

L'endocytose

Au cours de ma

thèse, je me suis intéressée à l'endocytose et au rôle du facteur d'échange EFA6 (Exchange Factor for Arf6) dans ce processus. Pour cela j'ai étudié les mécanismes moléculaires qui contrôlent son interaction avec ses partenaires et en particulier des protéines impliquées dans l'endocytose. Dans la première partie de cette introduction, je commencerai par décrire les différents types d'endocytose qui permettent l'internalisation de molécules à la surface de la cellule et je me focaliserai sur l'endocytose dépendante de la clathrine. La deuxième partie de mon introduction portera sur les protéines à domaine BAR (Bin/Amphiphysin/Rvs) et plus particulièrement l'endophiline sur laquelle j'ai travaillé pendant ma thèse. Dans une troisième partie, je m'intéresserai aux petites protéines G et je détaillerai la famille des protéines Arf (ADP-rybosylation factor) et notamment Arf6 qui est le substrat d'EFA6. Je décrirai ensuite des facteurs d'échange à domaine Sec7 et je finirai cette introduction en vous détaillant le facteur d'échange EFA6.

L'endocytose

Tous les organismes pluricellulaires sont composés de cellules capables de communiquer entre elles et avec leur environnement. En effet, les cellules peuvent émettre ainsi que recevoir, interpréter et répondre aux signaux émis par leur environnement tels que les hormones, les facteurs de croissance, les neurotransmetteurs. Les protéines présentes à la membrane plasmique, comme par exemple les récepteurs et les canaux ioniques, sont des acteurs importants dans cette communication et dans la régulation de nombreuses voies de signalisation intracellulaires. Par conséquent, la régulation de la présence de ces protéines à la surface des cellules est un processus important pour le maintien de l'homéostasie fonctionnelle et structurale des cellules. Cette régulation se fait par une internalisation, appelée endocytose, et un recyclage de ces protéines membranaires.

L'endocytose est un processus permettant d'introduire à l'intérieur de la cellule du matériel extracellulaire ou présent à la surface de la cellule par l'intermédiaire de vésicules dérivées de la membrane plasmique. Cette endocytose est régulée par différents mécanismes qui font intervenir des protéines adaptatrices et des manteaux protéiques distincts en fonction des molécules à internaliser. Ainsi on distingue deux grands types d'endocytose: l'endocytose indépendante de la clathrine et l'endocytose dépendante de la clathrine (Figure 1)(Mayor and Pagano, 2007).

