

Le rôle du complexe protéique Hsp70/MIM44 dans l'importation des protéines mitochondriales

En utilisant principalement la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme organisme modèle, il a été clairement démontré que la mitochondrie possède deux systèmes de translocation pour assurer le transport des protéines du cytoplasme jusqu'à l'espace matriciel : un premier, localisé dans la membrane externe et, un second, localisé dans la membrane interne [1]. Il a été proposé par différentes équipes que ces deux systèmes coopéreraient mais qu'ils pouvaient être fonctionnellement et physiquement séparés. La machinerie de translocation de la membrane externe est constituée par un complexe multiprotéique impliquant au moins six polypeptides différents [2]. Dans le cas du système de translocation associé à la membrane interne, trois protéines ont été jusqu'à présent impliquées : MIM17, MIM23 et MIM44. Les protéines MIM17 et MIM23 sont intégrées à la membrane interne et sont essentielles à l'importation des protéines dans l'espace matriciel. La protéine MIM44, quant à elle, est associée à la membrane interne et localisée sur le côté interne de sa surface. Il a été aussi clairement démontré que la protéine chaperon mitochondriale Hsp70(mt-Hsp70) jouait un rôle majeur dans le mécanisme de l'importation mitochondriale [3]. Les préprotéines, en effet, sont arrêtées dans leur progression à travers les deux membranes mitochondriales par une interaction avec la protéine Hsp70. Cette interaction nécessite de l'ATP. L'hypothèse que l'interaction entre la protéine Hsp70 mitochondriale et le polypeptide non structuré en transit serait un moyen d'assurer énergétiquement le mouvement vec-

