

RÉFÉRENCES

1. Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med* 2003 ; 9 : 685-93.
2. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent ? *J Natl Cancer Inst* 1990 ; 82 : 4-6.
3. Bos JL. ras oncogenes in human cancer : a review. *Cancer Res* 1989 ; 49 : 4682-9.
4. Irani K, Xia Y, Zweier JL, et al. Mitogenic signaling mediated by oxidants in Ras-transformed fibroblasts. *Science* 1997 ; 275 : 1649-52.
5. Brown NS, Bicknell R. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress : its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001 ; 3 : 323-7.
6. Kranenburg O, Gebbink MF, Voest EE. Stimulation of angiogenesis by Ras proteins. *Biochim Biophys Acta* 2004 ; 1654 : 23-37.
7. Lee JW, Bae SH, Jeong JW, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) α : its protein stability and biological functions. *Exp Mol Med* 2004 ; 36 : 1-12.
8. Gerald D, Berra E, Frapart YM, et al. JunD reduces tumor angiogenesis by protecting cells from oxidative stress. *Cell* 2004 ; 118 : 781-94.
9. Epstein AC, Gleadle JM, McNeill LA, et al. *C. elegans* EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell* 2001 ; 107 : 43-54.
10. Pfarr CM, Mehta F, Spyrou G, et al. Mouse JunD negatively regulates fibroblast growth and antagonizes transformation by ras. *Cell* 1994 ; 76 : 747-60.

NOUVELLE

Rififyline et recyclage : quel trafic !

Franck Coumaillieu, Charles Babinet, Michel Cohen-Tannoudji

Unité Biologie du développement,
CNRS URA 2578,
Institut Pasteur,
25, rue du Docteur Roux,
75724 Paris Cedex 15,
France.
m-cohen@pasteur.fr

> L'endocytose est un processus fondamental par lequel des composés extracellulaires ainsi que des constituants membranaires sont internalisés, puis

acheminés vers différents compartiments intracellulaires. Le recyclage d'une partie des éléments endocytosés (Figure 1) joue un rôle clé dans de nom-

breux événements cellulaires comme l'incorporation de nutriments, le maintien de la polarité cellulaire, la mobilité cellulaire ou encore la transduction du signal [1, 2]. Après internalisation, protéines et lipides membranaires sont, dans un premier temps, transportés vers les endosomes précoces ou les endosomes de tri. Dans ce compartiment, s'opère le tri entre les molécules qui seront dirigées vers les endosomes tardifs, puis éventuellement vers les lysosomes pour y être dégradés, et celles qui seront recyclées vers la membrane plasmique, soit directement, soit après avoir transité par les endosomes de recyclage (ERC, *endocytic recycling compartment*). Les compartiments impliqués dans cette voie sont extrêmement dynamiques. Les chemins suivis par les molécules endocytosées sont nombreux, complexes et impliquent l'action coordonnée d'un grand nombre de molécules assurant leur tri et leur adressage précis aux différents compartiments intracellulaires [3]. À l'heure actuelle, nos connaissances sur les mécanismes de régulation du trafic le long de la voie de recyclage sont assez limitées [4]. Une première raison à cela est que seul un petit nombre de molé-

