



# Transport et triage membranaire dans les cellules eucaryotes

**Pierre Cosson**  
**François Letourneur**

P. Cosson : Centre médical universitaire, Département de morphologie, 1, rue Michel-Servet, CH-1211 Genève 4, Suisse.  
F. Letourneur : Institut de biologie et de chimie des protéines, IBCP/UPR412 Cnrs 7, passage du Vercors, 69367 Lyon Cedex 07, France.

► La cellule eucaryote peut être comparée à une usine qui produit en permanence les protéines nécessaires à sa survie, ou destinées à être sécrétées dans le milieu extracellulaire. La cellule doit également assembler, trier, et transporter chaque élément jusqu'à sa destination finale. Gestion de stock, étiquetage, flux tendus, contrôle de qualité n'ont pas de secret pour elle. Deux voies principales de transport des protéines membranaires, la voie d'exocytose et la voie d'endocytose, ont fait l'objet d'une particulière attention. Par ailleurs, de nombreuses maladies humaines ont pour origine des défauts de transport et de compartimentation intracellulaire. ◀

**L**e transport intracellulaire est divisé en deux voies majeures ayant des directions opposées. La voie de l'exocytose est destinée à la sécrétion des composants cellulaires [1], alors que la voie d'endocytose constitue la voie d'entrée des molécules depuis l'extérieur de la cellule [2]. Plus précisément, dans la voie d'exocytose, les protéines destinées à être sécrétées sont d'abord synthétisées par des ribosomes liés au réticulum endoplasmique (RE), compartiment membranaire qui entoure le noyau de la cellule et forme un fin réseau dans le cytoplasme. Après leur translocation dans le RE, certaines protéines se retrouvent en solution dans sa lumière, alors que d'autres restent ancrées à la membrane *via* leur domaine transmembranaire. Les protéines membranaires sont donc composées d'au moins un domaine luminal, un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique. Ces protéines traversent successivement les différents saccules de l'appareil de Golgi avant d'atteindre la surface cellulaire (*figure 1*). Dans chacun des compartiments traversés, elles subissent un certain nombre de modifications dites « post-traductionnelles »,

en particulier des glycosylations (fixation, puis modification de groupements glucidiques). La compartimentation précise de l'appareil sécrétoire permet une maturation progressive des protéines nouvellement synthétisées au fur et à mesure qu'elles traversent le réticulum endoplasmique, puis les divers compartiments (*cis*, *medial* et *trans*) de l'appareil de Golgi. Cette maturation progressive s'accompagne d'un « contrôle de qualité » permanent qui permet la rétention sélective, dans l'appareil de sécrétion, des protéines dont la conformation ou la maturation est incorrecte ou inachevée. L'existence d'une voie de transport à contre-courant, dite voie de transport rétrograde, assurant le transport depuis l'appareil de Golgi jusqu'au RE, a également été mise en évidence.

La voie d'endocytose permet aux molécules présentes en solution dans le milieu extracellulaire, d'entrer dans la cellule et de passer ensuite par les divers compartiments de cette voie de transport: endosomes précoces puis tardifs, et enfin lysosomes. C'est dans les lysosomes, qui constituent un compartiment très acide et riche en enzymes protéolytiques, qu'a lieu la dégradation des molécules endocyto-

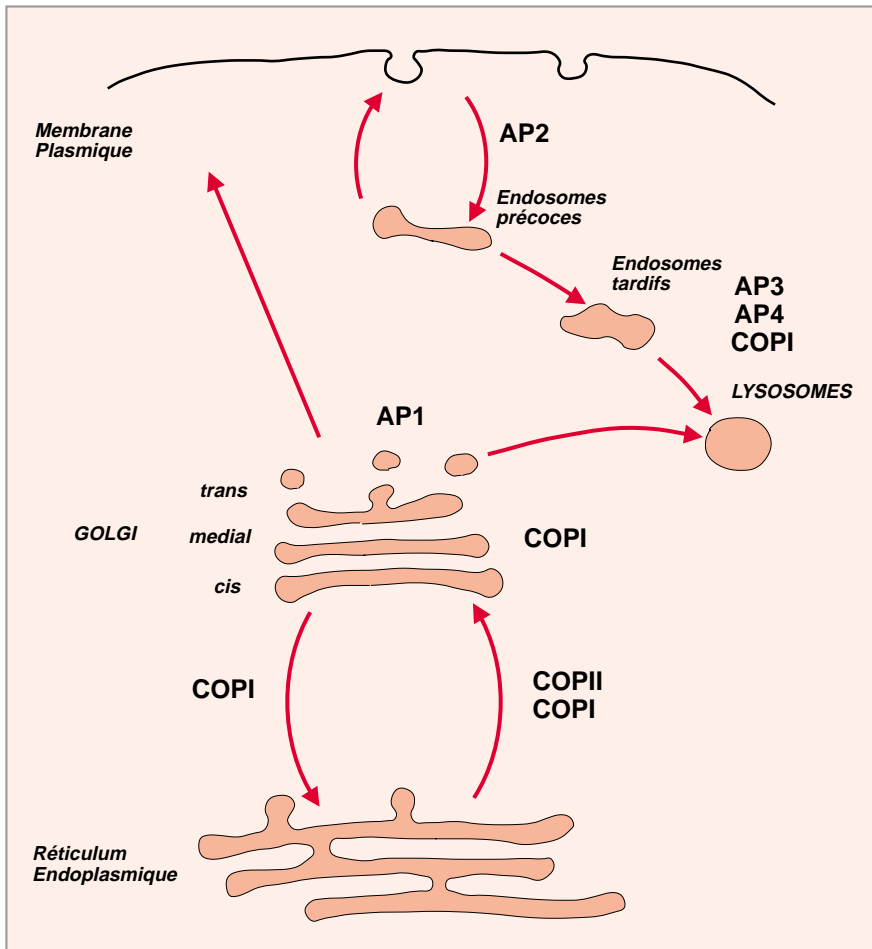


Figure 1. **Rôle des manteaux dans les voies d'exocytose et d'endocytose.** Les vésicules recouvertes du manteau COP II sont impliquées uniquement dans le transport entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. À l'inverse, les vésicules COP I participeraient à diverses étapes de transport à partir de différents compartiments. Les complexes adaptateurs AP1 et AP2 sont associés à la clathrine et jouent un rôle dans le transport à partir du trans-Golgi (AP1) ou de la membrane plasmique (AP2). Les complexes AP3 et AP4, plus récemment identifiés, sont localisés sur les endosomes et le réseau transgolgien. Les rôles indiqués pour chaque manteau sont parfois encore l'objet de controverses.

