

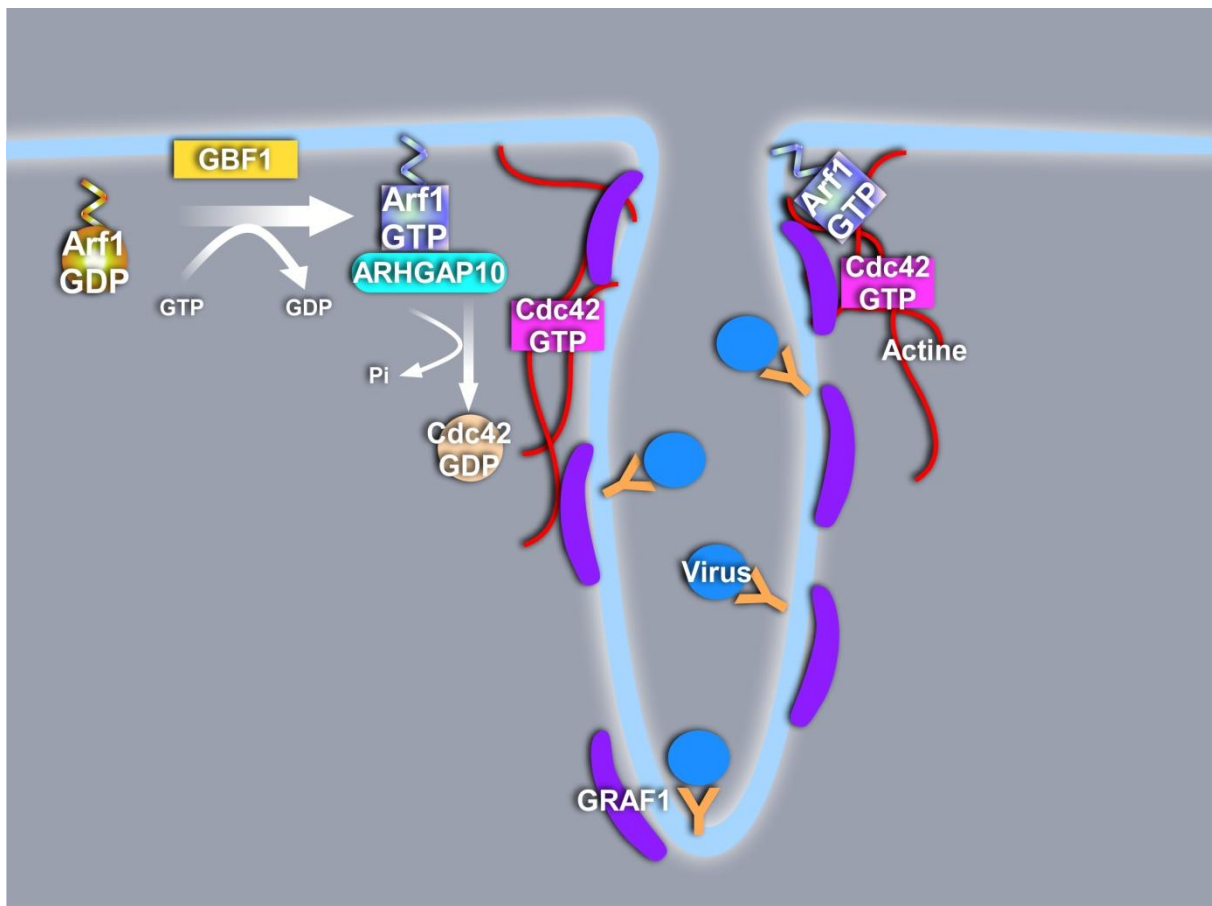
## L'endocytose indépendante de la clathrine et des cavéoles

En plus de l'endocytose dépendante des cavéoles, d'autres voies d'internalisation clathrine indépendantes mais nécessitant l'action de la dynamine ont également été décrites. Ainsi, des études ont mis en évidence que le récepteur à l'interleukine-2 (IL-2) s'internalise par l'intermédiaire de petites invaginations de membranes non recouvertes de manteau (Lamaze et al., 2001; Sauvonnet et al., 2005; Subtil et al., 1994). Cette voie est dépendante du cholestérol et on retrouve ces invaginations au niveau de radeaux lipidiques (Lamaze et al., 2001). Ces vésicules possèdent une taille (50 à 100nm) et une concentration de récepteurs conservées, sous-entendant l'implication de protéines encore non identifiées dans le recrutement de ces récepteurs au niveau du site d'endocytose. Cette voie semble être également dépendante de la polymérisation de l'actine et des protéines RhoA et Rac1 (Grassart et al., 2008; Lamaze et al., 2001; Sauvonnet et al., 2005). Le récepteur à l'EGF (Epidermal Growth Factor) a été décrit comme étant endocyté de manière clathrine dépendante. Néanmoins, il semblerait qu'en présence de concentration élevée d'EGF, ce récepteur emprunte également d'autres voies d'internalisation indépendantes de la clathrine et des cavéoles (Lund et al., 1990; Sigismund et al., 2005).

D'autres voies indépendantes de la clathrine ont également été décrites dont la voie flotiline qui permet l'internalisation de phase fluide, de différentes protéines dont CD59 (Ait-Slimane et al., 2009) et également des protéoglycanes (Payne et al., 2007).

On retrouve également la voie CLIC/GEEC (Clathrin Independent Carrier/ GPI-AP (GlycosylPhosphatidylinositol Anchored Proteins) enriched Early Endosomal Compartments). Cette voie permet, par l'intermédiaire de protrusion en forme de tubules, l'internalisation de protéines possédant une ancre GPI. Elle est dépendante du cholestérol et de sphingolipides (Chadda et al., 2007; Sharma et al., 2004) mais n'est pas associée à un manteau protéique (Kirkham et al., 2005). Des études ont également montré que l'actine est un acteur majeur de la régulation de cette voie initiée par le recrutement de GBF1 (Golgi-specific Brefeldin A-resistance guanine nucleotide exchange factor 1) (Gupta et al., 2009), un facteur d'échange pour les petites protéines G de la famille Arf, qui va permettre par l'intermédiaire d'une voie de signalisation en aval d'Arf1 le recrutement de la machinerie de polymérisation de l'actine. Arf1 activé par GBF1 va recruter la protéine ARHGAP10 (Rho GTPase Activating Protein 10) à

la membrane plasmique (Kumari and Mayor, 2008) qui va réguler l'activité de la protéine Cdc42 (Cell division control protein 42 homolog) et permettre le recrutement de la protéine WASP (Wiskott–Aldrich Syndrome Protein) permettant la polymérisation de l'actine (Chadda et al., 2007). Il a également été mis en évidence le rôle d'une protéine à domaine BAR dans ce processus. La protéine GRAF1 (GTPase regulator associated with focal adhesion kinase-1) se trouve colocalisée avec les cargos de cette voie dans des cellules Hela (Lundmark et al., 2008). De plus, par une approche de siRNA, il a été mis en évidence que la diminution d'expression de GRAF1 dans les cellules perturbe cette internalisation. Néanmoins son rôle précis n'est pas encore défini. GRAF1 pourrait agir en contrôlant l'activité de Cdc42 par l'intermédiaire de son domaine RhoGAP, mais pourrait également participer à la déformation de la membrane grâce à son domaine BAR (Figure 14).

