ces réponses protectrices de « réponses allergiques » ? La question n'est pas tranchée dans la mesure où, pour certains scientifiques, une réponse allergique est par définition une réaction délétère et pathologique. Bien qu'il soit difficile d'extrapoler ces découvertes à la situation chez l'humain, il est possible que, pour la majorité de la population, les IgE induites après une première exposition au venin permettent d'obtenir un effet bénéfique contre ce même venin en cas d'exposition ultérieure. Des observations cliniques vont dans ce sens : ainsi, seule une minorité des personnes ayant produit des IgE à l'encontre de venin d'abeille développent des réactions aiguës néfastes en cas de réexposition [11].

Conclusion

Nos recherches indiquent que certaines réponses de type T_H2 associées à la production d'IgE spécifiques de l'allergène

peuvent augmenter, plus que détériorer, la résistance de l'hôte exposé à ces allergènes. Nous répondons donc à une question fondamentale liée à l'utilité des IgE et à la conservation des réponses immunitaires allergiques au cours de l'évolution. En effet, nos découvertes représentent la première démonstration expérimentale qu'une des fonctions des réponses immunitaires allergiques est d'augmenter la résistance et la survie de l'hôte à l'encontre de certains venins, confortant ainsi une hypothèse proposée par M. Profet il y a plus de vingt ans [5]. ♦

An allergic response to fight against venoms

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Pawankar R, Canonica GW, Holgate ST, Lockey RF. Allergic diseases and asthma: a major global health concern. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012 ; 12 : 39-41.
2. Pulendran B, Artis D. New paradigms in type 2 immunity. *Science* 2012 ; 337 : 431-5.
3. Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med* 2012 ; 18 : 693-704.
4. Rodewald HR, Feyerabend TB. Widespread immunological functions of mast cells: fact or fiction? *Immunity* 2012 ; 37 : 13-24.
5. Profet M. The function of allergy: immunological defense against toxins. *Q Rev Biol* 1991 ; 66 : 23-62.
6. Annala I. Bee venom allergy. *Clin Exp Allergy* 2000 ; 30 : 1682-7.
7. Metz M, Piliponsky AM, Chen CC, et al. Mast cells can enhance resistance to snake and honeybee venoms. *Science* 2006 ; 313 : 526-30.
8. Akahoshi M, Song CH, Piliponsky AM, et al. Mast cell chymase reduces the toxicity of Gila monster venom, scorpion venom, and vasoactive intestinal polypeptide in mice. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 4180-91.
9. Marichal T, Starkl P, Reber LL, et al. A beneficial role for immunoglobulin E in host defense against honeybee venom. *Immunity* 2013 ; 39 : 963-75.
10. Palm NW, Rosenstein RK, Yu S, et al. Bee venom phospholipase A2 induces a primary type 2 response that is dependent on the receptor ST2 and confers protective immunity. *Immunity* 2013 ; 39 : 976-85.
11. Antonicelli L, Bilo MB, Bonifazi F. Epidemiology of Hymenoptera allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002 ; 2 : 341-6.

NOUVELLE

Quand les microtubules rencontrent les puits recouverts de clathrine et permettent aux cellules de tenir le cap

Guillaume Montagnac^{1,2}, Philippe Chavrier^{1,2}

► Les microtubules représentent un des composants du cytosquelette. Ce sont des polymères de tubuline qui s'assemblent en tubes creux polarisés présentant une extrémité (-) généralement stable et ancrée au centrosome, et une extrémité (+) dynamique qui explore le cytosol en alternant des phases de polymérisation et de dépolymérisation. Organisés en réseau, ils interviennent dans de nombreux processus cellulaires tels que la division et la migration. Les

microtubules subissent de nombreuses modifications post-traductionnelles qui modifient leurs propriétés physicochimiques. Une de ces modifications est l'acétylation de la tubuline, qui est associée à une plus longue durée de vie des microtubules [1]. L'enzyme responsable de l'acétylation (une acétyl-transférase) est α TAT1 qui ne peut acétyler que la tubuline polymérisée en microtubule [2, 3]. Une des caractéristiques étonnantes de l'acétylation de

la tubuline est que cette modification n'affecte qu'une sous-population de microtubules. Comment les microtubules acétylés sont-ils sélectionnés est une question récurrente qui a attiré l'attention de nombreux biologistes cellulaires.

Les microtubules sont acétylés au niveau des puits recouverts de clathrine

Au cours d'une étude publiée récemment dans *Nature* [4], nous avons mis en

¹ Institut Curie, Centre de Recherche, 26, rue d'Ulm, 75005 Paris, France ;

² Dynamique de la membrane et du cytosquelette, CNRS UMR 144, 26, rue d'Ulm, 75005 Paris, France ;
guillaume.montagnac@curie.fr
philippe.chavrier@curie.fr

Figure 1. L'acétylation des microtubules démarre au niveau des puits recouverts de clathrine.

