

Un réseau moléculaire pour le transport des vésicules du centre à la périphérie cellulaire

Andrea Burgo^{1,2,3}, Étienne Formstecher⁴, Thierry Galli^{1,2}

¹Institut Jacques Monod, UMR 7592, CNRS, université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, 75205 Paris, France ;

²Inserm ERL U950, trafic membranaire dans la morphogenèse neuronale et épithéliale, 15, rue Hélène Brion, 75013 Paris, France ;

³Laboratoire structure-activité des biomolécules normales et pathologiques, université d'Évry Val-d'Essonne, bâtiment Maupertuis, rue du Père Jarlan, 91100 Évry, France ;

⁴Hybrigenics, 3-5, impasse Reille, 75014 Paris, France. thierry.galli@inserm.fr

► D'importants défauts de trafic vésiculaire et de sécrétion sont associés à de nombreuses pathologies liées aux cancers, au diabète, et aux maladies neurologiques et psychiatriques. Le transport de composants vers la membrane plasmique, qui met en jeu le trafic vésiculaire, est crucial pour l'expression de protéines membranaires nouvellement synthétisées - molécules d'adhésion, récepteurs de facteurs de croissance et de guidage -, ainsi que pour l'arrivée de protéines et de lipides, la libération des hormones et des neurotransmetteurs [1], et même le transport du TCR (*T-cell receptor*) à la synapse immunologique [2]. Ce trafic est aussi nécessaire à la migration et au guidage des neurones et des cellules épithéliales [3, 4]. Dans ce contexte, les protéines SNARE (*soluble N-ethylmaleimide sensitive factor* [NSF] *attachment protein receptor*) interviennent dans la fusion

membranaire, évènement final essentiel du transport vésiculaire, en donnant l'énergie nécessaire à l'étape de fusion des bicouches lipidiques [5].

Notre équipe a identifié et caractérisé depuis plusieurs années TI-VAMP (*neurotoxin insensitive vesicle-associated membrane protein*)/VAMP7, une protéine SNARE localisée sur des vésicules de sécrétion et impliquée dans l'exocytose insensible aux neurotoxines botuliques et tétaniques (responsables respectivement du botulisme et du tétanos). Depuis plus de dix ans, nous caractérisons le rôle du trafic membranaire impliquant TI-VAMP notamment en recherchant ses partenaires cellulaires par la technique de crible en double hybride chez la levure. Ce projet de recherche s'effectue en étroite association avec la société Hybrigenics.

Cette approche s'est révélée très prolifique. En 2003, nous avons montré

que l'interaction de TI-VAMP avec AP-3 (*adaptator protein-3*), identifiée grâce à un crible, est déterminante pour le ciblage intracellulaire de TI-VAMP [6]. AP-3 est un manteau moléculaire interagissant avec la clathrine et impliqué dans le ciblage intracellulaire à partir de l'appareil de Golgi et des endosomes. Par ailleurs, les cribles réalisés avec TI-VAMP comme appât ont mis en évidence les partenaires de SNARE déjà connus comme les syntaxines 1 (STX1) et 3 (STX3), SNAP23 (*synaptosomal-associated protein 23*) et SNAP25. Ces molécules sont présentes à la membrane plasmique sous la forme de complexes TI-VAMP/STX1/SNAP25 ou TI-VAMP/STX3/SNAP23 qui permettent la fusion des vésicules intracellulaires avec la membrane plasmique.

En 2008, nous avons caractérisé le rôle de Hrb (*human immunodeficiency virus rev binding protein*), un autre partenaire de TI-VAMP, et montré son rôle dans l'endocytose dépendante de la clathrine [7]. Nous avons montré que TI-VAMP interagit avec VARP (*Vps9 domain and ankyrin repeats containing protein*), un facteur d'échange de la petite GTPase RAB21 [8]. Notre identification de l'interaction de TI-VAMP avec Varp a récemment été complétée par la structure des domaines d'interaction [9]. Dans un article récent, nous montrons que TI-VAMP est le point de départ d'un réseau moléculaire qui associe des protéines appartenant aux grandes classes de facteurs protéiques impliqués dans le trafic vésiculaire : le facteur d'échange VARP, la petite GTPase RAB21, un moteur moléculaire kinésine 1 (KIF5A) - un partenaire de VARP-, un facteur d'accrochage GOLGA4 (*Golgin*

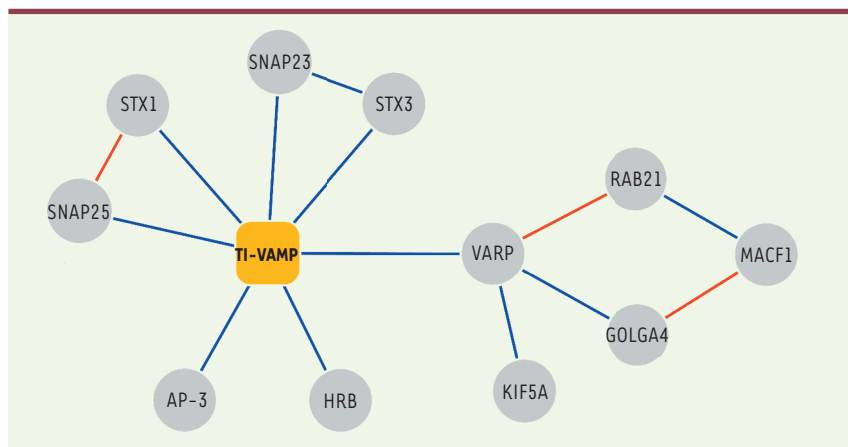


Figure 1. Réseau d'interactions moléculaires à partir de TI-VAMP. Les interactions identifiées dans nos cribles double-hybride et/ou par des approches biochimiques sont indiquées en bleu. Les autres interactions décrites dans la littérature apparaissent en rouge (la figure a été préparée grâce au logiciel Cytoscape®).