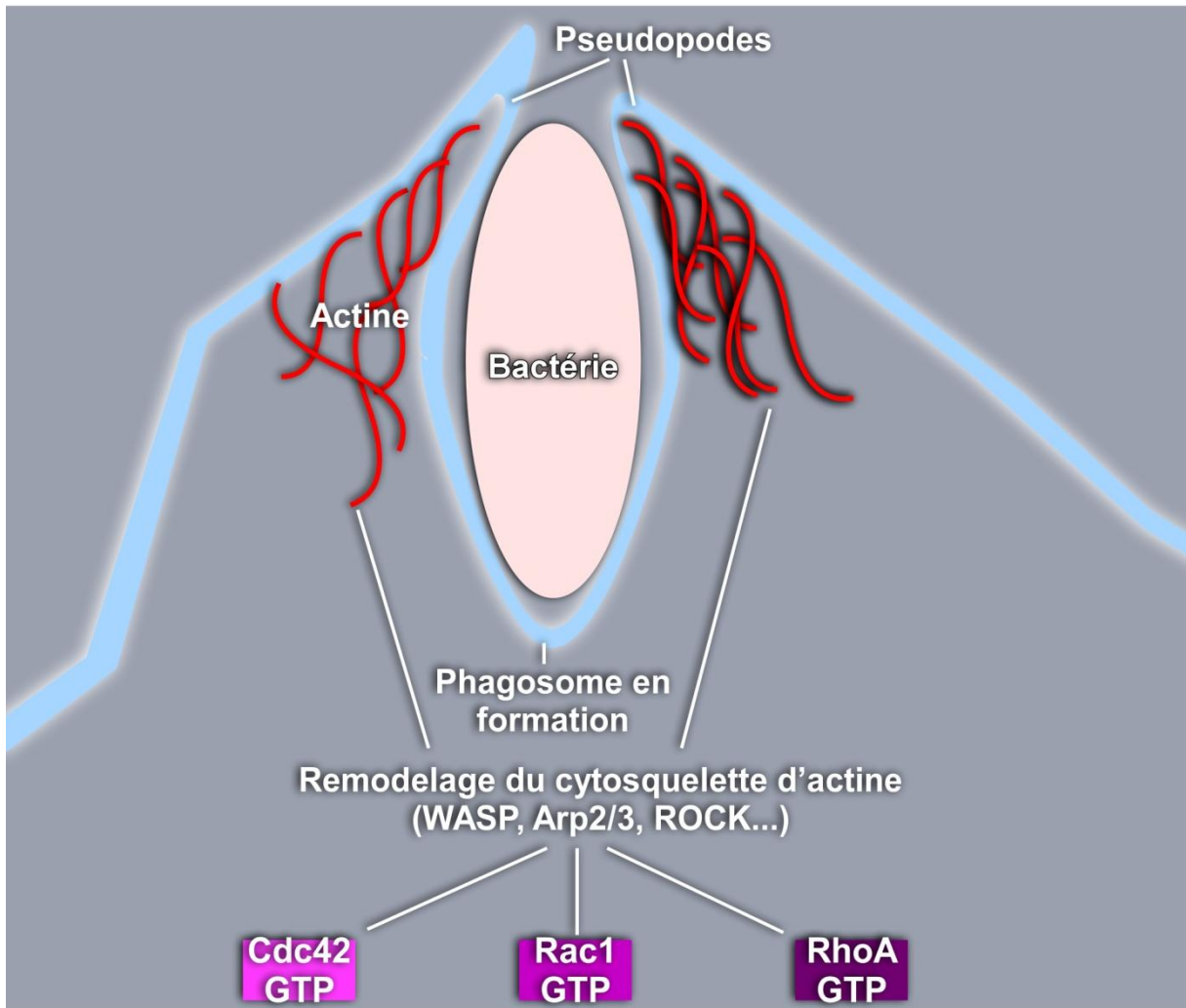


**Figure 14: Représentation schématique de l'endocytose par la voie CLIC/GEEK (adaptée de Boisvert and Tijssen, 2012).**

La voie d'endocytose CLIC/GEEK fait intervenir des petites protéines G Arf1 et Cdc42 qui permettent le recrutement de la machinerie de polymérisation de l'actine et la protéine à domaine BAR GRAF1 qui pourrait participer à la déformation de la membrane plasmique.

## D. L'endocytose à grande échelle

Il existe également des voies d'endocytose à grande échelle qui permettent l'internalisation de molécules de grandes tailles dans des vésicules pouvant aller jusqu'à 2 $\mu$ m de diamètre. Ces voies regroupent la macropinocytose et la phagocytose. La macropinocytose est provoquée par la formation de protrusions membranaires qui vont fusionner pour former de grandes vésicules irrégulières, appelées macropinosomes (Johannes and Lamaze, 2002). Les macropinosomes sont des structures dynamiques qui permettent l'internalisation de molécules de grandes tailles comme par exemple des bactéries. La phagocytose, quant à elle, est utilisée par des cellules spécialisées comme les macrophages, les cellules dendritiques et les neutrophiles. Elle permet également l'internalisation de grosses molécules comme des bactéries ou des cellules à l'intérieur des phagosomes, médiée par différents récepteurs. Elle s'effectue à partir de pseudopodes qui vont s'étendre autour du corps étranger et l'englober (Flannagan et al., 2012). Les petites protéines G de la famille Rho, en régulant la machinerie de polymérisation de l'actine (Beemiller et al., 2010; Higgs and Pollard, 2000; Innocenti et al., 2005), jouent un rôle majeur dans ces deux processus. Par différentes voies de signalisation, les récepteurs à la surface des cellules vont permettre l'activation des protéines Rho, Rac et Cdc42. Ces dernières vont pouvoir ainsi recruter le complexe Arp2/3 qui va permettre le branchement de filaments d'actine au niveau du complexe de phagocytose (Figure 15).