sées. Dans la voie d'endocytose comme dans la voie d'exocytose, il existe un transport à contre courant, qui permet le recyclage vers la membrane d'un certain nombre de récepteurs membranaires internalisés, en particulier à partir des endosomes précoces (*m/s* 1992, n° 3, p. 292). Comment les protéines sont-elles transportées d'un compartiment à un autre ? Les voies d'exocytose et d'endocytose utilisent toutes deux des vésicules comme intermédiaires de transport [3, 4]. Ces vésicules sont formées par bourgeonnement de la membrane au niveau d'un comparti-

ment dit « donneur » (par exemple le RE), puis fusionnent avec un autre compartiment dit « accepteur » (par exemple le cis-Golgi). Au cours de ce processus, les vésicules emportent avec elles un certain volume de fluide, ainsi que des composants de la membrane (lipides et protéines membranaires) du compartiment donneur. Il s'agit d'un processus très dynamique : on estime que l'équivalent de la surface de la membrane plasmique d'un fibroblaste est soumis à une endocytose toutes les heures. Afin de maintenir leur composition spécifique en dépit de ces échanges

incessants, les compartiments membranaires de la voie d'endocytose et d'exocytose doivent donc assurer un triage efficace des molécules transportées. Chaque protéine doit atteindre le compartiment où elle est nécessaire et y demeurer ou, si sa fonction l'exige, effectuer des mouvements de va-et-vient entre plusieurs compartiments.

De toute évidence, c'est lors de la formation des vésicules de transport que doit s'effectuer le triage membranaire. Les composants destinés à être exportés doivent être incorporés dans la vésicule de transport, tandis que ceux destinés à être retenus doivent en être exclus. C'est la répétition de cet événement simple de triage, à chaque étape de transport, qui assure l'établissement et le maintien de la composition de chaque compartiment cellulaire.

### Adresses et triage intracellulaires

#### Adresses intracellulaires

La notion de signaux de triage constitue l'un des concepts fondamentaux relatifs au trafic intracellulaire, et a progressivement émergé dans les années 1970 [5]. En effet, chaque protéine n'est pas reconnue dans la cellule dans sa totalité, mais uniquement grâce à de petites séquences spécifiques servant en quelque sorte d'adresses moléculaires. Ces signaux sont composés d'une séquence linéaire de quelques acides aminés et peuvent souvent être totalement distincts du reste de la protéine qui assure sa fonction spécifique (par exemple une activité enzymatique). Ainsi, il suffit de changer les signaux de triage d'une protéine pour modifier son transport intracellulaire et donc sa destination finale, sans pour autant affecter sa structure et sa fonction. L'utilisation de signaux de triage n'est d'ailleurs pas réservée au système membranaire de sécrétion et d'endocytose. Des signaux de triage assurent également la localisation de diverses protéines dans le noyau, dans les mitochondries, etc. Dans le cas des protéines membranaires, ces signaux peuvent être localisés dans leur domaine extracellulaire, transmembranaire, ou cytoplasmique. Citons en particulier l'exemple le

mieux caractérisé du motif de triage KDEL, localisé dans les domaines luminaux, et responsable de la rétention des protéines qui le portent dans le RE ([6] et *m/s* 1993, n° 11, p. 1249). Des motifs de triage existent également dans les domaines transmembranaires de nombreuses protéines. Nous nous limiterons ici aux adresses cytoplasmiques, qui sont parmi les signaux de triage les plus simples et les mieux caractérisés (Tableau I).

Deux types de signaux d'endocytose ont été décrits en détail [7, 8]. Ce sont les signaux dileucine (LL) et les signaux tyrosine YXXΦ et NPXY (Y pour tyrosine, X pour n'importe quel acide aminé, Φ pour un résidu à large chaîne latérale hydrophobe, N pour l'asparagine et P pour la proline). Ces signaux se trouvent dans les domaines cytoplasmiques de nombreux récepteurs présents à la surface

de la cellule, et ils assurent l'endocytose des protéines qui les portent. Ainsi, le domaine cytoplasmique du récepteur de la transferrine présente un signal tyrosine essentiel à son endocytose. De la même façon, un signal dileucine est nécessaire à celle du marqueur membranaire CD4, exprimé par une sous-population de lymphocytes.

En ce qui concerne la voie de sécrétion, l'une des adresses les mieux étudiées est un signal de localisation dans le réticulum endoplasmique. Ce motif, appelé dilysine [9] est constitué de deux résidus lysine (K) situés en position -3/-4 ou -3/-5 de l'extrémité C-terminale du domaine cytoplasmique (KKXX, ou KXKXX). Des données biochimiques ont établi que ce signal assure la localisation dans le RE en induisant un recyclage continu d'une protéine, du compartiment pré-Golgien vers le RE. Les protéines qui

portent ces motifs peuvent en effet s'échapper du RE, mais sont recyclées vers le réticulum endoplasmique lorsqu'elles atteignent le compartiment suivant (cis-Golgi).

Ainsi, dans la voie d'endocytose comme dans la voie d'exocytose, des motifs cytoplasmiques de triage simples assurent la localisation spécifique de chaque protéine en contrôlant son incorporation dans les vésicules de transport appropriées.