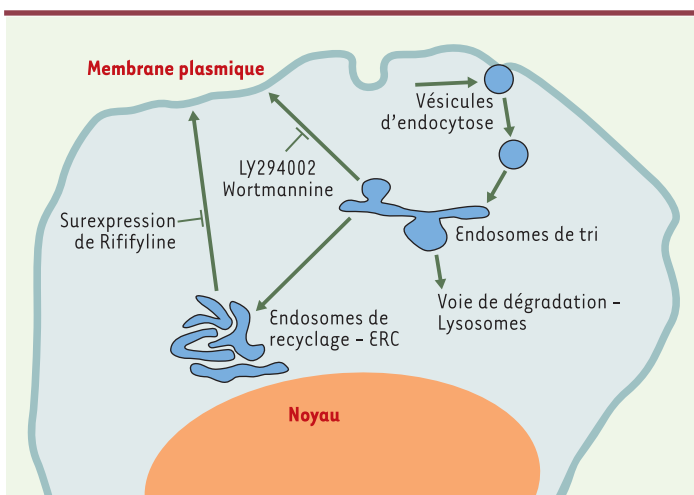


Figure 1. La voie de recyclage. Les vésicules d'endocytose formées après invagination de la membrane plasmique sont dirigées vers les endosomes de tri (ou endosomes précoces) avec lesquels elles fusionnent. Dans ce compartiment s'effectue un tri sélectif entre les molécules qui seront dégradées et celles qui seront recyclées vers la membrane plasmique. Ces dernières peuvent être recyclées directement depuis les endosomes de tri ou transiter *via* les endosomes de recyclage (ERC, *endocytic recycling compartment*). Les inhibiteurs des phosphatidylinositol-3-kinases tels que la wortmannine et le LY294002 inhibent le recyclage depuis les endosomes de tri. La surexpression de la Rififyline affecte le recyclage depuis l'ERC.



cules localisées dans les endosomes de recyclage a été caractérisé à ce jour ; parmi celles-ci se trouve la protéine Rab11 qui est impliquée dans le contrôle du trafic membranaire à travers l'ERC [5]. Une seconde raison est qu'il existe très peu d'outils agissant spécifiquement sur la voie de recyclage et permettant ainsi sa caractérisation détaillée. Récemment, une nouvelle piste a été ouverte par l'étude d'un gène appelé *Rififyline* [6]. Celui-ci est exprimé dans de nombreux tissus et code pour une protéine de 40 kDa présentant un domaine à doigts de zinc à chaque extrémité. Dans les cellules en culture, sa surexpression provoque la condensation, dans la région périnucléaire, de tubules et de vésicules d'endocytose présentant à leur membrane la transferrine, ainsi que son récepteur. La distribution de marqueurs des différents compartiments d'endocytose montre que les altérations morphologiques induites par la *Rififyline* sont spécifiques de l'ERC (Figure 2A). Par ailleurs, la surexpression de *Rififyline* retarde fortement le recyclage vers la membrane plasmique de la transferrine internalisée dans l'ERC (Figure 2B). Cela se traduit par la réduction de moitié du nombre de récepteurs de la transferrine à la surface des cellules et par l'inhibition d'environ 40 % de la quantité de transferrine recyclée après 30 minutes. L'étude de mutants de délétion a permis d'identifier le domaine protéique essentiel à l'action de la *Rififyline* sur l'ERC. Dans sa partie carboxy-terminale, la *Rififyline* possède un domaine RING, motif présent dans plusieurs centaines de protéines humaines et impliqué dans la réaction d'ubiquitinylation de certaines protéines [7]. Le domaine RING de la *Rififyline* n'est toutefois pas impliqué dans l'inhibition du recyclage. Dans sa partie amino-terminale, la *Rififyline* possède un domaine appelé *FYVE-like*, car apparenté au domaine *FYVE* (acronyme des protéines *Fab1p*, *YOTB*, *Vac1p* et *EEA1*). Présent dans une trentaine de protéines humaines, ce dernier est un domaine à doigt de zinc d'environ

70 acides aminés, qui se lie spécifiquement au phosphatidyl-inositol-3-phosphate (PI3P) [8]. Une concentration locale accrue de PI3P est responsable du recrutement, sur la membrane des endosomes de tri, de plusieurs protéines à domaine *FYVE* régulatrices de l'endocytose. De façon similaire, le domaine *FYVE-like* de la *Rififyline* constitue un domaine d'adressage aux membranes de l'ERC. En effet, fusionné à la *green fluorescent protein*, il permet le ciblage de la protéine de

fusion spécifiquement à l'ERC. De plus, la protéine *Rififyline* dépourvue de domaine *FYVE-like* se distribue dans le cytosol et la surexpression de la protéine tronquée est sans effet sur l'ERC. Par ailleurs, il a été montré, chez le rat, que la *Rififyline* est modifiée par l'ajout d'un groupement palmitate dans sa partie amino-terminale [9]. Cette modification post-traductionnelle participe probablement à la stabilisation de l'interaction de la *Rififyline* avec les membranes de l'ERC.