**Figure 15: Représentation schématique d'une voie d'endocytose à grande échelle : la phagocytose.**

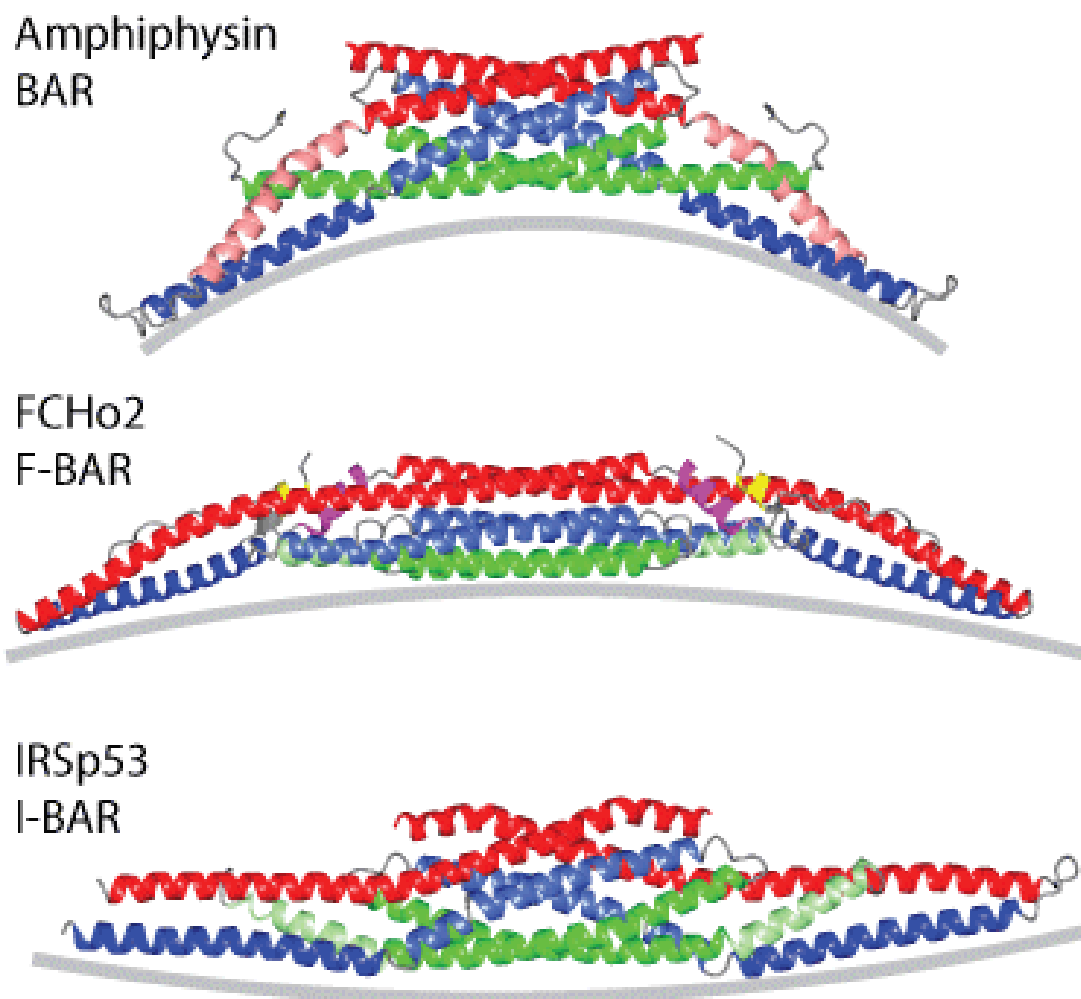
Les petites protéines G de la famille Rho jouent un rôle dans le processus de phagocytose en régulant la machinerie de polymérisation de l'actine. Ceci permet l'internalisation de grosses molécules par l'intermédiaire de pseudopodes qui vont s'étendre autour du corps étranger pour l'englober.

## II. Les protéines à domaine BAR

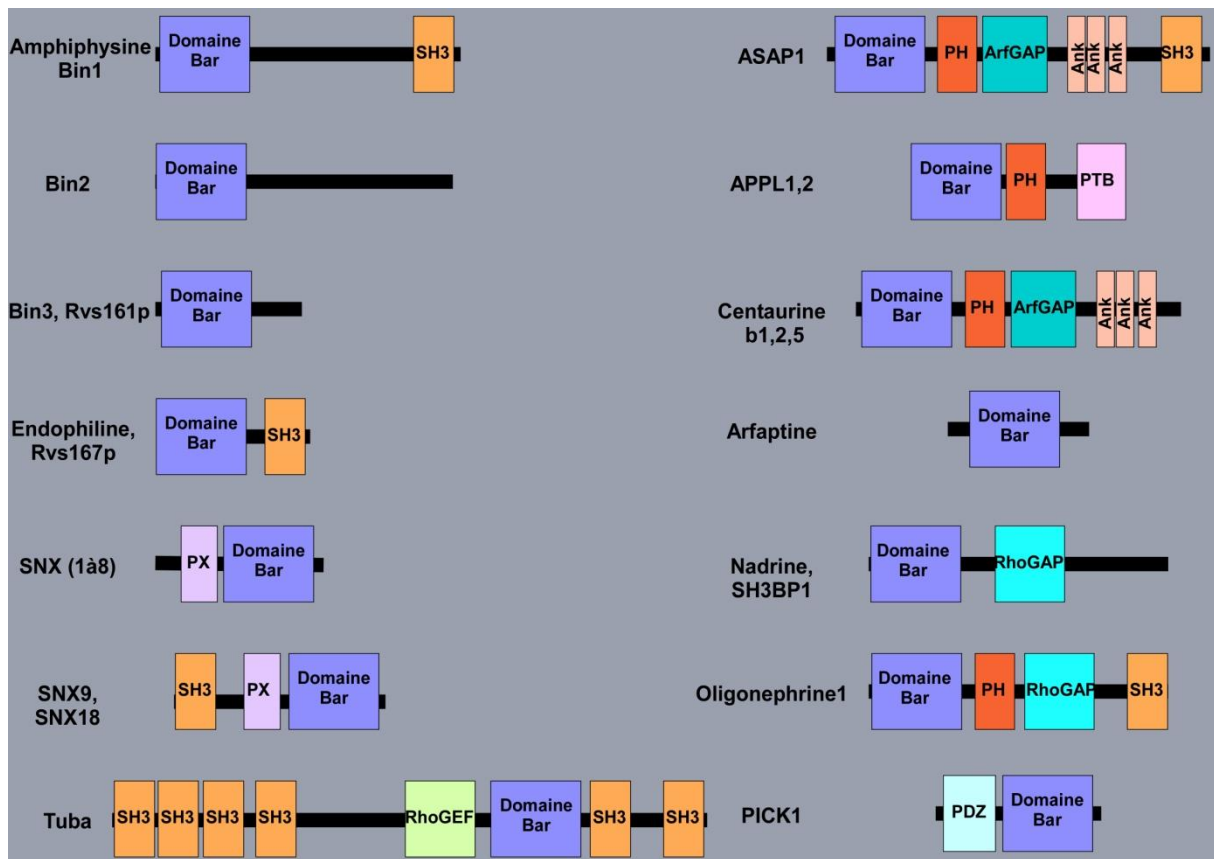
Les cellules eucaryotes sont caractérisées par une multitude de processus physiologiques impliquant la déformation de membrane, comme par exemple l'endocytose, l'exocytose, l'angiogenèse ou la migration cellulaire. Dans la majorité des cas le remodelage dynamique de la membrane nécessite l'association réversible de protéines possédant des capacités de déformation et notamment des protéines de la superfamille à domaine BAR.