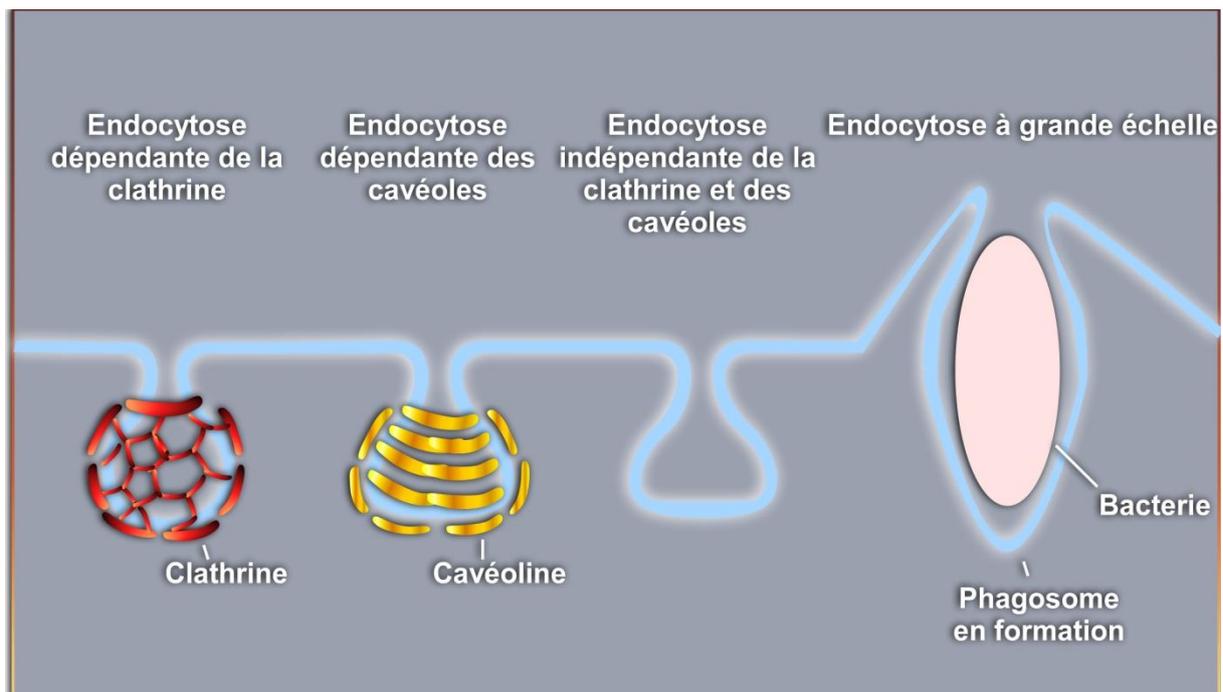


Figure1 : Les différentes voies d'endocytose.

L'internalisation de molécules à l'intérieur des cellules se fait par différentes voies d'endocytose. On retrouve l'endocytose dépendante de la clathrine, l'endocytose dépendante des cavéoles, l'endocytose indépendante de la clathrine et des cavéoles (CLIC/GEEC, flotiline, endophiline...) et l'endocytose à grande échelle (phagocytose, macropinocytose)

Au cours de ma thèse, je me suis plus principalement intéressée à la voie d'endocytose dépendante de la clathrine (Figure 2).