A. Des cellules HeLa ont été traitées par le Nocodazole, une drogue qui dépolymérise les microtubules, puis la drogue a été retirée pour permettre une re-croissance synchrone des microtubules. Après fixation et marquage, les cellules ont été observées au microscope à fluorescence. L'image montre une région d'une cellule dans laquelle des microtubules (en rouge) sont acétylés à leur extrémité (en vert) qui contacte un puits recouvert de clathrine (en bleu). Barre d'échelle : 2 μ m.

B. Modèle : un puits recouvert de clathrine (clathrine en rouge) enrichi en α TAT1 (en jaune) est contacté par l'extrémité (+) d'un microtubule en croissance (panneau du haut) et l'acétylation démarre à partir de cette extrémité (panneau du milieu) et se propage le long du microtubule (panneau du bas).

évidence que l'extrémité (+) en croissance de certains microtubules peut entrer en contact avec des structures présentes au niveau de la face interne de la membrane plasmique, les puits recouverts de clathrine. Ces structures représentent des invaginations de la membrane plasmique spécialisées dans l'endocytose et essentiellement constituées de clathrine ainsi que du complexe AP-2. Le complexe AP-2 est d'abord recruté à la membrane plasmique et recrute à son tour la clathrine, qui permet la déformation des puits dans lesquels s'accumulent les récepteurs membranaires destinés à être internalisés [5]. Notre étude a montré qu'en absence du complexe AP-2, alors que la membrane plasmique est dépourvue de puits recouverts de clathrine, l'acétylation des microtubules était dramatiquement diminuée. En revanche, nous avons observé que l'absence de clathrine n'affecte pas l'acétylation des microtubules. En absence de clathrine, le complexe AP-2 reste enrichi au niveau de pseudo-puits dépourvus de clathrine et donc incapables d'invaginer la membrane plasmique et de contribuer à l'endocytose [6]. Nous

en avons conclu que ce n'est pas tant leur rôle dans l'endocytose, mais bien la présence des puits recouverts de clathrine (ou des pseudo-puits) à la membrane plasmique, qui est cruciale pour permettre l'acétylation des microtubules.

En recherchant les mécanismes permettant aux puits recouverts de clathrine de contrôler l'acétylation des microtubules, nous avons découvert que α TAT1, l'acétyl-transférase des microtubules, était localisée au niveau des puits recouverts de clathrine où elle interagit directement avec le complexe AP-2. De plus, nous avons montré que l'interaction entre AP-2 et α TAT1 dans les puits recouverts de clathrine est nécessaire à l'acétylation. Enfin, dans des expériences où nous avons synchronisé la croissance des microtubules, nous avons observé que l'acétylation des microtubules démarre au niveau des puits recouverts de clathrine (Figure 1A). Ces résultats nous ont conduits à proposer un nouveau modèle dans lequel des microtubules en croissance venant contacter les puits recouverts de clathrine par leur extrémité (+) deviennent

acétylés (Figure 1B). Ce modèle répond à la question de la sélectivité de l'acétylation puisque seuls les microtubules ayant contacté un puits recouvert de clathrine pourront être acétylés.

Les puits recouverts de clathrine sculptent le réseau de microtubules

Notre modèle implique que la distribution des puits recouverts de clathrine à la membrane plasmique est le facteur déterminant qui dicte à quel endroit de la cellule les microtubules seront acétylés. Dans la plupart des cellules, les puits recouverts de clathrine sont distribués de façon homogène et aléatoire à la membrane plasmique. Cependant, il n'en va pas de même au cours de la migration cellulaire, et nous avons confirmé des observations plus anciennes [7] montrant que les puits recouverts de clathrine s'accumulent préférentiellement à l'avant des cellules cancéreuses en migration (Figure 2A). Cette distribution asymétrique des puits recouverts de clathrine est en soi remarquable et doit être mise en parallèle avec d'autres observations ayant établi que les microtubules acétylés sont essentiellement dirigés vers l'avant des cellules en migration [8, 9]. Il est donc très vraisemblable que dans une cellule en migration, les microtubules en croissance ont davantage de chances de rencontrer des puits recouverts de clathrine à l'avant de la cellule, avec pour conséquence une accumulation de microtubules acétylés orientés vers le front de migration (Figure 2B).