### La question du transport par défaut

Qu'advient-il d'une protéine qui ne porte aucun signal de triage? On parle alors de transport par défaut, et il a longtemps été postulé que le transport d'une protéine par défaut l'amenait jusqu'à la membrane plasmique, dans laquelle elle demeurerait [10]. Cette idée repose largement sur

Tableau I  
EXEMPLES DE SIGNAUX D'ADRESSAGE LOCALISÉS  
DANS LES DOMAINES CYTOPLASMIQUES DE PROTÉINES MEMBRANAIRES

Nom du signal	Séquence	Protéine triée	Compartiment cible
Tyrosine type YXXΦ	LSYTRF	récepteur de la transferrine	Endosomes
Tyrosine type NPXY	FDNPVY	récepteur aux LDL	Endosomes
Dilysine type KKFF	KRFY	VIP36	Endosomes
Ubiquitination	DAKSS	facteur de conjugaison alpha ( <i>S. cerevisiae</i> )	Endosomes
Dileucine	DKQTLL	CD3-γ	Lysosomes
Tyrosine type YXXΦ	YQRL	TGN38	Réseau transgolgien
Groupement acide	SDSEEDE	Furine	Réseau transgolgien
Tyrosine type YXXΦ	LYSGL	CD3-ε	Réticulum endoplasmique
Dilysine	TFKKTN	Wbp1p	Réticulum endoplasmique
Diacide D/EXE/D	DIE	VSV-G	Sortie du réticulum endoplasmique
Diphénylalanine	RFFEVE	p24	Sortie du réticulum endoplasmique

notre incapacité à trouver un signal commun à l'ensemble des protéines qui gagnent la surface de la cellule. Mais comment s'assurer qu'une protéine ne contient vraiment aucun signal? Depuis quelques années, ce dogme est remis en question par la mise en évidence de signaux de triage qui accélèrent le transport de certaines protéines depuis le RE jusqu'au Golgi. L'un de ces signaux est localisé sur les domaines cytoplasmiques de nombreuses protéines membranaires. Ce motif contient les acides aminés Asp et Glu, séparés par un résidu de nature variable (D/EXE/D) [11]. Cependant, toutes les protéines quittant le RE ne disposent pas pour autant de ce nouveau signal de transport, et ces expériences reposent donc la question délicate de l'existence du transport par défaut. Cette controverse ne correspond pas seulement à une querelle d'experts, mais représente également une motivation puissante pour la découverte de nouveaux signaux de triage.

### Triage et contrôle de qualité

Le concept de « contrôle de qualité » dans la voie de sécrétion qualifie les mécanismes de triage qui permettent d'assurer que seules des protéines correctement assemblées et repliées sont exportées hors de la cellule. Les premiers exemples de mise en évidence d'un contrôle de qualité ont concerné surtout la reconnaissance de protéines mal repliées au niveau de la lumière du réticulum endoplasmique. La reconnaissance de ces protéines par des protéines chaperons luminales, telles que BiP, permet d'assurer leur rétention jusqu'à ce qu'elles soient correctement repliées [12]. Les motifs cytoplasmiques de triage participent également au contrôle de qualité dans la cellule. En effet, dans le cas de récepteurs à plusieurs sous-unités, ces signaux permettent de retenir les récepteurs incomplets dans le RE, alors que les complexes entièrement assemblés peuvent quitter ce compartiment. De tels signaux de localisation dans le RE, ou de transport dans les lysosomes sont présents dans les sous-unités de récepteurs oligomériques et ils permettent la rétention intracellulaire des chaînes non assemblées. Comment se produit le masquage de

ces signaux cytoplasmiques de triage? Dans le cas du récepteur de haute affinité pour les IgE (FcεRI), il a été montré que c'est la juxtaposition des domaines cytoplasmiques apportés par les autres chaînes du complexe qui induit le masquage du motif de façon purement stérique [13].

Ainsi l'arrangement des signaux de triage cytoplasmique et leur juxtaposition lors de l'assemblage des récepteurs membranaires permet un contrôle de l'état d'assemblage des récepteurs et participe au contrôle de qualité de récepteurs nouvellement synthétisés.

### Une complexité croissante

De nouveaux signaux cytoplasmiques de triage intracellulaire sont découverts régulièrement. Certains d'entre eux sont indiqués dans le *Tableau 1*, mais cette liste est loin d'être exhaustive. Il faudrait y ajouter les nombreux motifs de triage situés dans les domaines transmembranaires et luminaux. Ce catalogue des motifs d'adressage vient conforter le dogme central du triage membranaire, selon lequel chaque localisation correspond à un signal particulier. Cette hypothèse simplificatrice est cependant bien loin de la réalité. En fait, très peu de protéines portent un seul et unique signal de localisation intracellulaire. Ainsi, le domaine cytoplasmique de la chaîne CD3-δ du récepteur pour l'antigène des cellules T (récepteur T) contient au moins un domaine de localisation dans le RE de type KKXX et deux signaux dileucine et tyrosine d'adressage lysosomal [14]. Tous ces signaux sont masqués lors de l'assemblage du récepteur (illustrant ainsi un bon contrôle de qualité). Les six autres sous-unités du récepteur T sont toutes aussi riches en signaux de triage. La redondance de ces signaux au sein d'un même récepteur est certainement la condition nécessaire pour obtenir un triage intracellulaire très précis.

Un second facteur vient s'ajouter à cette complexité, puisque certains signaux en apparence très similaires semblent accomplir des fonctions différentes. Par exemple certains motifs YxxΦ provoquent une endocytose de la surface vers les endosomes, suivie d'un recyclage vers la surface (récep-

teur de la transferrine), alors que d'autres motifs induisent une endocytose depuis la surface vers les endosomes, puis vers l'appareil de Golgi (TGN38), et d'autres enfin une rétention dans le réticulum endoplasmique (chaîne CD3-ε du récepteur T).