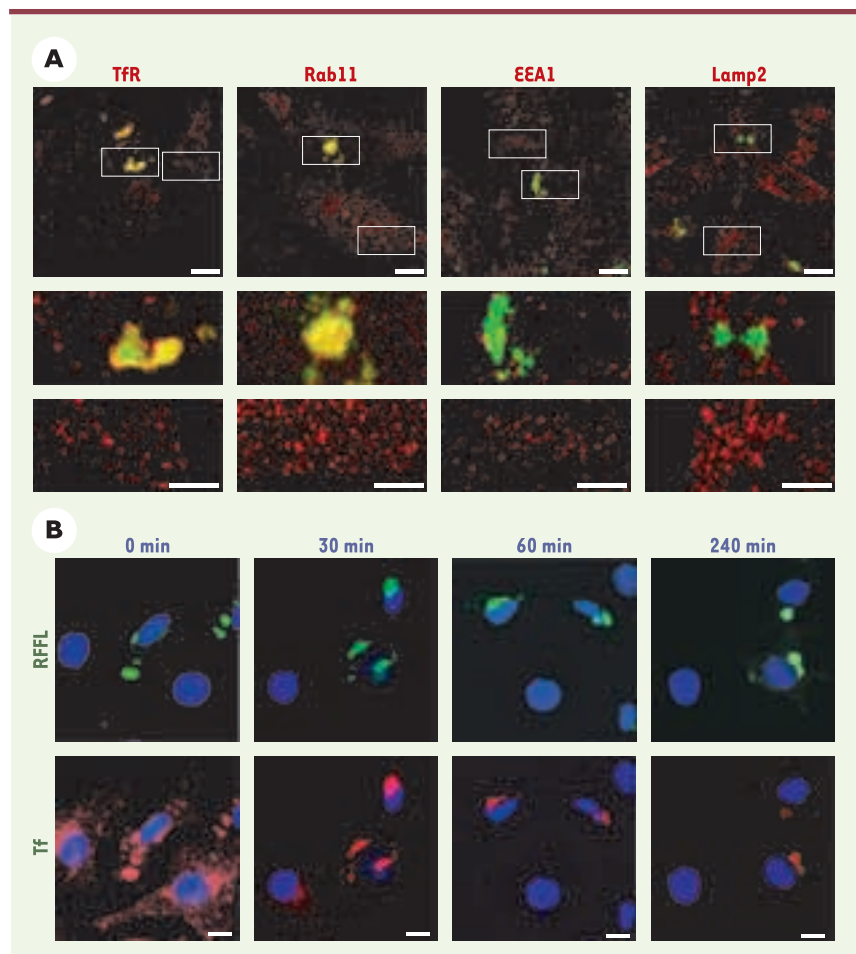


Figure 2. La surexpression de la *Rififyline* affecte la morphologie et la fonction des endosomes de recyclage (ERC). A. La surexpression de la *Rififyline* provoque l'agrégation des endosomes de recyclage contenant le récepteur de la transferrine (TfR) et la petite GTPase Rab11. Les distributions cellulaires des protéines EEA1, un marqueur des endosomes de tri, et Lamp2, un marqueur des endosomes tardifs (voie de dégradation), ne sont pas affectées par la surexpression de la *Rififyline*. B. Des cellules surexprimant ou non la *Rififyline* (RFFL, en vert) ont été incubées en présence de transferrine marquée (Tf, en rouge). Après internalisation (0 min), une « chasse » de 4 heures a été effectuée. Après 30 minutes, la majorité des cellules non transfectées ont recyclé la transferrine, alors que, dans les cellules surexprimant la *Rififyline*, une quantité importante de transferrine est toujours détectée dans l'ERC après 4 heures de « chasse ».



Le site principal d'interaction du domaine FYVE avec le PI3P est une poche de résidus hydrophobes [8]. Plusieurs résidus critiques de cette poche ne sont pas conservés dans le domaine FYVE-like de la Rififyline, suggérant que ce dernier ne se lie pas au PI3P. Cela a été confirmé par l'observation selon laquelle, contrairement aux protéines possédant un domaine FYVE *bona fide*, la distribution de la Rififyline n'est pas modifiée lors de la déplétion du PIP3 induite par le LY294002. L'identification du ligand du domaine FYVE-like sera déterminante pour la compréhension du mécanisme d'action de la Rififyline.