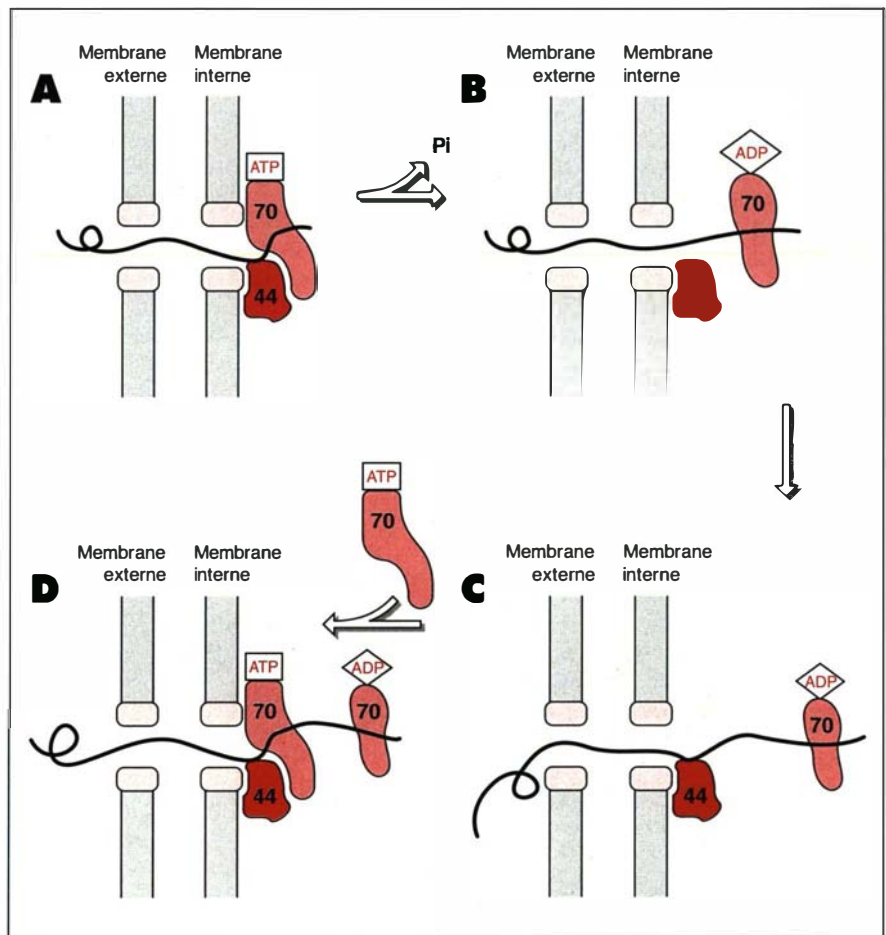


Figure 1. **Modèle de la coopération entre Hsp70 et MIM44 pour la translocation des protéines à travers la membrane interne de la mitochondrie.** La progression à travers les membranes externe et interne de la mitochondrie se fait au cours de cycles d'association et de dissociation entre la protéine Hsp70 mitochondriale et la protéine MIM44 liée à la face interne de la membrane. L'énergie est fournie par l'hydrolyse de l'ATP. A. La protéine MIM44 et la protéine Hsp70 forment un complexe en présence d'ATP. B, C. L'hydrolyse de l'ATP dissocie ce complexe et un segment de la protéine pénètre dans la mitochondrie. D. Une nouvelle molécule d'HSP70 se lie à la protéine MIM44 en présence d'ATP.

■■■ BRÈVES ■■■

toriel des préprotéines du cytoplasme vers l'espace matriciel mitochondrial avait été alors proposée. Il vient d'être démontré que la protéine MIM44 joue, en fait, un rôle central dans le mécanisme de l'importation des préprotéines, en coopérant avec la protéine Hsp70 mitochondriale [4] : (1) la protéine MIM44 et la protéine Hsp70 forment un complexe en présence d'ATP ; (2) l'hydrolyse de l'ATP dissocie ce complexe ; (3) les deux protéines interagissent avec le polypeptide en transit (figure 1). L'utilisation de protéines Hsp70 mutées, qui occasionnent des défauts conditionnels lors de l'importation des préprotéines, a permis de mettre en évidence une forte réduction de la formation du complexe protéique Hsp70/MIM44, dans les conditions non permissives [4]. Les résultats de ce travail suggèrent que c'est la protéine MIM44 qui, au sein de ce complexe, interagit la première avec le polypeptide émergeant du canal de translocation. Elle le transfère ensuite à la protéine Hsp70, avec hydrolyse concomitante d'ATP et dissociation du complexe MIM44/Hsp70. La chaîne polypeptidique de la préprotéine va alors pouvoir être soumise à un nouveau cycle de fixation à ce complexe protéique et pénétrer ainsi plus avant dans la mitochondrie (figure 1). Ce modèle de cheminement proposé dans cet article permet d'intégrer les aspects mécaniques du transport, tels que le non-repliement et l'exigence des chaperons, et les aspects énergétiques de la force motrice vectorielle qui permettent le mouvement du polypeptide importé à travers les deux membranes mitochondriales.

B.G.

1. Pfanner N, Rassow J, van der K el I, Neupert W. A dynamic model of the mitochondrial protein import machinery. *Cell* 1992 ; 68 : 999-1002.
2. Kiebler M, Becker K, Pfanner N, Neupert W. *J. Membr Biol* 1993 ; 135 : 191-207.
3. Stuart RA, Cyr DM, Craig EA, Neupert W. Mitochondrial molecular chaperones : their role in protein translocation. *Trends Biochem Sci* 1994 ; 19 : 87-92.
4. Schneider HS, Berthold J, Bauer MF, Dietmeier K, Guiard B, Brunner M, Neupert W. Mitochondrial Hsp70/MIM44 complex facilitates protein import. *Nature* 1994 ; 371 : 768-74.