Les principes du triage apparaissent donc de plus en plus complexes avec le développement des méthodes d'analyse. Nos connaissances actuelles montrent que les signaux de triage sont nombreux, et que leur fonction est contrôlée. Enfin, des signaux apparemment similaires peuvent servir des fonctions distinctes.

## Le rôle des manteaux cytoplasmiques

### Manteaux clathrine

Comme nous l'avons vu, le triage des protéines transportées s'effectue lors de l'étape de formation des vésicules de transport. Cette sélection est assurée par l'interaction directe entre les signaux d'adressage et le « manteau » de protéines cytoplasmiques qui polymérise autour des vésicules en formation.

On distingue trois grandes familles de protéines de manteau : les complexes clathrine-adaptateurs, les complexes COP I (*coat protein 1*), et les complexes COP II.

Le complexe clathrine, impliqué en particulier dans la formation de vésicules d'endocytose au niveau de la membrane plasmique, a initialement été mis en évidence sur le plan morphologique par microscopie électronique : la formation de vésicules d'endocytose s'accompagne de la polymérisation d'un matériel dense sur la face interne de la membrane, qui disparaît rapidement une fois la vésicule formée [15]. La structure relativement ordonnée de ce matériel permet de l'identifier aisément en microscopie électronique. Il est vite apparu que ce type de manteau cytoplasmique accompagne la formation de vésicules de transport dans divers sites de la cellule, en particulier au niveau de la membrane plasmique (vésicules d'endocytose) et de l'appareil de Golgi (vésicules de transport vers les compartiments prélysosomiaux) [16].

Le rôle du manteau clathrine est apparemment double. Sa polymérisation provoque une déformation locale

de la membrane qui permet la formation d'une vésicule de transport. Il interagit également avec les domaines cytoplasmiques de certaines protéines membranaires et assure leur concentration dans la vésicule en formation (figure 2). Par exemple, l'interaction entre le manteau clathrine des vésicules d'endocytose et les motifs  $Yxx\Phi$  assure l'endocytose efficace des protéines portant ces motifs.

Les vésicules clathrine peuvent être purifiées et leurs composants analysés [17]. On y trouve évidemment la clathrine, assemblée en une structure polyédrique en forme de cage, et des complexes adaptateurs (AP) qui servent d'agent de liaison entre les protéines triées et la clathrine. Il existe quatre complexes AP (AP1 à AP4), impliqués spécifiquement dans des voies de transport distinctes ou parallèles. AP1 et AP3 interviennent dans

le transport à partir de l'appareil de Golgi vers les compartiments endocytiques et les lysosomes, alors qu'AP2 est impliqué dans l'endocytose au niveau de la membrane plasmique. La fonction du complexe AP4 n'est pas encore connue [18, 19]. Ces complexes adaptateurs sont tous composés de quatre sous-unités : deux grosses (100 kD,  $\alpha$  et  $\beta 2$  pour AP2), une moyenne (50 kD,  $\mu 2$  pour AP2) et une petite (17 kD,  $\sigma 2$  pour AP2), et chaque sous-unité présente une fonction propre. Ainsi, les chaînes  $\beta$  des complexes AP1 et AP2 interagissent avec la clathrine [20] alors que les chaînes  $\mu$  reconnaissent les signaux tyrosine (figure 2) [21].

### Manteaux COP I

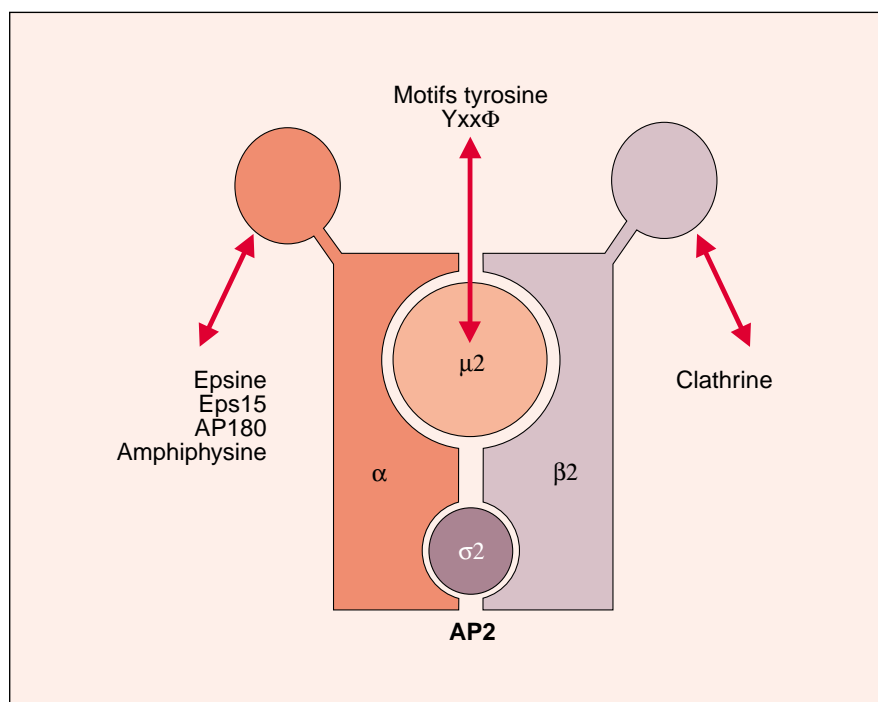
Deux autres types de manteaux cytoplasmiques ont été mis en évidence par la suite, et baptisés chronologi-

quement COP I et COP II. Ces deux types de manteaux ont une composition distincte et fonctionnent au cours d'étapes différentes du transport membranaire. La famille COP I est impliquée dans plusieurs de ces étapes, et son rôle est particulièrement caractérisé dans le transport rétrograde entre l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique [22, 23]. Lors de la formation de ces vésicules de transport rétrograde, le manteau COP I interagit directement avec les motifs dilysine de localisation dans le réticulum. C'est cette interaction qui assure le recyclage continu des protéines portant ces motifs vers le réticulum endoplasmique. Le rôle de COP I est apparemment plus varié : il semble qu'un manteau COP I assure le transport entre les différents saccules de l'appareil de Golgi et participerait également au transport antérograde entre le RE et l'appareil de Golgi [24]. Toutes les sous-unités du manteau COP I ont été identifiées et certaines (les sous-unités  $\delta$  et  $\zeta$ ) ressemblent à des sous-unités du manteau clathrine ( $\mu$  et  $\sigma$ ). Un complexe apparenté à COP I mais de composition distincte est également impliqué dans le transport endocytique [25, 26].