Un autre moyen d'inhiber la voie de recyclage est de bloquer l'activité des phosphatidyl-inositol-3-kinases (PI3-kinases) par le LY294002 [10]. Il est à noter que les effets inhibiteurs de la surexpression de la

Rififyline et du traitement par le LY294002 sur le recyclage de la transferrine s'additionnent, suggérant que la Rififyline et les inhibiteurs des PI3-kinases agissent sur des voies différentes. Ces derniers agiraient sur le recyclage à partir des endosomes de tri, notamment en diminuant le recrutement des protéines régulatrices interagissant avec le PI3P, alors que la Rififyline agirait sur les voies de recyclage à partir de l'ERC (Figure 1). Ainsi, la surexpression de la Rififyline agit spécifiquement sur l'un des compartiments les moins bien caractérisés de la voie. À l'avenir, son utilisation permettra certainement de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le trafic des protéines membranaires le long de voie de recyclage. ♦

Inhibition of endocytic recycling by Rififylin

RÉFÉRENCES

1. Mukherjee S, Ghosh RN, Maxfield FR. Endocytosis. *Physiol Rev* 1997; 77 : 759-803.
2. Piddini E, Vincent JP. Modulation of developmental signals by endocytosis: different means and many ends. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15 : 474-81.
3. Gruenberg J. The endocytic pathway: a mosaic of domains. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2 : 721-30.
4. Maxfield FR, McGraw TE. Endocytic recycling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5 : 121-32.
5. Ullrich O, Reinsch S, Urbe S, et al. Rab11 regulates recycling through the pericentriolar recycling endosome. *J Cell Biol* 1996; 135 : 913-24.
6. Coumilleau F, Das V, Alcover A, et al. Overexpression of rififylin, a new RING finger and FYVE-like domain-containing protein, inhibits recycling from the endocytic recycling compartment. *Mol Biol Cell* 2004; 15 : 4444-56.
7. Weissman AM. Themes and variations on ubiquitylation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2 : 169-78.
8. Stenmark H, Aasland R, Driscoll PC. The phosphatidylinositol 3-phosphate-binding FYVE finger. *FEBS Lett* 2002; 513 : 77-84.
9. Araki K, Kawamura M, Suzuki T, et al. A palmitoylated RING finger ubiquitin ligase and its homologue in the brain membranes. *J Neurochem* 2003; 86 : 749-62.
10. van Dam EM, Ten Broeke T, Jansen K, et al. Endocytosed transferrin receptors recycle via distinct dynamin and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathways. *J Biol Chem* 2002; 277 : 48876-83.

NOUVELLE

Localisation axonale de Emx2 Quand des facteurs de transcription à homéodomaine interfèrent avec la traduction

Stéphane Nédélec, Alain Trembleau

> Les neurones sensoriels olfactifs (NSO), à l'origine de la perception des odeurs, présentent la particularité d'être perpétuellement renouvelés chez l'adulte. La différenciation des NSO néoformés, caractérisée notamment par la croissance d'un prolongement axonal guidé vers les neurones cibles du bulbe olfactif, pose la question des mécanismes contrôlant ces phénomènes développementaux perdurant chez l'adulte. Parmi les gènes potentiellement impliqués dans ces processus, figurent les gènes de développement codant pour les homéoprotéines, des

facteurs de transcription caractérisés par la présence d'un homéodomaine, motif de liaison à l'ADN très conservé au cours de l'évolution. En effet, les homéoprotéines jouent des rôles fondamentaux dans le développement embryonnaire du système nerveux, non seulement au cours des étapes précoces de sa régionalisation, mais aussi pendant les phases plus tardives de différenciation neuronale. Par exemple, l'homéoprotéine Emx2 est nécessaire à l'établissement des frontières entre le mésencéphale et le dien-

S. Nédélec : CNRS UMR 8542, Département de Biologie, École Normale Supérieure, 46, rue d'Ulm, 75005 Paris, France.

A. Trembleau : Université Pierre et Marie Curie ; CNRS UMR 8542, Département de Biologie, École Normale Supérieure, 46, rue d'Ulm, 75005 Paris France. tremblea@wotan.ens.fr

céphale [1], elle contrôle la prolifération des cellules de la zone ventriculaire et l'établissement des aires corticales [2] et est aussi impliquée dans le développement des projections des neurones pyramidaux de l'hippocampe [3]. Bien que les mécanismes d'action d'Emx2 dans ces processus soient encore très mal compris, la localisation nucléaire de cette protéine et son statut de facteur de transcription laissent penser qu'elle agit probablement en contrôlant l'expression d'autres gènes.

Un partenariat Emx2/eIF4E dans les axones des neurones sensoriels olfactifs

Au cours de l'analyse, chez la souris, de l'expression d'Emx2, déjà connue pour perdurer chez l'adulte dans deux régions