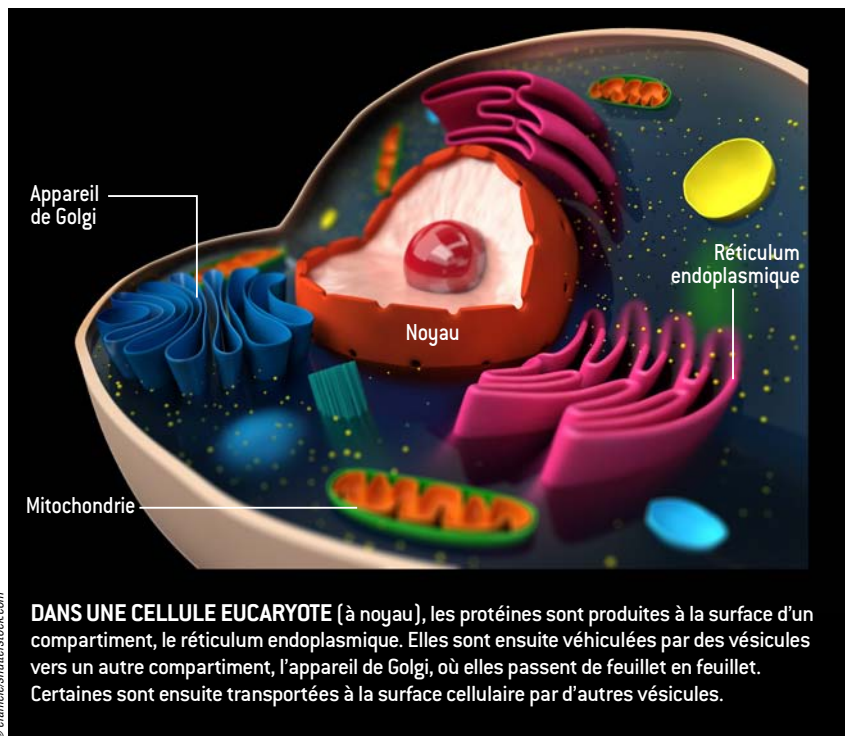
Nous avons utilisé des extraits de cerveau car la concentration de SNARE y était dix fois plus importante que dans tout autre tissu de l'organisme. Nous avons ainsi récolté trois protéines... déjà bien connues des neuroscientifiques : la syntaxine, SNAP-25 et VAMP faisaient partie des acteurs de la transmission 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 ?

**E**n 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

**P**oursuivant 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.