

injecté n'a diffusé vers les cellules voisines, et nous n'avons observé aucune plaque caractéristique du développement de jonctions communicantes. En se fixant sur les boucles, les anticorps avaient empêché les connexines d'une cellule de s'amarrer à celles de ses voisines.

Ces travaux montraient que la liaison des connexines est essentielle pour la construction des jonctions communicantes. Il s'agissait à présent d'observer les connexines en temps réel, au fil de leur activité au sein d'une cellule vivante. Toutefois, nous allions avoir besoin d'une autre technique pour y parvenir.

En 1994, nous nous sommes retrouvés tous trois à l'occasion d'une autre conférence – cette fois-ci à San Francisco. Au fil de discussions jusqu'au bout de la nuit sur les présentations auxquelles nous avons assisté, nous nous sommes passionnés pour la protéine fluorescente verte ou GFP (de l'anglais *green fluorescent protein*), un outil moléculaire qui a depuis été récompensé par un prix Nobel, en 2008. Une intervenante avait décrit comment elle avait lié ce marqueur fluorescent à sa protéine d'intérêt pour suivre ses trajets dans des cellules vivantes. Nous nous sommes donc demandé si nous pourrions utiliser la GFP pour suivre les déplacements des connexines.

Nous avons commencé par attacher la GFP à la queue des connexines : nous avons introduit dans des cellules de mammifères un ADN codant la connexine Cx43 associée à la GFP. À notre grand plaisir, cette approche a fonctionné : les connexines ainsi marquées se sont bien intégrées dans la membrane cellulaire, où elles se sont assemblées en jonctions communicantes fonctionnelles qui présentaient pratiquement toutes les propriétés de celles formées à partir de connexines non modifiées. Nous disposions désormais d'un moyen puissant pour observer le comportement de connexines dans les cellules – une tâche que Dale Laird a poursuivie à son nouveau poste à l'université de Western Ontario, au Canada.

Suivez cette connexine !

Nos toutes premières observations furent surprenantes. Nous avons d'abord pris des photos des cellules toutes les dix minutes, pensant que nous pourrions les monter en un film accéléré mettant en évidence le déplacement des connexines fluorescentes. Toutefois, ces dernières se déplaçaient si vite que nous étions incapables de suivre une protéine d'une photo à la suivante. Nous avons réessayé en espaçant les photos de deux minutes, mais c'était toujours insuffisant. Pour suivre nos molécules dans la cellule, nous avons finalement dû prendre des photos séparées de quelques secondes seulement.

Le film obtenu nous a permis non seulement de suivre les connexines, mais aussi d'observer le transport d'hémicanaux vers l'intérieur des cellules sur de longs filaments nommés microtubules. Nous avons par

Continuellement, les cellules construisent et remodelent leurs jonctions communicantes (*en bas, à droite*), ces vastes structures qui leur permettent de communiquer avec leurs voisines. La construction commence par la synthèse de protéines nommées connexines [1], leur arrangement en anneaux – les hémicanaux [2] – et l'insertion de ces derniers dans la membrane cellulaire [3]. Si un hémicanal rencontre une jonction communicante existante, il peut alors s'amarrer à un hémicanal de la cellule voisine connectée à cet endroit, formant ainsi un nouveau passage entre les cellules [4]. Parallèlement, les cellules suppriment et dégradent les canaux les plus anciens, situés au centre des jonctions [5 et 6].