### Manteaux COP II

La famille COP II participe essentiellement au transport antérograde depuis le réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi [27]. Il existe au moins trois manteaux COP II composés de différentes isoformes de Sec24p. Ces manteaux recouvrent les vésicules de transport antérograde émanant du réticulum endoplasmique. Des motifs cytoplasmiques pouvant se lier au manteau COP II ont été récemment mis en évidence. Ces signaux permettraient d'assurer le transport efficace de certaines protéines du RE vers l'appareil de Golgi. Chaque manteau COP II pourrait reconnaître des signaux de triage différents et assurer ainsi le transport d'une population particulière de protéines [28-30].

Une fois formées, les vésicules doivent être transportées spécifiquement jusqu'aux compartiments accepteurs où différentes étapes de reconnaissance et de fusion membranaire peuvent se dérouler. Diverses approches ont permis l'identification des acteurs



**Figure 2. Fonction des différentes sous-unités du complexe adaptateur AP2.** Les protéines membranaires ayant des motifs d'endocytose dans leur domaine cytoplasmique sont concentrées dans les puits recouverts de clathrine grâce à l'interaction des signaux d'endocytose ( $Yxx\Phi$ ) avec la sous-unité  $\mu 2$  du complexe AP2. Le recrutement de la clathrine est assuré par la chaîne  $\beta 2$ . D'autres protéines interagissant avec la chaîne  $\alpha$  sont impliquées dans le mécanisme d'endocytose. Par exemple l'amphiphysine établit un lien entre AP2 et la dynamine, une GTPase essentielle à la scission des vésicules au niveau de la membrane plasmique. Ces protéines accessoires permettent également de coupler l'endocytose avec le cytosquelette d'actine et la machinerie cellulaire ajustant la composition lipidique de la membrane plasmique.



moléculaires intervenant dans ces mécanismes (GTPase de famille Rab, v- et t-SNAREs, etc.). D'excellents articles de synthèse résumant les avancées spectaculaires concernant ces événements clés du transport intracellulaire [3, 4, 31].

### **Triage intracellulaire et maladies**

L'altération d'un signal de triage dans une protéine peut entraîner son mauvais adressage dans la cellule et conduire éventuellement à diverses maladies graves [32]. Par exemple, certaines formes familiales d'hypercholestérolémie sévère ont pour origine des altérations des signaux d'endocytose. D'autres maladies congénitales, telles que la mucoviscidose, sont liées au fait que certaines protéines n'arrivent pas à bonne destination. Les mécanismes de pathogénicité de certains rétrovirus, comme le VIH, sont également fondés sur une modification du transport intracellulaire de certaines protéines cellulaires au sein des cellules infectées.

#### **Hypercholestérolémie familiale : un défaut de triage**

L'exemple de l'hypercholestérolémie familiale illustre la façon dont l'analyse de maladies génétiques permet de révéler certains modes de fonctionnement intimes de la cellule [33]. Le concept même de l'endocytose des récepteurs membranaires a été formulé en 1974 par Golstein et Brown grâce à l'étude de la régulation du métabolisme du cholestérol. Le taux de cholestérol dans le sang est en grande partie contrôlé par le récepteur pour les lipoprotéines de basse densité (LDL) auxquels le cholestérol plasmatique est complexé. Ce récepteur élimine le cholestérol circulant dans le sang en liant les LDL à la surface cellulaire puis en l'internalisant. Le cholestérol est ensuite dégradé dans les lysosomes et le récepteur est recyclé à la membrane plasmique. Certaines formes d'hypercholestérolémie familiale conduisant à l'athérosclérose et à des attaques cardiaques dès l'âge de 40 ans, ont pour origine la présence de mutations dans le récepteur aux LDL. Les mutations dites de classe 4 empêchent par exemple la concentration du récep-

teur dans les vésicules d'endocytose en formation. Toutes ces mutations ont été localisées sur le récepteur des LDL et ont permis de définir les domaines fonctionnels du récepteur. Pour certains de ces mutants de classe 4, le défaut observé a pour origine la substitution de la tyrosine 807 en cystéine dans le domaine cytoplasmique du récepteur. Par la suite, de nombreuses études réalisées sur d'autres récepteurs ont démontré le rôle essentiel joué par un résidu tyrosine dans les signaux d'internalisation.

#### **Mucoviscidose : excès de zèle des systèmes de contrôle de qualité**

La mucoviscidose s'est révélée l'un des exemples les plus frappants du rôle du triage intracellulaire dans les pathologies humaines. Il s'agit du défaut génétique mortel le plus fréquent (1 naissance sur 4 000 dans la population américaine blanche). Les malades atteints de ce syndrome présentent un défaut dans le contrôle du transport des sels à travers la membrane de certaines cellules. Cette anomalie provoque en particulier des dysfonctionnements au niveau pancréatique et pulmonaire, puisqu'une diminution de la sécrétion de sels et de fluide se traduit par un blocage de la sécrétion exocrine au niveau pancréatique et par un épaississement des sécrétions pulmonaires. Les individus atteints sont particulièrement susceptibles à des infections pulmonaires opportunistes. Des défauts de sécrétion sont également apparents au niveau des glandes sudoripares (certaines sages-femmes prédisaient autrefois des problèmes pulmonaires en léchant le front des enfants, les patients atteints de mucoviscidose ayant une sueur plus salée) et au niveau intestinal. D'intenses recherches ont démontré que ce défaut était dû à la présence d'une mutation sur les deux copies du gène *CFTR*. La protéine correspondante, présente à la surface cellulaire, appartient à la grande famille des transporteurs ABC et assure le transport transmembranaire d'ions chlorure. Elle agit également comme régulateur d'autres canaux membranaires [34], d'où son nom (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*).