subfamily A member) – un autre partenaire de Varp-, et la spectraplakine MACF1 (*microtubule-actin crosslinking factor 1*) – un effecteur de RAB21 – liant l'actine et les microtubules [10]. L'identification de ce réseau moléculaire trouve son origine dans les cribles des partenaires de TI-VAMP, de ceux de VARP et enfin de RAB21. Nous sommes ainsi allés jusqu'à 3 partenaires connectés en série, en aval de notre protéine d'intérêt grâce aux différents cribles en double hybride (TI-VAMP→VARP→RAB21→MACF1) (Figure 1). Évidemment, chacune des interactions a été validée par une approche biochimique et une analyse fonctionnelle. Nous montrons ainsi que ce réseau permet de transporter les vésicules TI-VAMP à la périphérie cellulaire le long des microtubules, assurant ainsi

la mise en place du phénomène d'exocytose. Ce travail démontre des liens biochimiques et fonctionnels forts entre des molécules centrales pour le trafic vésiculaire et offre une vue intégrée d'un processus de transport essentiel à la vie de cellules aussi diverses que des cellules épithéliales et neuronales. ♦

Molecular network for the transport of intracellular vesicles from cell center to periphery

LIENS D'INTÉRÊT

É. Formstecher déclare avoir des liens durables avec l'entreprise Hybrigenics.

A. Burgo et T. Galli déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Galli T, Martinez Arca S, Paumet F. Mécanisme de la fusion membranaire. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 1113-9.
- Alcover A, Thoulouze Ml, Galli T. Recyclage polarisé et formation de la synapse immunitaire dans les lymphocytes T. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 9-10.
- Proux-Gillardeaux V, Galli T. Rôle du trafic membranaire dans la migration cellulaire : une nouvelle application pour les neurotoxines clostridiales ? *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 789-90.
- Zylbersztein K, Galli T. Le trafic membranaire, un nouvel acteur du guidage axonal. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 267-9.
- Tareste D. Énergie libérée par la machinerie de fusion SNAREpin. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 142-3.
- Martinez-Arca S, Rudge R, Vacca M, et al. A dual mechanism controlling the localization and function of exocytic v-SNAREs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 9011-6.
- Chaineau M, Danglot L, Proux-Gillardeaux V, Galli T. Role of HRB in clathrin-dependent endocytosis. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 34365-73.
- Burgo A, Sotirakis E, Simmler MC, et al. Role of Varp, a Rab21 exchange factor and TI-VAMP/VAMP7 partner, in neurite growth. *EMBO Rep* 2009 ; 10 : 1117-24.
- Schäfer IB, Hesketh GG, Bright NA, et al. The binding of Varp to VAMP7 traps VAMP7 in a closed, fusogenically inactive conformation. *Nat Struct Mol Biol* 2012 ; 28 octobre (online). doi : 10.1038/nsmb.2414.
- Burgo A, Proux-Gillardeaux V, Sotirakis E, et al. A Molecular network for the transport of the TI-VAMP/VAMP7 vesicles from cell center to periphery. *Dev Cell* 2012 ; 23 : 166-80.

NOUVELLE

Rôle clé de la petite GTPase Rab5

De la biogenèse des endosomes au métabolisme du foie

Jérôme Gilleron, Anja Zeigerer, Giovanni Marsico, Thierry Galvez, Marino Zerial

Max Planck Institute of molecular cell biology and genetics, Pfotenhauerstrasse 108, 01307 Dresde, Allemagne. gilleron@mpi-cbg.de

> La cellule peut être considérée comme un système intégré de modules moléculaires contrôlant des fonctions telles que l'expression du génome, le trafic membranaire ou la signalisation cellulaire. Chaque cellule participe également de manière collective à la mise en place et au maintien du tissu auquel elle appartient. Cependant, à ce jour, prédire les conséquences d'une perturbation définie à l'échelle moléculaire sur les fonctions de l'organe et de l'organisme demeure un défi scientifique et médical qui, s'il était résolu, permettrait de mieux comprendre les mécanismes de pathogenèse et d'imaginer de nouvelles solutions thérapeutiques.

Rab5 : une protéine marqueur des endosomes précoces

À l'interface de plusieurs modules cellulaires, l'endocytose joue un rôle central dans le maintien de l'homéostasie cellulaire en contrôlant la composition de la membrane plasmique, l'internalisation de nutriments et la régulation de la signalisation cellulaire. Au cours de ce processus, des molécules de la surface cellulaire sont internalisées par invagination de la membrane plasmique avant de converger vers les endosomes précoces. Ces derniers ont un rôle clé, car ils constituent le centre de tri principal entre la voie de recyclage et la voie de dégradation (mettant en jeu les endosomes tardifs et les

lysosomes) [1]. Il est donc essentiel de déterminer les mécanismes moléculaires contrôlant l'assemblage, le nombre et la taille de ces organites (c'est-à-dire leur biogenèse), et de comprendre comment ces paramètres influencent l'homéostasie cellulaire et tissulaire. Au niveau moléculaire, les endosomes précoces sont définis par la présence de la petite GTPase Rab5 qui, par l'intermédiaire des effecteurs qu'elle recrute à la surface des endosomes, contrôle la fusion, la motilité et la maturation de ces organites [2]. Si la machinerie moléculaire associée à Rab5 a été suffisamment définie [3] pour permettre sa reconstitution à la surface d'endosomes de synthèse [4], son rôle