A. L'endocytose dépendante de la clathrine

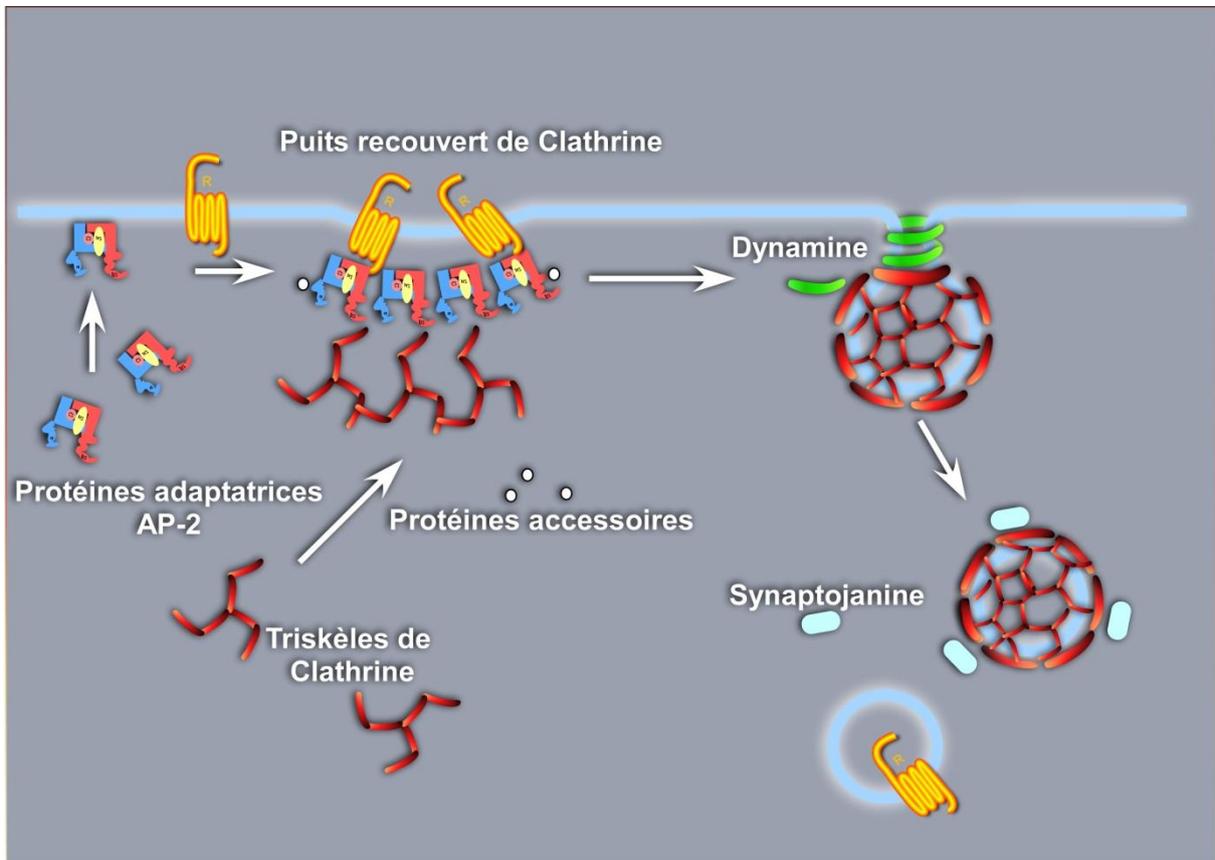


Figure 2: Représentation schématique de l'endocytose d'un récepteur couplé aux protéines G par la voie dépendante de la clathrine.

L'endocytose dépendante de la clathrine permet l'internalisation de certains récepteurs dont les récepteurs couplés aux protéines G. Une fois activés, ces récepteurs se concentrent au niveau de puits en formation et lient les protéines adaptatrice et la clathrine. La dynamine et la synaptojanine sont ensuite recrutées et permettent respectivement la fission de la vésicule et le désassemblage du manteau de clathrine.

1. La clathrine

Les vésicules recouvertes de ce manteau ont été découvertes dans les années 1970 et leur composant majeur fut isolé par Pearse et nommé clathrine (Pearse, 1976). Les vésicules recouvertes de clathrine existent dans toutes les cellules eucaryotes, des levures aux mammifères (Mueller and Branton, 1984).

La clathrine est une protéine composée d'un trimère de chaînes lourdes chacune associée à une chaîne légère et nommé triskèle (Figure 3A) (Kirchhausen, 2000; Ungewickell and Branton, 1981). Les chaînes lourdes possèdent un poids moléculaire de 190kDa et leur séquence est très conservée parmi les espèces (Keen, 1990). Elles se décomposent en 5 domaines dont un domaine N-terminal globulaire, un domaine courbé nommé «genou» qui sépare la partie distale et proximale et une extrémité C-terminale (Figure 3B) (Fotin et al., 2004). Les extrémités C-terminales de chacune des chaînes lourdes se regroupent dans une région centrale pour former le triskèle. Chaque chaîne lourde est en complexe, au niveau de son domaine proximal, avec une des chaînes légères de 25kDa, LC_a ou LC_b codées par des gènes différents. Les chaînes légères se décomposent en 3 domaines: un domaine conservé C-terminal séparé du domaine N-terminal par le domaine central en α hélice. Les triskèles de clathrine s'associent entre eux, par l'intermédiaire des jambes proximales et distales, permettant la formation de cages nécessaires à la déformation de la membrane plasmique (Figure 3C). Ce processus est hautement dynamique et va conduire à la formation d'invagination de la membrane plasmique de forme bulbaire et possédant un diamètre compris entre 80 et 100nm (Figure 4).

