

Une nouvelle machine moléculaire impliquée dans le trafic des endosomes

Emmanuel Derivery, Alexis Gautreau

Laboratoire d'enzymologie
et de biochimie structurales,
CNRS UPR3082,
Avenue de la terrasse,
91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
alexis.gautreau@lebs.cnrs-gif.fr
http://www.lebs.cnrs-gif.fr/gautreau/gautreau_fr.html

La formation des réseaux d'actine est étroitement contrôlée

La cellule contrôle sa morphologie comme la forme de ses compartiments internes grâce à des fibres protéiques qui constituent le cytosquelette. Deux polymères dynamiques sont particulièrement impliqués dans ces phénomènes, les filaments d'actine et les microtubules. La polymérisation de l'actine, induite au niveau des membranes, génère une force capable de les remodeler. Ceci est bien illustré lors de la migration cellulaire où la membrane plasmique est projetée grâce à la production de réseaux d'actine branchée. Ce type de réseaux est le produit de l'activité d'une machine moléculaire, le complexe Arp2/3 [1].

Le complexe Arp2/3 a besoin pour s'activer d'interagir avec un filament préexistant et une protéine, NPF (*Nucleation promoting factor*). On connaît à l'heure actuelle plusieurs familles de protéines NPF qui se répartissent les différentes fonctions du complexe Arp2/3 à différents endroits de la cellule [2]. Les protéines WASP (*Wiskott-Aldrich syndrome protein*) sont impliquées dans l'endocytose, les WAVE (*WASP family Verprolin-homologous protein*) dans la projection de la membrane plasmique lors de la migration cellulaire et WHAMM (*WASP homolog associated with actin, membranes, and microtubules*) dans le trafic au niveau de l'appareil de Golgi. Une quatrième famille, WASH (*Wiskott-Aldrich syndrome protein and SCAR¹ homolog*), a été identifiée [3],

¹ SCAR et WAVE sont les noms donnés à une même protéine découverte par deux groupes indépendants.

cependant sa fonction cellulaire était jusque très récemment inconnue.

La protéine WASH est localisée au niveau des endosomes [4, 5]. Plus spécifiquement, nous avons pu montrer que WASH était enrichie sur les endosomes de tri et de recyclage [10]. Elle peut aussi être détectée sur les endosomes tardifs mais pas au niveau de l'appareil de Golgi. WASH semble être localisée sur un domaine restreint de la surface de l'endosome. Les endosomes étant à la limite de résolution de la microscopie optique (environ 0,2 µm), nous avons confirmé cette observation en localisant WASH sur des endosomes dont la taille a été augmentée par l'induction de leur fusion. Le domaine endosomal marqué par WASH est associé à un réseau d'actine branchée. Des expériences d'interférence à ARN ont établi que ce réseau dépend du recrutement du complexe Arp2/3 par WASH [5].

WASH orchestre la fission endosomale en collaboration avec la dynamine

Le cytosquelette d'actine a un rôle important dans le trafic endosomal [6]. La perturbation du cytosquelette d'actine associé aux endosomes affecte les trois grandes voies au niveau des endosomes de tri : la dégradation (récepteur à l'EGF (*epidermal growth factor*) [7]), le recyclage (récepteur à la transferrine [5]) et le transport vers le Golgi (récepteur au mannose 6-phosphate [4]). L'inactivation de WASH induit un changement de la morphologie des endosomes. En effet, des tubules exagérément longs émanent des endosomes lors d'interférence à ARN ciblant WASH ou lors de la micro-injection d'un anticorps bloquant son acti-

vité vis-à-vis du complexe Arp2/3 [5]. Ces tubules sont tirés par des moteurs moléculaires le long des microtubules. La tubulation des endosomes suggère que la fission d'intermédiaires de transport à partir d'endosomes est déficiente en l'absence de WASH. La dynamine constituant la machinerie principale de fission à la membrane plasmique, nous avons recherché un lien fonctionnel entre WASH et la dynamine au niveau des endosomes. La dynamine endogène coprécipite avec WASH et l'inhibition de la dynamine induit des tubules endosomaux semblables à ceux qui sont observés lors de l'inactivation de WASH (*Figure 1A*).

L'ensemble de ces résultats suggère le modèle suivant pour le rôle de l'actine dans la fission endosomale (*Figure 1B*) : le bourgeon est tiré par les moteurs microtubulaires, WASH induit la polymérisation d'actine à la base du tubule, WASH recrute alors directement ou indirectement la dynamine qui oligomérisse autour de la membrane. Le tubule de membrane est sous tension car la force générée par la polymérisation de l'actine s'exerce en sens opposé à celle développée par les moteurs microtubulaires. Cette tension facilite la fission du tubule par la dynamine. En l'absence des activités de WASH ou de dynamine, la tubulation est exagérée car la fission ne s'opère pas.

WASH, une machine moléculaire en amont de Arp2/3

On sait que la régulation des NPF se fait au sein de complexes multiprotéiques [2], et WASH n'échappe pas à la règle. En effet, nous avons purifié un complexe de 7 sous-unités comprenant WASH [5].