Nous avons ensuite étudié les conséquences de cette acétylation asymétrique des microtubules sur les capacités de migration et d'invasion des cellules cancéreuses. Dans des expériences classiques de migration sur un substrat plan rigide (une lame de verre), nous avons observé qu'en absence du complexe AP-2 ou d' α TAT1, la vitesse de migration des cellules tumorales n'était pas perturbée. En revanche, la capacité de ces cellules à migrer de façon persistante dans une direction donnée était

Figure 2. La distribution des puits recouverts de clathrine dicte l'orientation des microtubules acétylés au cours de la migration. **A.** Marquage des puits recouverts de clathrine à l'aide d'un anticorps dirigé contre une sous-unité du complexe AP-2 dans une cellule MDA-MB-231 (adénocarcinome mammaire humain) ; la cellule se déplace vers la droite. Barre d'échelle : 10 μ m. **B.** Modèle : les microtubules en croissance ont plus de chance de rencontrer des puits recouverts de clathrine à l'avant d'une cellule en migration où ces structures s'accumulent. En conséquence, les microtubules acétylés (en vert) sont préférentiellement orientés vers l'avant.

diminuée. Dans ces conditions, les cellules tumorales n'étaient plus capables de se déplacer en ligne droite sur de longues distances et changeaient fréquemment de direction. Là encore, nous avons pu montrer que l'interaction entre AP-2 et α TAT1 est absolument nécessaire pour une migration persistante. L'environnement des cellules cancéreuses est évidemment plus complexe que la lame de verre utilisée dans nos conditions expérimentales. Par exemple, après s'être échappées de la tumeur primaire, les cellules tumorales évoluent dans des environnements tridimensionnels essentiellement constitués de fibres de collagène. De plus, les cellules tumorales ne migrent pas de façon aléatoire, mais elles sont orientées par des gradients de molécules chimiotactiques, comme des cytokines ou des facteurs de croissance. De cette façon, les cellules tumorales sont capables de s'orienter pour rejoindre le système circulatoire et se disséminer dans l'organisme. Nous avons donc mis au point un système

expérimental permettant d'établir un gradient de facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor*, EGF) dans un réseau tridimensionnel de fibres de collagène. Dans ces conditions, les cellules tumorales ont tendance à se déplacer en suivant le gradient d'EGF de façon relativement persistante. En revanche, et de façon semblable à nos observations en 2D, l'inactivation du complexe AP-2 ou d' α TAT1 dans cet environnement en 3 dimensions n'affecte pas la vitesse de déplacement des cellules, mais inhibe la persistance de la migration et altère le déplacement des cellules vers la source d'EGF. En résumé, nos travaux démontrent que l'accumulation des puits recouverts de clathrine au front de migration détermine une acétylation préférentielle des microtubules orientés vers l'avant, permettant aux cellules de maintenir leur cap.

Des puits vers la lumière

Ainsi, la façon dont sont distribués les puits recouverts de clathrine à la

membrane plasmique permet de sculpter le réseau de microtubules pour une migration efficace et dirigée. Plusieurs questions restent cependant à élucider. En premier lieu, il va nous falloir comprendre pourquoi les puits recouverts de clathrine ne sont pas répartis de façon homogène dans les cellules en migration et pourquoi ils s'accumulent préférentiellement à l'avant. Une autre question centrale sera de comprendre comment les microtubules acétylés orientés vers l'avant des cellules permettent de maintenir la direction de migration ; une hypothèse qui a été proposée dans le passé suppose que ces microtubules acétylés et stabilisés servent de voies de transport à des composants cellulaires qui sont nécessaires à l'avant des cellules en migration.

Enfin, une des particularités de l'acétylation est que le résidu cible d' α TAT1 sur la tubuline des microtubules est une lysine exposée à l'intérieur des tubes creux que constituent les microtubules [10]. Ceci implique qu' α TAT1 doit pénétrer dans la lumière relativement exiguë de ces tubes (environ 16 nm de diamètre) afin d'acétyler la paroi interne des microtubules. Comment α TAT1 accède-t-elle à la lumière des microtubules après le contact avec un puits recouvert de clathrine, et comment l'acétylation se propage-t-elle le long du microtubule sont des questions dont les réponses devraient nous en apprendre plus sur la structure même des microtubules. ♦

When microtubules meet clathrin-coated pits

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Perdiz D, Mackeh R, Pous C, Baillet A. The ins and outs of tubulin acetylation: more than just a post-translational modification? *Cell Signal* 2011 ; 23 : 763-71.
2. Akella JS, Wloga D, Kim J, et al. MEC-17 is an alpha-tubulin acetyltransferase. *Nature* 2010 ; 467 : 218-22.