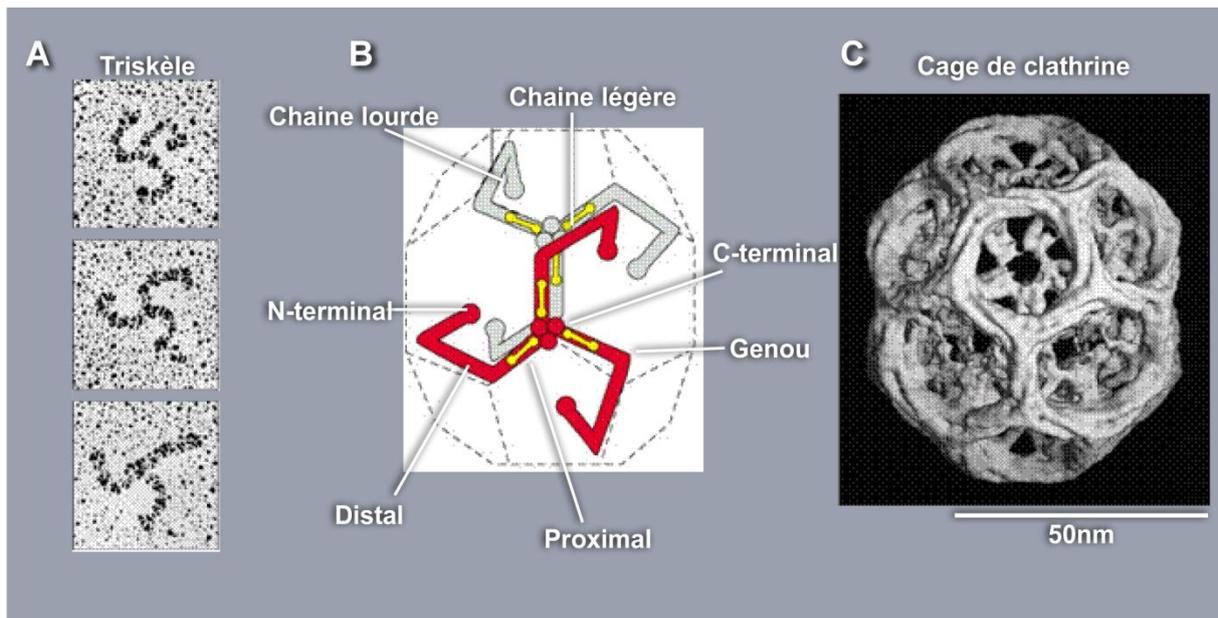


Figure 3: Molécule et cage de clathrine vue en microscopie électronique (Nathke et al., 1992; Smith et al., 1998; Ungewickell and Branton, 1981).