### A. Structure

Le domaine BAR (Bin/Amphiphysin/Rvs) a été identifié comme étant un domaine très conservé, partagé par les protéines de levure Rvs161 et Rvs167 (Reduced viability after starvation) et les protéines de mammifères Amphiphysin et Bin (bridging interactor) (David et al., 1994). Il est composé de 3 hélices  $\alpha$  en coiled-coil qui se dimérisent (Peter et al., 2004) et forment ainsi une surface chargée positivement qui va être capable d'interagir avec les phospholipides chargés négativement des membranes cellulaires. Ils sont généralement trouvés associés à un second site de liaison aux phospholipides comme une hélice  $\alpha$  amphipatique, à un domaine PH ou un domaine PX (Phox homology domain) (Figure 16) (Safari and Suetsugu, 2012). Bien qu'il n'existe pas un motif de séquence caractéristique, au niveau structural les domaines BAR sont assez bien conservés. Ils possèdent une géométrie caractéristique en forme de «banane» leur permettant de sentir les courbures et/ou de déformer les membranes. Il existe 3 types différents de domaines BAR possédant des degrés de courbures variables: les domaines BAR/N-BAR, les domaines F-BAR (Fer-cyp4 Homology) et les domaines I-BAR (inverted) (Figure 17) (Frost et al., 2009; Qualmann et al., 2011).



**Figure 16: Schéma de la structure 3D des différents domaines BAR (Henne et al., 2007).**



**Figure 17 : Schéma de la structure en domaines de différentes protéines à domaine BAR (adapté de (Safari and Suetsugu, 2012)).**

SH3: Src Homology domain 3

PX: Phox homology domain

PH: Pleckstrin Homology domain

PTB: PhosphoTyrosine Binding

PDZ: PSD95/Dlg1/Zo-1

Ank: Ankyrin repeats

## B. Fonctions

Les protéines à domaine BAR possèdent également des domaines d'interaction protéine-protéine, permettant l'association à différents partenaires nécessaires à leur fonction. Ainsi de nombreuses protéines à domaine BAR sont capables d'interagir via leur domaine SH3 avec des protéines possédant des domaines riches en Proline, comme notamment les protéines N-WASP (Neural Wiskott–Aldrich Syndrome Protein), WASH (Wiskott–Aldrich syndrome protein and SCAR homologue) et WAVE (Wasp family Verprolin homologous protein) impliquées dans la polymérisation de l'actine (McMahon and Gallop, 2005). Les protéines à domaine BAR sont des régulateurs de la déformation de la membrane, intervenant aussi bien dans la formation d'invaginations que de protrusions. De nombreuses études ont mis en évidence que l'endophiline (Itoh and De Camilli, 2006; Peter et al., 2004) et la syndaptine (Wang et al., 2009), possédant respectivement des domaines N-BAR et F-BAR, induisent la formation de tubules sur des liposomes. Les domaines I-BAR permettent la formation de filopodes. La protéine IPSp53, suite à son interaction avec Cdc42, est recrutée à la membrane plasmique et induit, grâce à sa courbure convexe et au recrutement des facteurs de polymérisation de l'actine, la formation des filopodes (Ahmed et al., 2010).

De nombreuses protéines à domaine BAR sont impliquées dans l'endocytose dépendante de la clathrine. En effet, des études ont mis en évidence le rôle de ces protéines à différentes étapes de la formation de la vésicule. Ainsi la protéine FCHO (Fer/Cip4 Homology domain-Only) semble impliquée dans les étapes précoces de la formation de la vésicule en s'associant au PIP2 et initiant la déformation de la membrane par l'intermédiaire de son domaine F-BAR (McMahon and Boucrot, 2011). Les protéines à domaine N-BAR amphiphysine, SNX9 (Sorting Nexin 9) et endophiline interviennent également dans ce processus de déformation membranaire mais aussi dans les étapes tardives en permettant le recrutement de la dynamine nécessaire à la fission de la vésicule.

Au cours de ma thèse, je me suis plus particulièrement intéressée à l'endophiline.