La mutation la plus courante chez les individus atteints affecte un résidu phénylalanine (delta F508) dans l'un des domaines cytoplasmiques. Curieusement, cette mutation n'affecte pas la fonction de la protéine, mais provoque sa reconnaissance par les systèmes de triage membranaire et sa rétention dans le réticulum endoplasmique [35]. La mucoviscidose est ainsi la manifestation d'un excès de zèle du système de contrôle de qualité de la cellule.

#### **Pathogénicité du VIH : quand un virus prend les commandes**

CD4 est une glycoprotéine membranaire normalement exprimée à la surface de certaines sous-populations lymphoïdes, et impliquée dans les mécanismes de la réponse immunitaire. CD4 sert également de corécepteur pour le virus responsable du SIDA chez l'homme (VIH) lors de l'étape de reconnaissance des cellules cibles. L'étude de la modulation de l'expression de CD4 par le VIH a révélé comment un virus peut détourner la machinerie cellulaire de la cellule hôte en sa faveur.

Le VIH est susceptible de mettre en place trois stratégies convergentes afin d'empêcher l'expression de CD4 à la surface des cellules infectées (*figure 3*) [36, 37]. La présence de CD4 à la surface cellulaire perturbe en effet l'assemblage des particules virales et diminue fortement l'infectivité du virus produit. Tout d'abord, les protéines Env et Vpu codées par l'ARN de VIH1 contribuent à la rétention des molécules CD4 nouvellement synthétisées et à leur dégradation. L'interaction de la protéine env avec le domaine luminal de CD4 conduit à la séquestration du complexe CD4/env dans le RE. La protéine membranaire virale Vpu s'associe également à CD4 dans le RE, et facilite la translocation de CD4 dans le cytoplasme, en y induisant ainsi sa dégradation.

Une troisième stratégie dépendante de la protéine virale Nef permet d'éliminer les molécules de CD4 déjà présentes à la surface des cellules infectées ([38] et *m/s* 1995, n°11, p. 478), et vient compléter les mécanismes viraux empêchant l'arrivée de molécules de CD4 nouvellement synthéti-

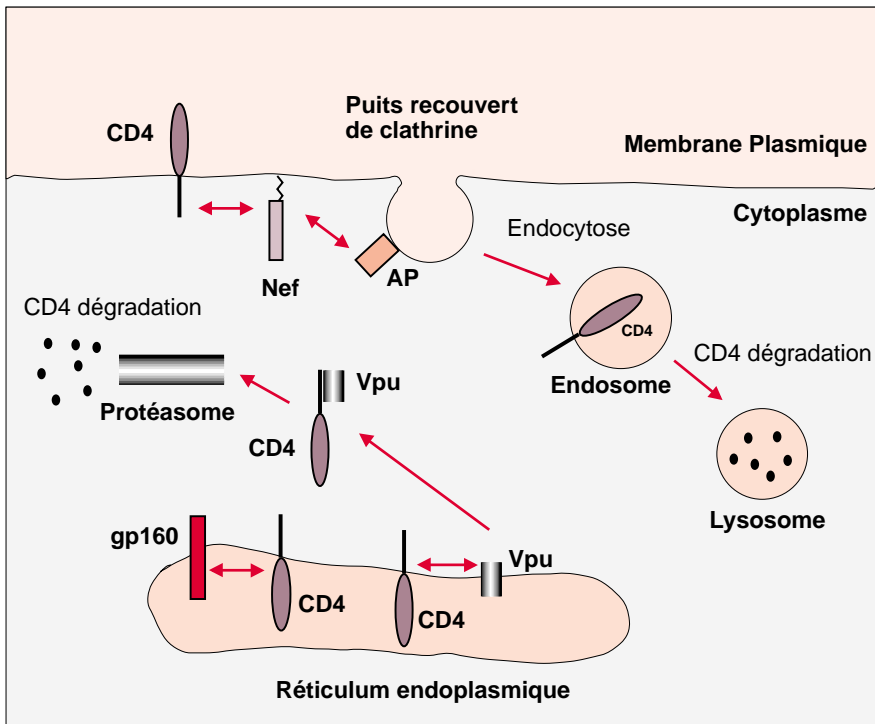


Figure 3. **Stratégies mises en place par le VIH pour réduire l'expression de CD4 à la surface des cellules.** La protéine virale Nef interagit à la fois avec le domaine cytoplasmique de CD4 et les composants des puits recouverts de clathrine. CD4 est donc recruté dans la voie d'endocytose, mais au lieu d'être recyclé à la surface cellulaire, CD4 est transporté vers les lysosomes pour être dégradé. Une autre protéine virale, Vpu, recrute CD4 nouvellement synthétisé dans le réticulum endoplasmique. L'association Vpu/CD4 induit la translocation de CD4 dans le cytoplasme où il sera dégradé par le protéasome. Enfin, la protéine d'enveloppe gp160 est également capable de s'associer avec CD4 et d'induire ainsi sa rétention dans le réticulum endoplasmique.

sées jusqu'à la surface cellulaire. Nef induit effectivement l'augmentation de l'endocytose de CD4 et son adressage vers les lysosomes où il subit sa dégradation. Lors d'une réponse immunitaire normale, l'endocytose de CD4 a lieu grâce à la présence d'un signal dileucine présent sur son domaine cytoplasmique. Après son transport dans les endosomes, CD4 est soit recyclé à la surface cellulaire soit dégradé dans les lysosomes. Dans le cas des cellules infectées, Nef interagit directement avec le signal dileucine de CD4, et recrute efficacement les complexes adaptateurs du manteau clathrine. Le taux d'endocytose de CD4 s'en trouve largement augmenté. Après concentration dans les endosomes, l'association de CD4 avec Nef induit son transport vers les lysosomes, et le voyage de CD4 s'achève alors avec

sa dégradation. Sous l'action du VIH, la cellule perd donc en partie le contrôle des mécanismes de compartimentation des protéines.