m/s n° 2, vol. 11, février 95

■■■ VIH dans les spermatozoïdes

et transfert dans les ovocytes. La présence du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) dans les spermatozoïdes est restée longtemps un sujet de controverse. L'équipe de Baccio Baccetti (Sienne, Italie) vient de publier une étude très complète sur le sujet [1] qui montre que le virus est capable de se lier et de pénétrer dans les spermatozoïdes mûrs de sujets non atteints, qu'il est présent dans les spermatozoïdes des malades du SIDA et que ces spermatozoïdes peuvent féconder des ovocytes normaux et y transférer des particules virales. On a recueilli le sperme de trente malades du SIDA, virémiques et ayant un nombre de lymphocytes T < 400/mm³. Quinze des donneurs étaient azoospermiques, mais les quinze autres avaient des spermatozoïdes parfaitement mobiles ; parmi ceux-ci, huit avaient des particules VIH dans leurs spermatozoïdes. L'analyse au microscope électronique de ces spermatozoïdes, de spermatozoïdes de sujets sains incubés avec le VIH ou avec des cellules T infectées (C8166) et de ces cellules infectées a montré dans tous les cas les mêmes particules d'allure rétrovirale ; il s'agissait de virions complets, dans le cytoplasme des spermatozoïdes ou fixés à la surface des cellules, comportant une enveloppe externe entourant un nucléoïde opaque. Moins nombreuses étaient les particules ne comprenant que l'enveloppe. Enfin, de nombreuses particules denses, cylindriques, dépourvues d'enveloppe, étaient présentes dans le cytoplasme, liant de façon spécifique l'anticorps anti-p24. Aucune de ces particules n'a jamais été observée sur les spermatozoïdes de sujets sains ; en

revanche, elles étaient présentes dans une plus grande proportion de spermatozoïdes sains incubés avec le VIH (30 %), que dans les spermatozoïdes des malades (10 %). Après purification des spermatozoïdes mobiles des sujets infectés, ceux-ci furent incubés avec des ovocytes mûrs ; les réactions acrosomiales furent normales ainsi que la pénétration de la zone pellucide. Les œufs fécondés ayant atteint le stade de blastomère à huit cellules furent fixés et observés au microscope électronique : ils contenaient les mêmes particules virales que les spermatozoïdes. Comment les virions ont-ils pénétré dans les spermatozoïdes ? Les virions complets et les enveloppes, sans doute par endocytose suivie de la fusion des membranes virale et endosomique, les particules sans enveloppe, sans doute par fusion avec la membrane plasmique. La présence de récepteurs CD4 sur la membrane du spermatozoïde reste controversée et une liaison alternative pourrait se faire sur un galactosylcéramide, présent sur les spermatozoïdes comme sur les cellules épithéliales coliques [2]. Quel que soit le mode d'association du VIH au spermatozoïde, celui-ci peut lui servir de véhicule pour infecter les cellules muqueuses ou l'ovocyte. De nombreuses questions restent posées : le VIH se réplique-t-il dans le sperme, le spermatozoïde acquiert-il le VIH pendant la spermatogenèse ou au cours du transit épидидymaire, qu'advient-il des particules virales transférées aux ovocytes ?

[1. Baccetti B, *et al.* *J Cell Biol* 1994 ; 127 : 903-14.][2. Fantini J, Yahi N. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 891-900.]

CULTURES DES CELLULES ANIMALES ET HUMAINES EN PHARMACOLOGIE. APPLICATIONS

20 Mars - 31 Mars 1995

- Cycle d'études organisé par le laboratoire de Pharmacologie Cellulaire de l'École Pratique des Hautes Études.
- L'objectif de cette formation est de faire le point sur les bases et les progrès technologiques apportés à la culture de différents modèles cellulaires *in vitro*, ceci en relation avec le développement de méthodologies alternatives à l'expérimentation animale.
- Ce stage rentre dans le cadre de la formation permanente et s'adresse aux chercheurs et techniciens scientifiques du secteur privé et public.

Responsable scientifique : Madame Monique Adolphe - Laboratoire de Pharmacologie cellulaire de l'École Pratique des Hautes Études - 15, rue de l'École-de-Médecine - 75006 Paris - Tél. : 43.29.28.69. Fax : 44.07.10.52.