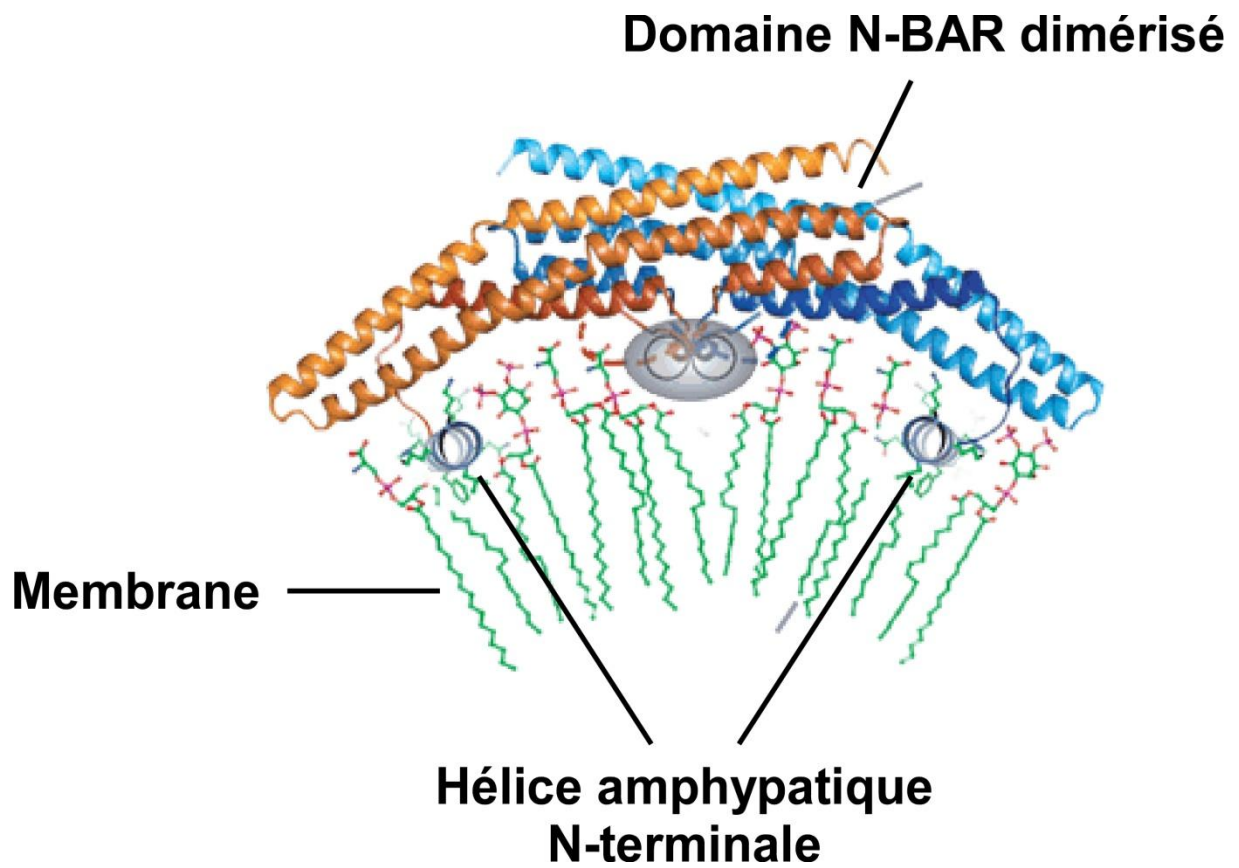
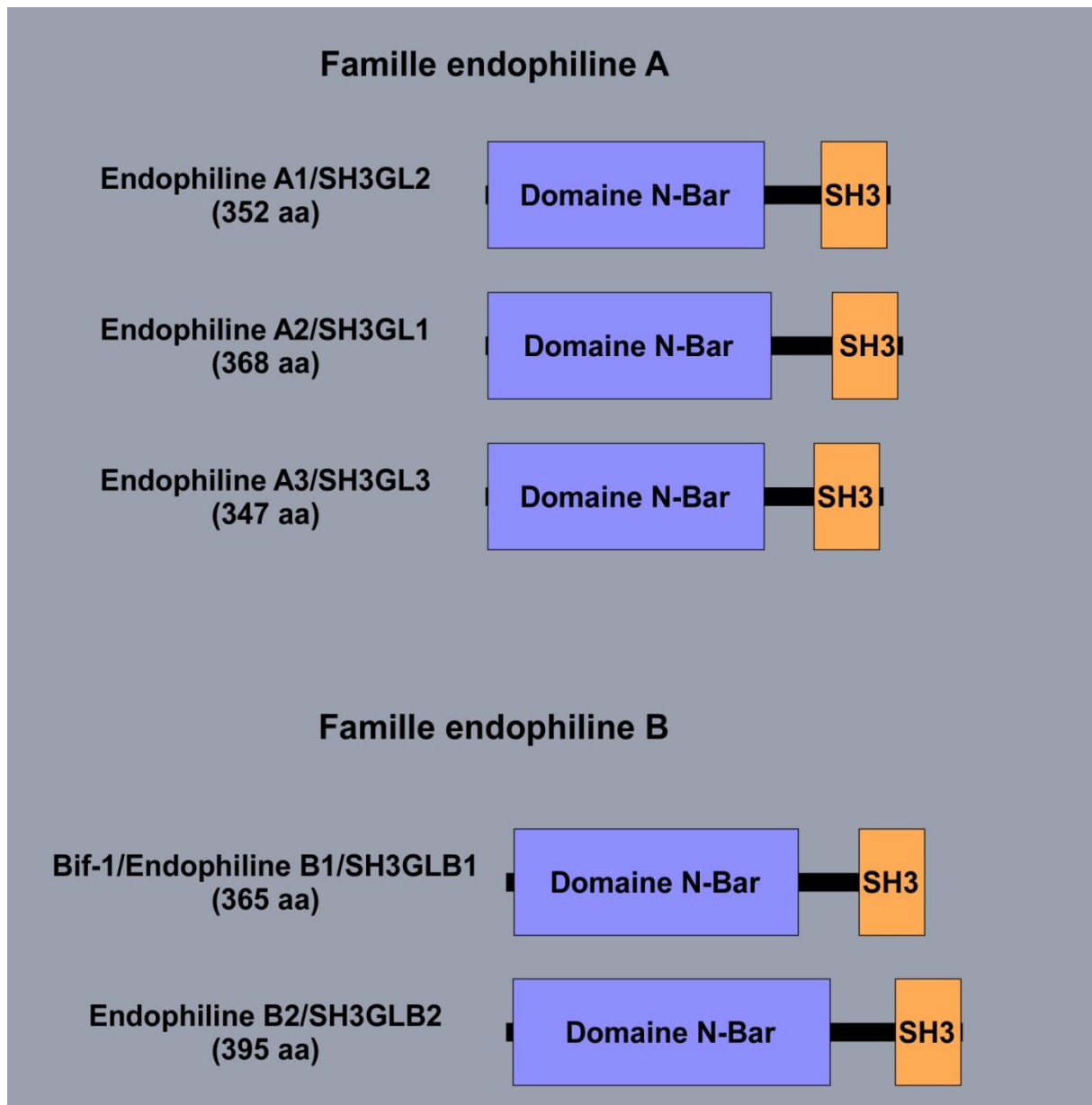


Figure 18: Représentation schématique de l'interaction entre le domaine NBAR de l'endophiline et les phospholipides membranaires (Gallop et al., 2006).



**Figure 19: Organisation en domaines des différents isoformes de l'endophiline (adapté de (Takahashi et al., 2009).**

Domaine SH3: Src Homology domain 3

## C. L'endophiline

### 1. Généralités

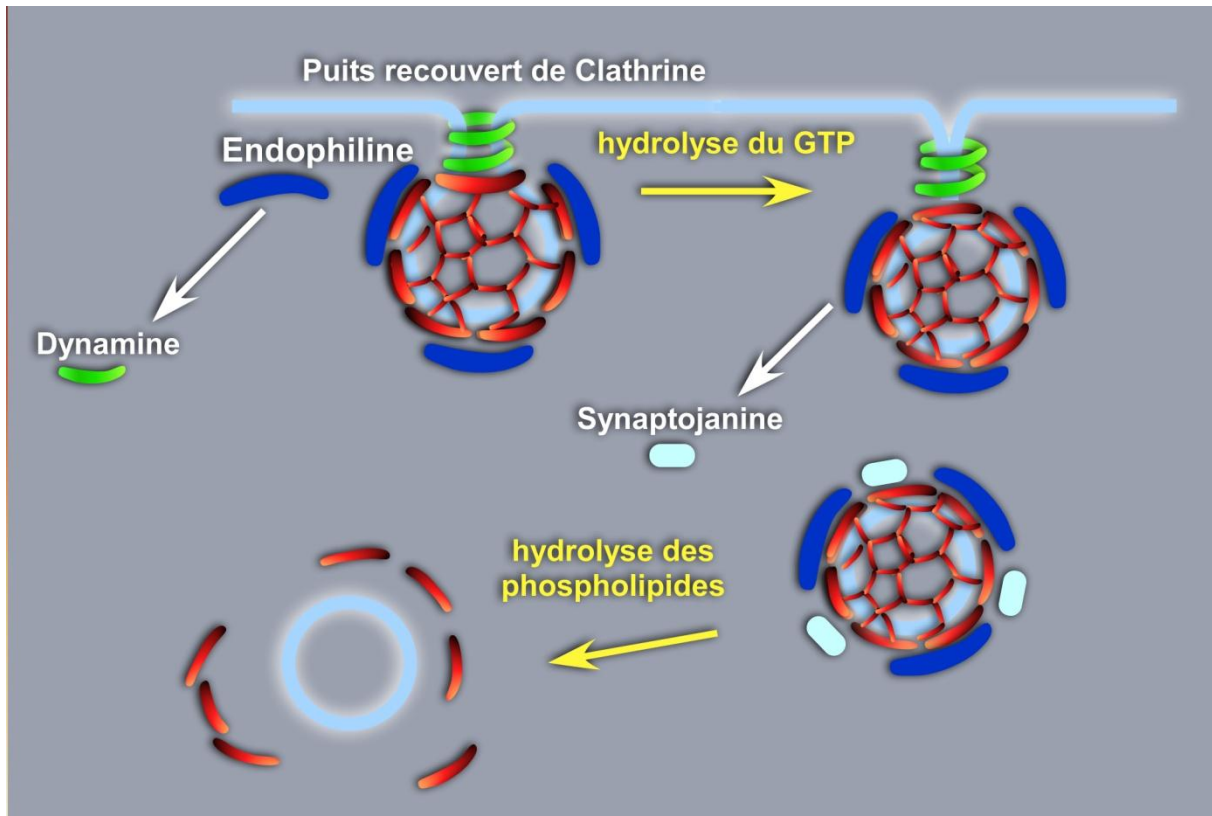
L'endophiline est une protéine exprimée de manière ubiquitaire, mais est particulièrement abondante au niveau du cerveau. Il existe deux sous-familles d'endophiline: l'endophiline A composée de l'endophiline A1, A2 et A3 codées par différents gènes; et l'endophiline B qui regroupe les endophilines B1 et B2 également codées par différents gènes (Kjaerulff et al., 2011). L'endophiline possède trois domaines dont un domaine N-BAR lui permettant de se dimériser et de lier les phospholipides membranaires (Figure 18). Elle possède également un domaine intermédiaire de fonction inconnue et un domaine SH3 lui permettant d'interagir avec des domaines riches en proline (Figure 19).