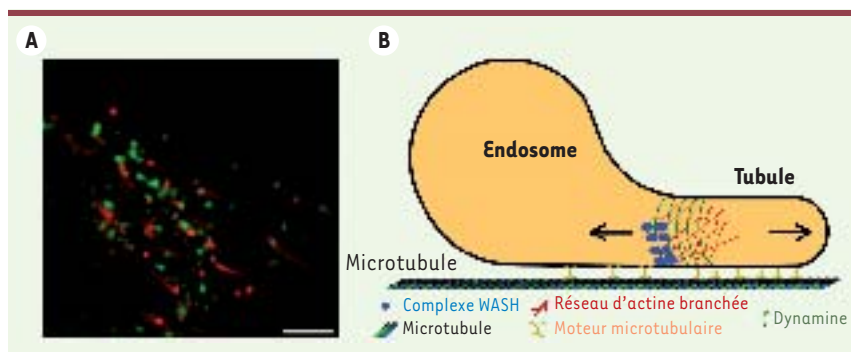


Figure 1. WASH collabore avec la dynamique pour induire la fission des endosomes. **A.** Image extraite d'un film où des cellules 3T3 exprimant WASH en fusion avec la GFP (vert) et ayant internalisé de la transferrine fluorescente (rouge) sont traitées par du dynasore, un inhibiteur de la dynamine. L'inactivation de la dynamine induit une tubulation des endosomes contenant la transferrine. WASH n'est pas présente le long des tubules, mais à l'extrémité élargie des tubules qui correspond à l'endosome à partir duquel le tubule de membrane est étiré. Barre d'échelle : 5 μ m. **B.** Modèle

de la fission endosomale. Le complexe WASH et le réseau d'actine branchée sont responsables du recrutement de la dynamine au niveau du bourgeon. Les forces opposées exercées par la polymérisation d'actine et les moteurs microtubulaires (flèches) permettent de maintenir sous tension la membrane qui doit subir le processus de fission.

Chacune des sous-unités est critique pour la stabilité de WASH. Il s'agit donc d'une nouvelle machine moléculaire en amont du complexe Arp2/3. De manière surprenante, ce complexe contient aussi l'hétérodimère de la protéine de coiffe, qui, à l'état libre, bloque l'élongation des filaments d'actine. Comme le complexe WASH est capable d'activer le complexe Arp2/3, cette activité supplémentaire doit engendrer une architecture particulière du réseau d'actine au niveau des endosomes. Le complexe WASH est donc un super-complexe portant plusieurs fonctions grâce au recrutement d'un complexe préexistant. Une autre sous-unité du complexe est la strumpelline, produit du gène *KIAA0196*. Les mutations de ce gène sont responsables d'une maladie, la paraplégie spastique héréditaire ou maladie de Strumpell-Lorrain², mais le rôle cellulaire de la protéine n'était

pas caractérisé [8]. Plusieurs autres gènes mutés chez les patients atteints de cette paraplégie codent pour des protéines impliquées dans le trafic endosomal et la dynamique des microtubules [9]. Ces fonctions sont donc parfaitement compatibles avec le rôle que nous proposons pour le complexe WASH. La paraplégie spastique héréditaire se développe par la dégénérescence des neurones moteurs. L'ensemble de ces gènes et WASH semblent donc dessiner une voie de trafic endosomal qui requiert l'étroite collaboration des cytosquelettes d'actine et de microtubules. Cette voie doit permettre le trafic de facteurs essentiels à la survie des neurones moteurs. \diamond

A new actin polymerizing machine involved in endosomal traffic

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Pollard TD, Cooper JA. Actin, a central player in cell shape and movement. *Science* 2009 ; 326 : 1208-12.
- Insall RH, Machesky LM. Actin dynamics at the leading edge: from simple machinery to complex networks. *Dev Cell* 2009 ; 17 : 310-22.
- Linardopoulou EV, Parghi SS, Friedman C, et al. Human subtelomeric WASH genes encode a new subclass of the WASP family. *PLoS Genet* 2007 ; 3 : e237.
- Gomez TS, Billadeau DD. A FAM21-containing WASH complex regulates retromer-dependent sorting. *Dev Cell* 2009 ; 17 : 699-711.
- Derivery E, Sousa C, Gautier JJ, et al. The Arp2/3 activator WASH controls the fission of endosomes through a large multiprotein complex. *Dev Cell* 2009 ; 17 : 712-23.
- Soldati T, Schliwa M. Powering membrane traffic in endocytosis and recycling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006 ; 7 : 897-908.
- Morel E, Parton RG, Gruenberg J. Annexin A2-dependent polymerization of actin mediates endosome biogenesis. *Dev Cell* 2009 ; 16 : 445-57.
- Valdmanis PN, Meijer IA, Reynolds A, et al. Mutations in the KIAA0196 gene at the SPG8 locus cause hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet* 2007 ; 80 : 152-61.
- Dion PA, Daoud H, Rouleau GA. Genetics of motor neuron disorders: new insights into pathogenic mechanisms. *Nat Rev Genet* 2009 ; 10 : 769-82.
- Michaux G, Le Borgne R. Tri sélectif et recyclage : Wntless et le retromer, deux acteurs clés de la signalisation WNT. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 617-21.

² Cette maladie de transmission surtout autosomique dominante - décrite par A. Strumpell et M. Lorrain à la fin du XIX^e siècle - se caractérise par une spasticité progressive des membres inférieurs associée à une dégénérescence axonale et une démyélinisation du système corticospinal. Il peut s'y ajouter des signes oculaires à type de neuropathie optique.



Tarifs d'abonnement M/S - 2010

**Abonnez-vous
à Médecine/Sciences**

> Grâce à m/s, vous vivez en direct
les progrès des sciences biologiques
et médicales

**Bulletin d'abonnement
page 314 dans ce numéro de m/s**