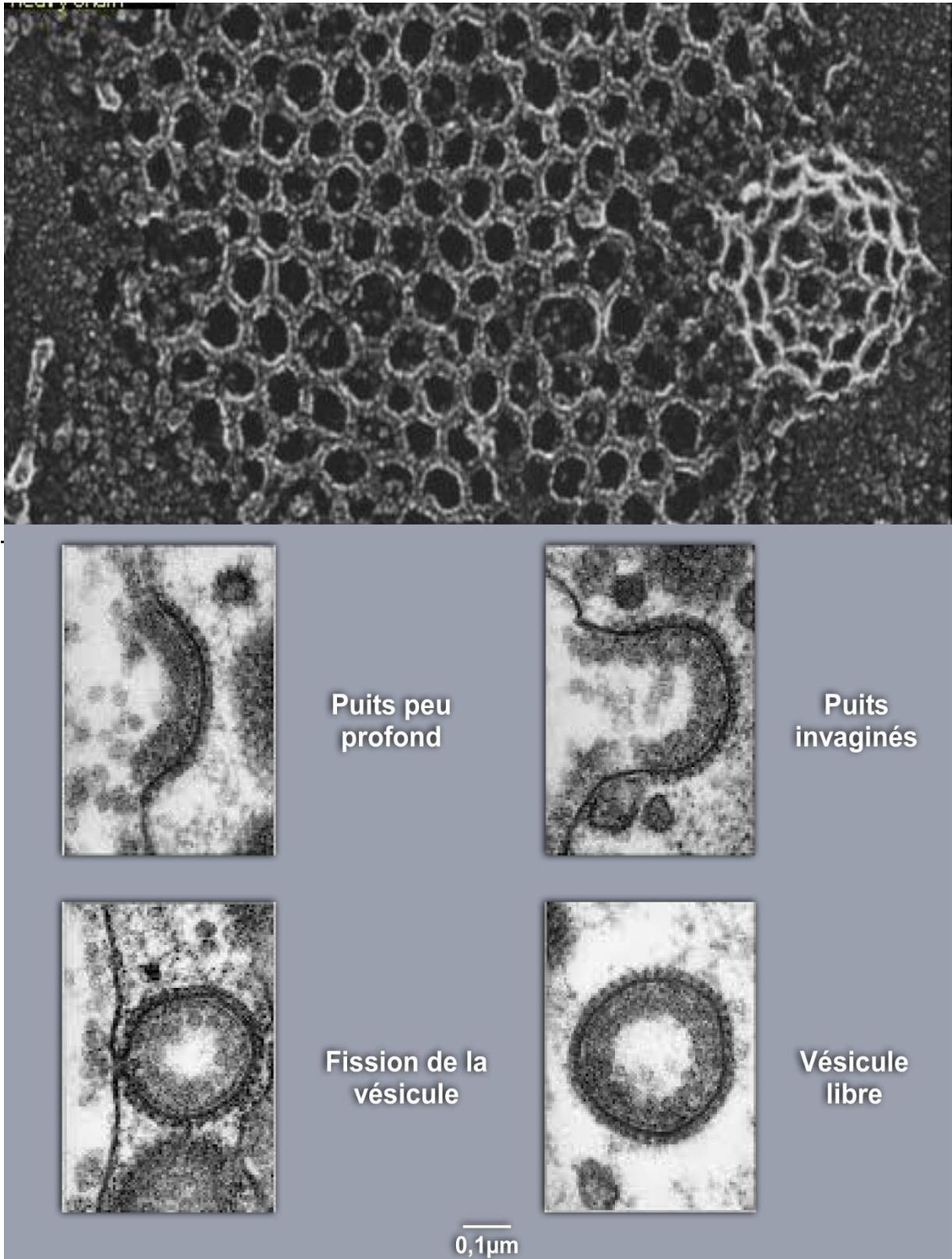


Figure 4: Etapes de formation d'une vésicule recouverte de clathrine observées en microscopie électronique (Heuser et al., 1987; Perry and Gilbert, 1979).

2. Les protéines adaptatrices

Les protéines adaptatrices lient les cargos destinés à être internalisés pour les concentrer au sein des vésicules. Il existe deux types majeurs de complexe adaptateur à la clathrine: les complexes hétérotétramériques de protéines adaptatrices AP et la protéine monomérique GGA (Golgi-localising, Gamma-adaptin ear domain homology, ARF-binding proteins).

La famille des AP est composée de quatre protéines différentes : AP-1, AP-2, AP-3 et AP-4.