### 2. L'endophiline dans l'endocytose dépendante de la clathrine.

Les endophilines sont impliquées dans l'internalisation de différents récepteurs, le recyclage des vésicules synaptiques, et différents processus nécessitant le remodelage de la membrane plasmique. Les endophilines ont initialement été étudiées pour leur implication dans l'endocytose clathrine dépendante. Elles semblent être impliquées dans de multiples étapes de ce processus, précocement, mais également à des étapes plus tardives. En effet, il a été montré que l'injection d'anticorps dirigés contre l'endophiline dans des synapses bloquait l'invagination des puits recouverts de clathrine (Ringstad et al., 1999). Ceci a pour conséquence une accumulation de puits recouverts de clathrine peu profonds au niveau pré-synaptique et un blocage du recyclage des vésicules synaptiques. D'autre part, les mêmes résultats ont été obtenus par l'injection d'un peptide capable de lier le domaine SH3 de l'endophiline ou du domaine SH3 lui-même dans des synapses (Gad et al., 2000). Ces résultats suggèrent que l'endophiline participe aux étapes de scission des vésicules, mais joue également un rôle majeur dans le désassemblage du manteau AP-2/clathrine et dans le recyclage. La leucine 215, présente au niveau de la troisième hélice  $\alpha$ , a été montrée comme étant importante pour la dimérisation de l'endophiline (Gortat et al., 2012). La mutation de ce résidu en asparagine altère la capacité de la protéine à lier ses partenaires via son

domaine SH3 et affecte l'internalisation de la transferrine. Une étude a également montré que contrairement aux endophilines A1 et A2 qui possèdent une hélice  $\alpha$  au niveau de leur région intermédiaire, l'endophiline A3 possède un feuillet  $\beta$  lui conférant une propriété inhibitrice sur l'internalisation du récepteur à la transferrine et du récepteur à la dopamine D2 (Sugiura et al., 2004). Des expériences dans la souris ont mis en évidence que le KO des 3 endophilines A aboutit à une létalité périnatale et une forte accumulation de puits recouverts de clathrine au niveau des synapses (Milosevic et al., 2011). En revanche, le double KO des endophilines 1 et 2 semble être compatible avec une viabilité post-natale, mais entraîne une neuro-dégénérescence aboutissant à la mort des souris au bout de 3 semaines. Ces résultats indiquent que les différentes endophilines possèdent au moins partiellement des rôles redondants et que leur fonction devient essentielle uniquement après la naissance.

Les endophilines sont capables, par l'intermédiaire de leur domaine SH3, d'interagir et de recruter au niveau des puits en formation deux protéines majeures dans l'endocytose : la dynamine et la synaptojanine (Micheva et al., 1997; Ringstad et al., 1999; Sundborger et al., 2011). La dynamine est impliquée dans l'étape de fission de la vésicule alors que la synaptojanine va permettre le désassemblage du manteau sur la vésicule internalisée (Figure 20).



**Figure 20 : Rôle de l'endophiline dans l'endocytose dépendante de la clathrine.**

L'endophiline, grâce à son domaine N-BAR qui reconnaît la courbure membranaire, est présente au niveau des puits en formation et recrute la dynamine et la synaptojanine. Ces dernières participent respectivement à la fission de la vésicule et au désassemblage du manteau de clathrine.

Bien que des expériences en microscopie électronique et à fluorescence ont mis en évidence la présence d'endophiline au niveau des puits de clathrine, l'endophiline ne semble être présente qu'au niveau d'un quart de ces structures (Perera et al., 2006; Taylor et al., 2011). Ces observations peuvent s'expliquer par le fait que l'endophiline intervient majoritairement dans les étapes tardives de l'endocytose dépendante de la clathrine et de ce fait est recrutée qu'au niveau des puits matures qui représentent qu'une fraction de ces structures. De plus, l'internalisation de certains récepteurs, comme le récepteur à la transferrine, n'est pas affectée par la déplétion des trois isoformes de l'endophiline A (Meinecke et al., 2013).

### **3. Voie d'endocytose dépendante de l'endophiline**

Des études récentes suggèrent que l'endophiline contrôle une voie d'internalisation indépendante de la clathrine nommée FEME (Fast Endophilin Mediated Endocytosis) (Boucrot et al., 2015). Cette voie est définie par une formation rapide de vésicules tubulaires, recouvertes d'endophiline, qui sont internalisées suite à la stimulation des cargos à internaliser par leurs ligands. D'après des expériences réalisées sur des cellules dont l'expression des trois endophilines A a été réprimée, cette voie permettrait l'internalisation de RCPGs comme le récepteur  $\beta$ 1-adrénergique, de récepteurs à activité tyrosine kinase comme le récepteur à l'EGF en présence d'une concentration élevée en EGF et du récepteur à l'IL-2 (Boucrot et al., 2015). Elle serait également empruntée par la toxine du choléra et la shiga toxine (Renard et al., 2015). L'endophiline A2 est recrutée à la membrane plasmique pour former des structures appelées EPAs (Endophilin Positive Assemblies). Le recrutement des endophilines à la membrane plasmique se ferait par l'intermédiaire de la lamellipodine. La lamellipodine est recrutée à la membrane plasmique par son interaction via son domaine PH avec le PIP2, et ce mécanisme est dépendant de la PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) de classe 1 et des protéines SHIP1 et 2 (Src homology 2 domain-containing inositol-5-phosphatase 1) qui vont déphosphoryler le PIP3. Une fois à la membrane plasmique, l'endophiline via son domaine SH3 va pouvoir interagir avec les cargos à internaliser. Des expériences ont mis en évidence que l'endophiline était capable de lier directement un motif riche en proline présent au niveau de la troisième boucle intracellulaire du récepteur  $\beta$ 1-adrénergique. Elle est également capable de lier le récepteur à l'EGF et à l'HGF (Hepatocyte Growth Factor) via les protéines CIN85 (Cbl INTERacting protein 85 kDa) et Cbl (Casitas B-lineage Lymphoma) dont la déplétion affecte la formation des EPAs (Boucrot et al., 2015). Par l'intermédiaire de son domaine N-BAR, l'endophiline est également capable de déformer les membranes et d'induire la formation de tubules. L'endophiline participe également aux étapes de scission des tubules formés par insertion de ces multiples hélices amphipatiques au sein de la membrane et en association avec l'actine et la dynamine. En résumé, l'endophiline possède l'ensemble des caractéristiques nécessaires à l'endocytose allant de l'interaction avec le cargo à la déformation de la membrane et la scission de la vésicule.