### Conclusions et perspectives

En quelques années, les mécanismes fondamentaux du transport intracellulaire des protéines ont été découverts. Ces mécanismes se révèlent très similaires même s'ils interviennent dans des étapes de transport distinctes. Dans tous les cas, la formation de vésicules de transport s'accompagne d'un triage membranaire. Ce triage moléculaire est assuré par les divers manteaux cytoplasmiques interagissant avec des motifs simples, localisés notamment dans les domaines cytoplasmiques des protéines membranaires. De nouveaux signaux et de

nouveaux manteaux sont découverts régulièrement, et les projets de séquençage de différents génomes devraient permettre une exploration encore plus rapide de cette grande diversité. Cependant, beaucoup reste à faire afin de comprendre comment est contrôlé l'ensemble de ces mécanismes ainsi que leur fonctionnement intégré dans une cellule vivante. Le degré d'intrication et de promiscuité entre les différents systèmes de triage est étonnant. Certains manteaux seraient utilisés lors de plusieurs étapes distinctes de transport, tel le manteau COP I qui fonctionnerait lors du transport rétrograde entre le Golgi et le RE, mais également lors du transport antérograde intra-Golgi. De la même façon, des signaux très similaires seraient reconnus par des manteaux distincts. Certains signaux YxxΦ fonctionnent dans la voie d'endocytose (interaction avec les sous-unités μ des manteaux clathrine), d'autres dans la voie d'exocytose, provoquant ainsi un transport rétrograde (interaction avec la sous-unité δ du manteau COP I). Il est maintenant clairement établi que chaque manteau peut reconnaître différents motifs cytoplasmiques et l'inverse est probablement vrai : certains motifs cytoplasmiques fonctionnent vraisemblablement dans plusieurs étapes de transport intracellulaire. Comment ce réseau d'interactions est-il hiérarchisé ? Les mêmes motifs sont-ils reconnus de façon successive par différents manteaux ? Divers motifs peuvent-ils être reconnus par un manteau avec des affinités différentes, et quelles sont les différences de transport qui en résultent ? Ces questions nécessitent une analyse plus globale et plus quantitative de ces interactions, et de leur rôle dans le transport intracellulaire.

Le cadre dans lequel ces questions sont posées évolue également rapidement. Ainsi, le schéma présenté en figure 1 est déjà beaucoup trop simpliste. Il est aujourd'hui acquis qu'un compartiment, dit intermédiaire ou ERGIC, existe entre le RE et l'appareil de Golgi. L'ERGIC jouerait un rôle crucial dans le transport entre ces deux compartiments. Le rôle respectif des deux manteaux COP I et COP II tous deux présents à ce niveau reste à déterminer. De même la structure des compartiments d'endocytose est plus

complexe qu'on ne l'a cru initialement.

La diversité du vivant se manifeste également par la variété des types cellulaires mis en jeu. L'essentiel des études a été mené, pour des raisons de commodité, dans des cellules fibroblastiques en culture, ou chez des organismes unicellulaires comme la levure. Il est cependant clair que chaque type cellulaire doit adapter les mécanismes fondamentaux de transport et de triage pour assurer ses fonctions spécifiques, qu'il s'agisse d'assurer la polarisation d'une cellule épithéliale, une sécrétion régulée dans des cellules sécrétoires, ou des fonctions plus spécialisées comme la phagocytose ou la présentation d'un antigène. Les prochaines investigations des mécanismes du triage membranaire devront très certainement s'attacher à disséquer les voies de triage dans des types cellulaires plus complexes.

Enfin, de nombreuses pathologies ne peuvent être comprises que grâce à une parfaite connaissance des mécanismes de transport intracellulaire. Qu'il s'agisse de maladies génétiques ou d'infections virales, la biologie cellulaire fondamentale se révèle essentielle à la compréhension des dérèglements cellulaires subtils qui sont à l'origine de nombreuses maladies ■