RÉFÉRENCES

- Shida T, Cueva JG, Xu Z, *et al.* The major alpha-tubulin K40 acetyltransferase alphaTAT1 promotes rapid ciliogenesis and efficient mechanosensation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 21517-22.
- Montagnac G, Meas-Yedid V, Irondelle M, *et al.* alphaTAT1 catalyses microtubule acetylation at clathrin-coated pits. *Nature* 2013 ; 502 : 567-70.
- McMahon HT, Boucrot E. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011 ; 12 : 517-33.
- Hinrichsen L, Harborth J, Andrees L, *et al.* Effect of clathrin heavy chain- and alpha-adaptin-specific small inhibitory RNAs on endocytic accessory proteins and receptor trafficking in HeLa cells. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 45160-70.
- Rappoport JZ, Simon SM. Real-time analysis of clathrin-mediated endocytosis during cell migration. *J Cell Sci* 2003 ; 116 : 847-55.
- Gundersen GG, Bulinski JC. Selective stabilization of microtubules oriented toward the direction of cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 5946-50.
- Watanabe T, Noritake J, Kaibuchi K. Regulation of microtubules in cell migration. *Trends Cell Biol* 2005 ; 15 : 76-83.
- Nogales E, Whittaker M, Milligan RA, Downing KH. High-resolution model of the microtubule. *Cell* 1999 ; 96 : 79-88.

NOUVELLE

Des centrosomes à la microcéphalie : suivez le lien

Véronique Marthiens, Renata Basto

Équipe biologie du centrosome et du cil,
Institut Curie, CNRS UMR144,
12, rue Lhomond, 75005 Paris, France.
renata.basto@curie.fr
veronique.marthiens@curie.fr

Le centrosome est le principal centre organisateur des microtubules dans les cellules animales. Il est formé d'une paire de centrioles entourée d'une matrice protéique amorphe, appelée matrice péri-centriolaire, responsable de la nucléation et de l'ancrage des microtubules [1]. Dans la majorité des cellules en interphase, un des deux centrioles sert de base à la formation d'un cil primaire, un organite essentiel à la signalisation en aval de certains facteurs de croissance. La duplication des centrioles se produit au cours des phases G1/S du cycle cellulaire et permet la formation de deux centrosomes (Figure 1A). Lors de la mitose, les deux centrosomes facilitent la formation d'un fuseau bipolaire. En contrôlant la nucléation des microtubules astraux, ils participent également au positionnement correct de ce même fuseau. En contexte normal, la duplication des centrioles se limite à la formation d'un seul pro-centriole par centriole père et par cycle cellulaire. Cette duplication est contrôlée par un jeu d'activation et de dégradation par protéolyse de protéines clés. Le rôle de la sérine/thréonine kinase Plk4 (*Polo-like*

kinase 4) est notamment reconnu comme essentiel à ce processus. L'absence de Plk4 bloque en effet la duplication centriolaire, alors que sa surexpression entraîne la formation d'un excès de centrioles [2].

La dérégulation du cycle de duplication des centrioles et certains défauts de la division cellulaire conduisent à l'accumulation de centrosomes surnuméraires dans la cellule (Figure 1A). Cette condition, encore appelée amplification centrosomale, a été à l'origine observée dans un grand nombre de tumeurs solides humaines [3]. Plus récemment, des mutations ont été identifiées dans des gènes codant pour des protéines du centrosome chez des patients atteints d'hypoplasie tissulaire à la naissance. Parmi ces pathologies, la microcéphalie primaire autosomique récessive (MCPH) est définie par une réduction du périmètre crânien de l'ordre de deux déviations standard par rapport à des individus de même âge et de même sexe. Certaines microcéphalies s'accompagnent de nanisme, comme dans le cas du nanisme microcéphalique ostéodysplasique primor-

dial (MOPDII) et du syndrome de Seckel. On compte également certaines formes de lissencéphalie, où les patients ont à la fois un cortex de petite taille et d'aspect lisse en raison de défauts de migration des neurones [4]. L'allongement de la liste des pathologies associées à des défauts du centrosome souligne l'importance de mieux comprendre les mécanismes fondamentaux de la biogenèse de cet organite et de développer des modèles animaux pour étudier les conséquences de son dysfonctionnement sur le développement et l'homéostasie des tissus.

L'excès de centrosomes contribue à une réduction de la taille du cerveau

Les mutations identifiées chez des patients atteints de MCPH ont été incriminées dans la diminution du nombre de centrosomes fonctionnels dans la population des cellules souches neuronales (CSN) [5, 6]. Notre équipe a récemment développé et caractérisé une lignée de souris chez laquelle l'amplification centrosomale est restreinte à la population des CSN [7]. Nous avons choisi de perturber la machinerie de duplication