#### **4. Endophiline et pathologies**

L'implication de l'endophiline dans ces différents processus physiologiques fait d'elle une protéine importante pour le bon fonctionnement cellulaire et notamment au niveau des neurones. Ainsi, les endophilines régulent et sont régulées par différentes protéines et notamment des acteurs de la maladie de Parkinson. En effet, des études ont montré que le niveau d'expression de la E3 ubiquitine ligase Parkine est augmenté dans le système nerveux de souris TKO pour les endophilines A (Cao et al., 2014). Il a également été mis en évidence que la kinase Cdk5 (Cyclin-dependent kinase 5), qui est impliquée dans de nombreuses maladies neurodégénératives, phosphoryle l'endophiline B1 (Wong et al., 2011). Cette phosphorylation de l'endophiline est importante pour l'induction de l'autophagie et la perte neuronale dans un modèle de maladie de Parkinson. Ces résultats mettent en évidence un rôle de Cdk5 et de l'endophiline dans la physiopathologie de la maladie de Parkinson en modulant l'autophagie.

L'endophiline a également été impliquée dans différents cancers. Une étude récente a mis en évidence que l'endophiline A2 est surexprimée dans plusieurs lignées cellulaires mammaires cancéreuses triple négatives (Baldassarre et al., 2015), qui n'expriment pas les récepteurs aux œstrogènes, à la progestérone et HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2). De plus cette surexpression de l'endophiline est corrélée à un mauvais pronostic chez les patientes. Par des approches de knockdown, il a pu être observé que l'endophiline A2 joue un rôle dans la motilité cellulaire, l'invasion et le développement de métastases.

#### **5. Régulation de l'endophiline**

Plusieurs études ont mis en évidence que l'activité de l'endophiline était régulée par différentes modifications post-traductionnelles. La protéine MNSF $\beta$  (monoclonal nonspecific suppressor factor  $\beta$ ) qui est un membre de la famille « ubiquitine-like », vient par l'intermédiaire de la Glycine 74 présente au niveau de son extrémité C-terminale, se greffer covalentement sur la Lysine 294 de l'endophiline A2 (Nakamura and Shimosaki, 2009). Il a été

mis en évidence que cette modification post-traductionnelle de l'endophiline inhibe la phagocytose des macrophages. Par ailleurs la phosphorylation des endophilines joue un rôle sur leurs fonctions. Une phosphorylation de l'endophiline A1 au niveau de la thréonine 14 présente dans l'hélice amphipatique N-terminale par la Rho kinase inhibe son interaction avec la protéine CIN85 et entraîne une inhibition de l'internalisation du récepteur à l'EGF (Kaneko et al., 2005). L'endophiline A1 est aussi phosphorylée par la protéine LRRK2 (Leucine Rich Repeat Kinase 2) au niveau de la Sérine 75 présente dans le domaine N-BAR (Matta et al., 2012), diminuant son affinité pour les membranes in vivo et in vitro ainsi que sa capacité de tubularisation. La phosphorylation de la Tyrosine 315 présente au niveau du domaine SH3 de l'endophiline A2 par le complexe FAK (Focal Adhesion Kinase)/Src entraîne une diminution de l'interaction entre l'endophiline et la dynamine et une accumulation à la membrane plasmique des MMPs (matrix metalloproteinases) qui sont des protéines clés dans l'invasion tumorale (Wu et al., 2005). Cette inhibition d'internalisation des MMPs a pour conséquence une augmentation de la dégradation de la matrice extracellulaire.

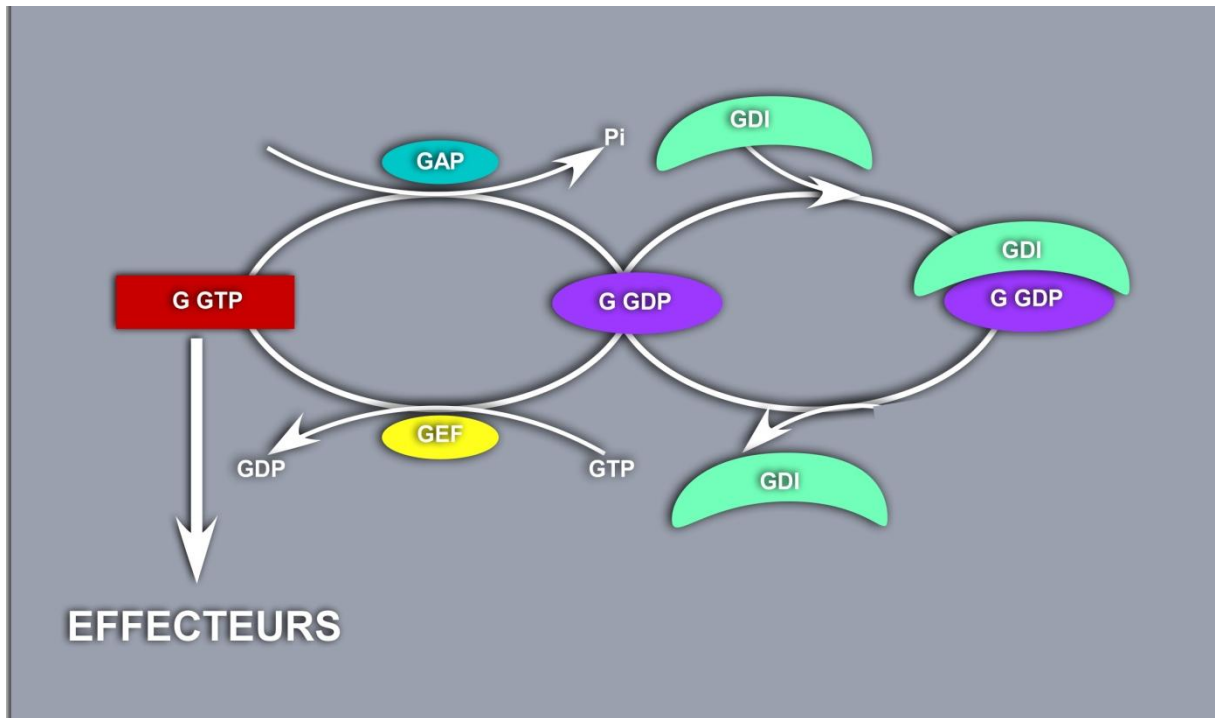
L'endophiline est donc une protéine majeure pour le maintien de l'homéostasie cellulaire de part son rôle dans les différentes voies d'endocytose, dans le recyclage. Néanmoins, il demeure des zones d'ombres sur sa fonction et sur son mode de recrutement au niveau de la membrane plasmique.