## RÉFÉRENCES

- Rothman JE, Orci L. Molecular dissection of the secretory pathway. *Nature* 1992; 355: 409-15.
- Gruenberg J, Maxfield FR. Membrane transport in the endocytic pathway. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 552-63.
- Rothman JE, Wieland FT. Protein sorting by transport vesicles. *Science* 1996; 272: 227-34.
- Schekman R, Orci L. Coat proteins and vesicle budding. *Science* 1996; 271: 1526-33.
- Blobel G, Dobberstein B. Transfer to proteins across membranes. II. Reconstitution of functional rough microsomes from heterologous components. *J Cell Biol* 1975; 67: 852-62.
- Pelham HR. The retention signal for soluble proteins of the endoplasmic reticulum. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 483-6.
- Marks SM, Ohno H, Kirchhausen T, Bonifacino SJ. Protein sorting by tyrosine based signals: adapting to the Ys and wherefores. *Trends in Cell Biology* 1997; 7: 124-8.
- Sandoval VI, Bakke O. Targeting membrane proteins to endosomes and lysosomes. *Trends in Cell Biology* 1994; 4: 292-7.
- Jackson MR, Nilsson T, Peterson PA. Identification of a consensus motif for retention of transmembrane proteins in the endoplasmic reticulum. *EMBO J* 1990; 9: 3153-62.
- Pfeffer SR, Rothman JE. Biosynthetic protein transport and sorting by the endoplasmic reticulum and Golgi. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 829-52.
- Nishimura N, Bannykh S, Slabough S, et al. A di-acidic (DXE) code directs concentration of cargo during export from the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1999; 274: 15937-46.
- Fink AL. Chaperone-mediated protein folding. *Physiol Rev* 1999; 79: 425-49.
- Letourneur F, Hennecke S, Demolliere C, Cosson P. Steric masking of a dilysine endoplasmic reticulum retention motif during assembly of the human high affinity receptor for immunoglobulin E. *J Cell Biol* 1995; 12: 971-8.
- Letourneur F, Klaunig RD. A Novel dileucine motif and a tyrosine based motif independently mediate lysosomal targeting and endocytosis of CD3 chains. *Cell* 1992; 69: 1143-57.
- Roth TF, Porter KR. Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti*. *J Cell Biol* 1964; 20: 313-32.
- Pearse BM. Clathrin and coated vesicles. *EMBO J* 1987; 6: 2507-12.
- Hirst J, Robinson MS. Clathrin and adaptors. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1404: 173-93.
- Hirst J, Bright NA, Rous B, Robinson MS. Characterization of a fourth adaptor-related protein complex. *Mol Biol Cell* 1999; 10: 2787-802.
- Dell'Angelica EC, Mullins C, Bonifacino JS. AP-4, a Novel Protein Complex Related to Clathrin Adaptors. *J Biol Chem* 1999; 274: 7278-85.
- Gallusser A, Kirchhausen T. The beta 1 and beta 2 subunits of the AP complexes are the clathrin coat assembly components. *EMBO J* 1993; 12: 5237-44.
- Ohno H, Stewart J, Fournier MC, et al. Interaction of tyrosine-based sorting signals with clathrin-associated proteins. *Science* 1995; 269: 1872-5.
- Cosson P, Letourneur F. Coatamer (COPI)-coated vesicles: role in intracellular transport and protein sorting. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 484-7.
- Letourneur F, Gaynor EC, Hennecke S, et al. Coatamer is essential for retrieval of dilysine-tagged proteins to the endoplasmic reticulum. *Cell* 1994; 79: 1199-207.
- Lowe M, Kreis TE. Regulation of membrane traffic in animal cells by COPI. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1404: 53-66.
- Whitney JA, Gome M, Sheff D, Kreis TE, Mellman I. Cytoplasmic coat proteins involved in endosome function [see comments]. *Cell* 1995; 83: 703-13.
- Aniento F, Gu F, Parton RG, Gruenberg J. An endosomal beta COP is involved in the pH-dependent formation of transport vesicles destined for late endosomes. *J Cell Biol* 1996; 133: 29-41.
- Kuehn MJ, Schekman R. COPII and secretory cargo capture into transport vesicles. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 477-83.
- Roberg KJ, Crotwell M, Espenshade P, Gimeno R, Kaiser CA. LST1 is a SEC24 homologue used for selective export of the plasma membrane ATPase from the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 1999; 145: 659-72.
- Pagano A, Letourneur F, Garcia-Estefania D, Carpentier JL, Orci L, Paccaud JP. Sec24 proteins and sorting at the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1999; 274: 7833-40.
- Dominguez M, Dejgaard K, Fullekrug J, Dahan S, Fazel A, Paccaud JP, Thomas DY, Bergeron JJ, Nilsson T. gp25L/emp24/p24 protein family members of the cis-Golgi network bind both COP I and II coatamer. *J Cell Biol* 1998; 140: 751-65.
- Chavrier P, Goud B. The role of ARF and Rab GTPases in membrane transport. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 466-75.
- Amara FJ, Cheng H S, Smith EA. Intracellular protein trafficking defects in human disease. *Trends in Cell Biology* 1992; 2: 145-9.
- Goldstein JL, Brown MS, Anderson RG, Russell DW, Schneider WJ. Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. *Annu Rev Cell Biol* 1985; 1: 1-39.
- Frizzell R A. Cystic fibrosis: a disease of ion channels? *Trends Neurosci* 1987; 10: 190-3.
- Zhang F, Kartner N, Lukacs G L. Limited proteolysis as a probe for arrested conformational maturation of delta-F508 CFTR. *Nature Struct Biol* 1998; 5: 180-3.
- Harris M. HIV: a new role for Nef in the spread of HIV. *Curr Biol* 1999; 9: R459-61.
- Piguet V, Schwartz O, Le Gall S, Trono D. The downregulation of CD4 and MHC-I by primate lentiviruses: a paradigm for the modulation of cell surface receptors. *Immunol Rev* 1999; 168: 51-63.
- Piguet V, Gu F, Foti M, et al. Nef-induced CD4 degradation: a diacidic-based motif in Nef functions as a lysosomal targeting signal through the binding of beta-COP in endosomes. *Cell* 1999; 97: 63-73.

## TIRÉS À PART

F. Letourneur.



**m/s 2000****Summary****Transport and protein sorting  
in eukaryotic cells**

This review describes fundamental cellular mechanisms involved in intracellular transport. The ubiquitous role of transport vesicles allows similar mechanisms to participate in many different steps of intracellular transport. In each case, a different cytoplasmic coat polymerizes on the membrane of the budding vesicle, and interacts with specific signals located in the cytoplasmic domains of membrane proteins which must be concentrated in the vesicle. The number of characterized cytoplasmic sorting signals is increasing rapidly, as well as the number of identified coats. Intracellular sorting can be perturbed by inherited mutations and can result in pathological situations such as cystic fibrosis or familial hypercholesterolemia. Viruses can also use or divert sorting mechanisms of eucaryotic cells, which are essential for their efficient propagation. Therefore, deciphering the cellular machinery responsible for intracellular transport and sorting of proteins is essential for a better understanding of many pathological situations.