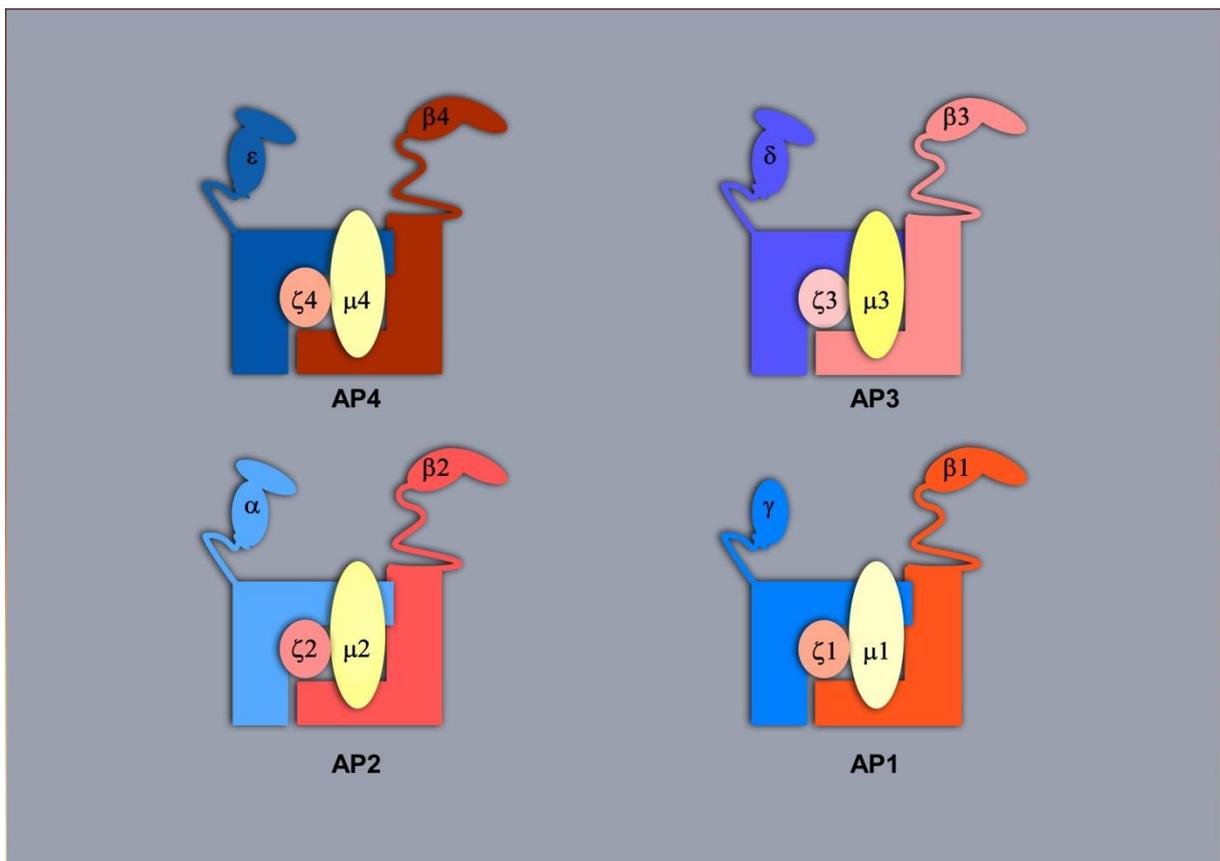


Figure 5 : Représentation schématique des protéines adaptatrices de la famille AP (adaptée de (Mattera et al., 2011)).

Les 4 isoformes de la famille AP sont composés d'une grande sous-unité β , d'une sous-unité variable, d'une sous-unité intermédiaire μ et d'une petite sous-unité ζ .

La famille des AP est composée de quatre protéines différentes : AP-1, AP-2, AP-3 et AP-4. Elles sont formées des complexes hétérotétramériques d'environ 300kDa composés de deux grandes sous-unités (~100 kDa): une sous-unité β et une sous-unité variable (γ pour AP-1, α pour AP-2, δ pour AP-3 et ϵ pour AP-4); d'une sous-unité intermédiaire μ (~50 kDa) et d'une petite sous-unité ζ (~17 kDa) (Figure 5). L'ensemble de ces protéines possède une structure commune qui consiste en un large corps et deux charnières flexibles aboutissant à deux « oreilles » carboxy-terminale (Collins et al., 2002). Les protéines AP-1 et AP-2 sont les premières à avoir été découvertes. Elles sont toutes les deux présentes dans les puits recouverts de clathrine, au niveau du TGN (Trans-Golgi-Network) et des endosomes pour AP-1 et au niveau de la membrane plasmique pour AP-2. Les protéines AP-3 et AP-4 possèdent la même localisation que le complexe AP-1 mais ne sont pas retrouvées au niveau des puits recouverts de clathrine (Robinson and Bonifacino, 2001). Des expériences ont également mis en évidence que les protéines AP-1 et AP-2 possèdent au niveau de leurs sous unités μ des sites de reconnaissance pour les motifs $YXX\Phi$ et $NXX\Phi$ (Φ étant un résidu hydrophobe), présent au niveau de l'extrémité C-terminale des protéines membranaires empruntant la voie clathrine (Traub, 2009). De plus, elles possèdent également des sites de reconnaissances pour les phosphoinositides. AP-1 interagit directement avec le PI(4)P (Phosphatidylinositol-4-Phosphate) (Wang et al., 2003) et AP-2 interagit lui avec le PI(4,5)P2 (Phosphatidylinositol-4,5-diPhosphate) (Rohde et al., 2002). Ces protéines possèdent également au niveau de leur charnière des sites de liaison pour le domaine terminal de la chaîne lourde de la clathrine. Leurs « oreilles » sont capables de lier des protéines accessoires qui vont permettre de réguler la formation du puits recouvert de clathrine, telle que l'auxiline (Owen et al., 1999).