### III. Les petites protéines G

#### A. Généralités

La super-famille des protéines Ras représente un des plus grands groupes de protéines et est retrouvée de la levure aux mammifères. Cette famille de protéines est très hétérogène et plus d'une centaine de protéines sont retrouvées chez l'Homme. Les protéines de la super-famille Ras sont des protéines monomériques ayant un poids moléculaire compris entre 20 et 40 KDa. Les membres de cette super-famille sont subdivisés en fonction de leur similarité de structure et de fonction en cinq familles : les familles Ras, Rho, Ran, Arf/Sar et Rab (Takai et al., 2001). Ces protéines agissent comme des interrupteurs moléculaires qui régulent une multitude de processus cellulaires fondamentaux. Elles jouent un rôle important dans la différenciation et prolifération cellulaire, la réorganisation du cytosquelette d'actine et le trafic vésiculaire (Wennerberg et al., 2005). Découvertes dans les années 1980, elles appartiennent à une classe de protéine appelée petite protéine G car elles sont capables de lier des nucléotides guanyliques. Elles cyclent entre un état dit inactif sous forme GDP et un état dit actif sous forme GTP. Bien qu'elles possèdent intrinsèquement des activités d'échange nucléotidique et, à l'exception des protéines Arf, d'hydrolyse du GTP, celles-ci restent trop faibles pour permettre aux protéines de cycler rapidement. Ces activités intrinsèques sont catalysées et régulées par des protéines GEF (Guanines nucléotides Exchanges Factor) et GAP (GTPase Activating Protein) (Bos et al., 2007; Cherfils and Zeghouf, 2013). Les protéines GEF permettent l'activation des petites protéines G en favorisant l'échange du GDP par du GTP. Les protéines GAP quant à elles catalysent l'hydrolyse du troisième phosphate du GTP ce qui entraîne le retour sous la forme GDP et l'inactivation des petites protéines G (Figure 21).



**Figure 21 : Cycle d'activation et d'inactivation des petites protéines G.**

Les petites protéines G cyclent entre un état inactif lié au GDP et un état actif lié au GTP. Leur activation est catalysée par un facteur d'échange (GEF) et leur retour à l'état inactif se fait par une hydrolyse du 3<sup>e</sup> phosphate du GTP catalysée par une protéine GAP. Sous leur état inactif certaines petites protéines G peuvent lier des protéines GDI qui inhibent leur échange nucléotidique.

G GTP: petite protéine G liée au GTP

G GDP: petite protéine G liée au GDP

GAP: GTPase Activating Protein

GDI: GDP Dissociation Inhibitor

GEF: Guanines nucléotides Exchanges Factor

Les membres des familles Rho, Ran et Rab sont aussi régulées par des protéines GDI (GDP Dissociation Inhibitor) (Cherfils and Zeghouf, 2013). Les GDI, en se fixant à la forme GDP, inhibent l'échange nucléotidique et maintiennent les protéines dans un état « inactif ». En passant de la forme GDP à la forme GTP, les petites protéines G changent de conformation. Cette différence de conformation permet généralement à ces protéines d'interagir avec leurs effecteurs permettant ainsi la transduction du signal. Cela peut induire également leur recrutement au niveau des membranes ou leur relocalisation à des sites spécifiques. Des études de cristallographie et de résonance magnétique nucléaire de différentes petites protéines G ont mis en évidence une topologie commune. Elles sont composées du domaine G qui est le corps central et de régions variables, les switch 1 et 2. Les switches 1 et 2 constituent des domaines flexibles de la protéine qui vont changer de conformation au cours du cycle GDP/GTP (Vetter and Wittinghofer, 2001) et sont impliqués dans la plupart des interactions que les petites protéines G établissent avec leurs partenaires cellulaires.

Une comparaison de la séquence de ces protéines a révélé un taux de similitude dans leur séquence primaire de 30-55%. Les protéines de cette super-famille possèdent des séquences consensus d'acides aminés responsables de l'interaction spécifique avec les nucléotides GDP et GTP mais également de l'activité GTPase (Bourne et al., 1991; Samatar and Poulikakos).

De manière générale, ces petites protéines G subissent des modifications lipidiques post-traductionnelles. En effet les protéines de la famille Ras, Rho et Rab possèdent à leur extrémité C-terminale des séquences de reconnaissance à la farnésyl transférase et/ou la géranyl-géranyl transférase. La modification de la famille Arf se fait au niveau N-Terminal par une myristoylation. Ces modifications vont permettre aux protéines de s'associer aux phospholipides des membranes. Bien que certaines protéines G ne semblent pas subir de modifications lipidiques, comme c'est le cas pour Sar1, elles sont tout de même capables de s'associer aux membranes, notamment par l'intermédiaire de leur hélice amphipatique en N-terminal de façon co-traductionnelle. En revanche la protéine Ran ne subit aucune modification et n'est pas capable d'interagir avec les membranes (Tableau 2).

<b>Famille</b>	<b>Fonctions</b>	<b>Modifications lipidiques</b>
<b>Ras</b>	Différenciation et prolifération cellulaire	Farnésyl Géranylgéranyl palmitate
<b>Rho</b>	Organisation du cytosquelette et expression des gènes	Farnésyl Géranylgéranyl
<b>Rab</b>	Reconnaissance et fusion vésiculaire	Géranylgéranyl
<b>Ran</b>	Transport nucléo-cytoplasmique et cycle cellulaire	aucune
<b>Arf</b>	Trafic vésiculaire	myristate

**Tableau 2 : classification des petites protéines G.**

## **B. La famille Ras**

La protéine Ras a été la première de la super-famille des petites protéines G à être identifiée. Sa découverte dans les années 1980 s'est faite par homologie avec le gène du sarcoma virus de rat. Cette famille est composée de 35 membres qui participent à différentes voies de signalisation telles que la prolifération, la morphologie cellulaire, l'apoptose, l'expression génique et la différenciation (Reuther and Der, 2000). De nombreuses études ont mis en évidence qu'en se liant et en activant un de ses effecteurs, la protéine kinase Raf, Ras est capable d'activer la cascade des MAPkinases (Mitogen-Activated Protein kinases) contrôlant ainsi la progression du cycle cellulaire, la différenciation et l'apoptose (Figure 22) (Samatar and Poulikakos). De plus, Ras, de par son action sur la PI3K, peut conduire à la stimulation d'Akt qui est impliqué dans la régulation du métabolisme, la prolifération et la motilité cellulaire (Karnoub and Weinberg, 2008). Certains membres de la famille Ras régulent également l'adhésion cellulaire et la synthèse protéique (respectivement les protéines Rap (Ras-related proteins) et Rheb (Ras homolog enriched in brain)). Les protéines de la famille Ras sont également connues pour leur propriété oncogénique. En effet, des études ont mis