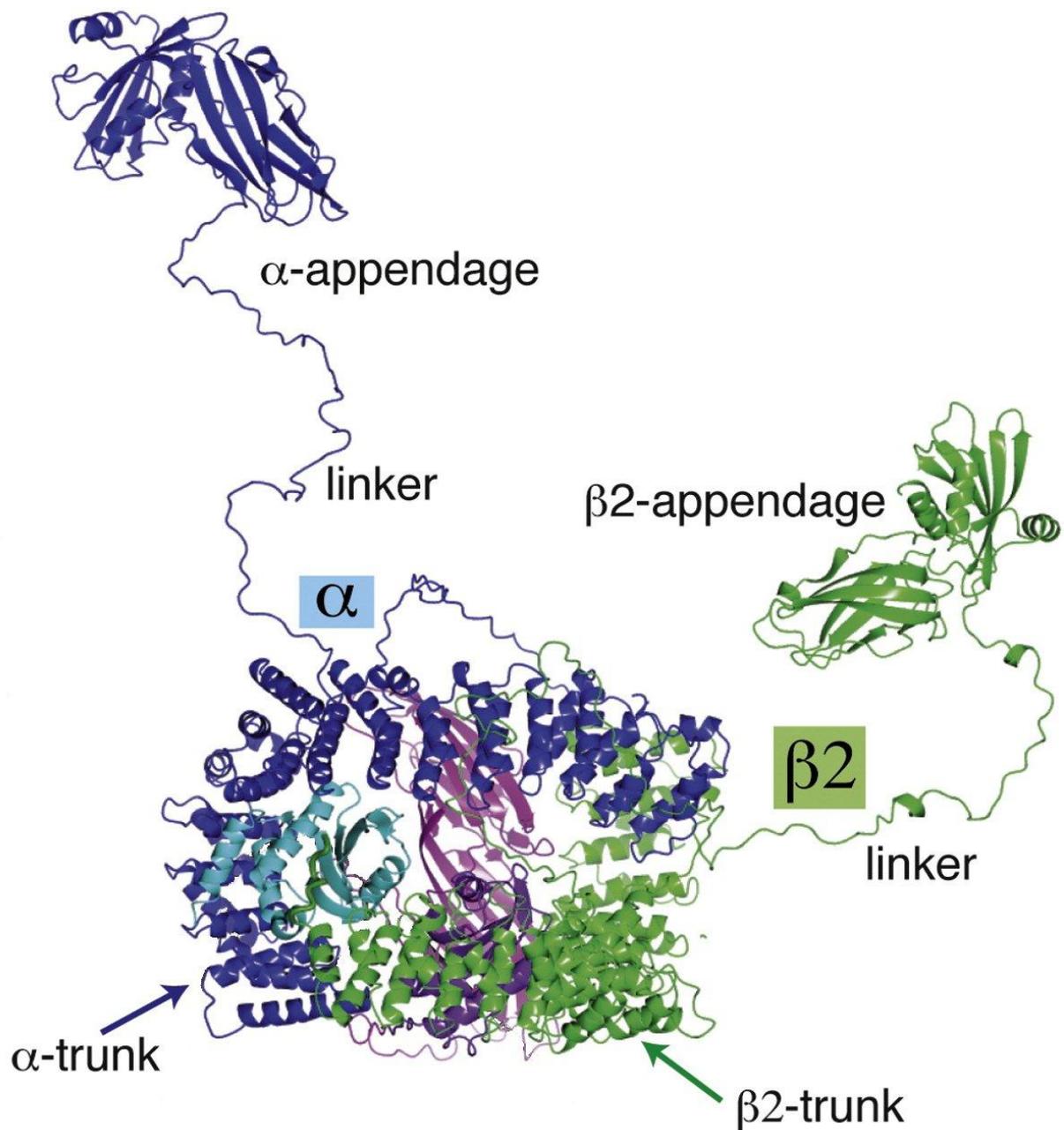


Figure 6 : Protéine adaptatrice AP-2 impliquée dans l'endocytose dépendante de la clathrine (Jackson et al., 2010)).

La sous-unité α est représentée en bleu, la sous-unité β est en vert, la sous-unité μ est en violet et la sous-unité ζ en turquoise.

Il existe trois isoformes de GGAs chez les mammifères et deux chez les levures. Elles partagent une organisation commune. Elles sont composées au niveau N-terminal d'un domaine VHS (Vps27p, Hrs, and STAM) responsable de la reconnaissance du cargo, d'un domaine GAT (GGA and TOM1) permettant l'interaction entre les GGAs et les protéines Arfs activées, d'une région variable possédant un site de reconnaissance à la clathrine et d'un domaine homologue à « l'oreille » de la γ -adaptine au niveau C-terminal recrutant des protéines accessoires régulant l'endocytose dépendante de la clathrine. Les GGAs sont impliquées dans le transport vésiculaire du TGN vers les endosomes et les lysosomes (Bonifacino, 2004).

3. La dynamine

Après la formation du puits d'endocytose recouvert du complexe AP-2/clathrine, la vésicule va devoir se dissocier de la membrane plasmique afin d'être internalisée. La première protéine à avoir été décrite comme impliquée dans le mécanisme de fission membranaire fut la dynamine (Damke et al., 1994; van der Bliek et al., 1993). La dynamine est une protéine de 100kDa possédant une activité GTPasique. Il existe 3 gènes de cette protéine chez les mammifères Dyn1, Dyn2, et Dyn3 codant pour une multitude de variants d'épissage. La dynamine 1 est majoritairement exprimée au niveau des neurones (Ferguson et al., 2007), la dynamine 3 est retrouvée au niveau des testicules (Vaid et al., 2007) alors que la dynamine 2 est quant à elle ubiquitaire (Warnock et al., 1997). La dynamine est composée d'un domaine liant le GTP en N-terminal, un domaine PH (Pleckstrin Homology) capable de lier les phospholipides (Salim et al., 1996) et d'un domaine C-terminal. Ce dernier comporte un domaine GED (GTPase Enhancing Domain), capable de se lier au domaine N-terminal et de stimuler son activité GTPase intrinsèque (Muhlberg et al., 1997), et un domaine riche en proline (PRD) capable de lier la majorité des partenaires de la dynamine (Ringstad et al., 1997). Il existe également une dynamine impliquée dans la fission des mitochondries. Cette protéine est appelée Dnm1 (Dynamamin-related 1) chez les levures (Bleazard et al., 1999) et Drp1 (Dynamamin-related protein 1) chez les mammifères (Imoto et al., 1998; Shin et al., 1997; Smirnova et al., 1998). Les dynamines mitochondriales partagent la même structure à l'exception du domaine riche en proline qui est absent et du domaine PH qui est remplacé

par une séquence appelée Insert B (Figure 7A). La dynamine va se polymériser autour du cou de la vésicule et permettre, de par son activité GTPasique, la fusion des membranes et la scission de la vésicule (Figure 7B) (Morlot and Roux, 2013).

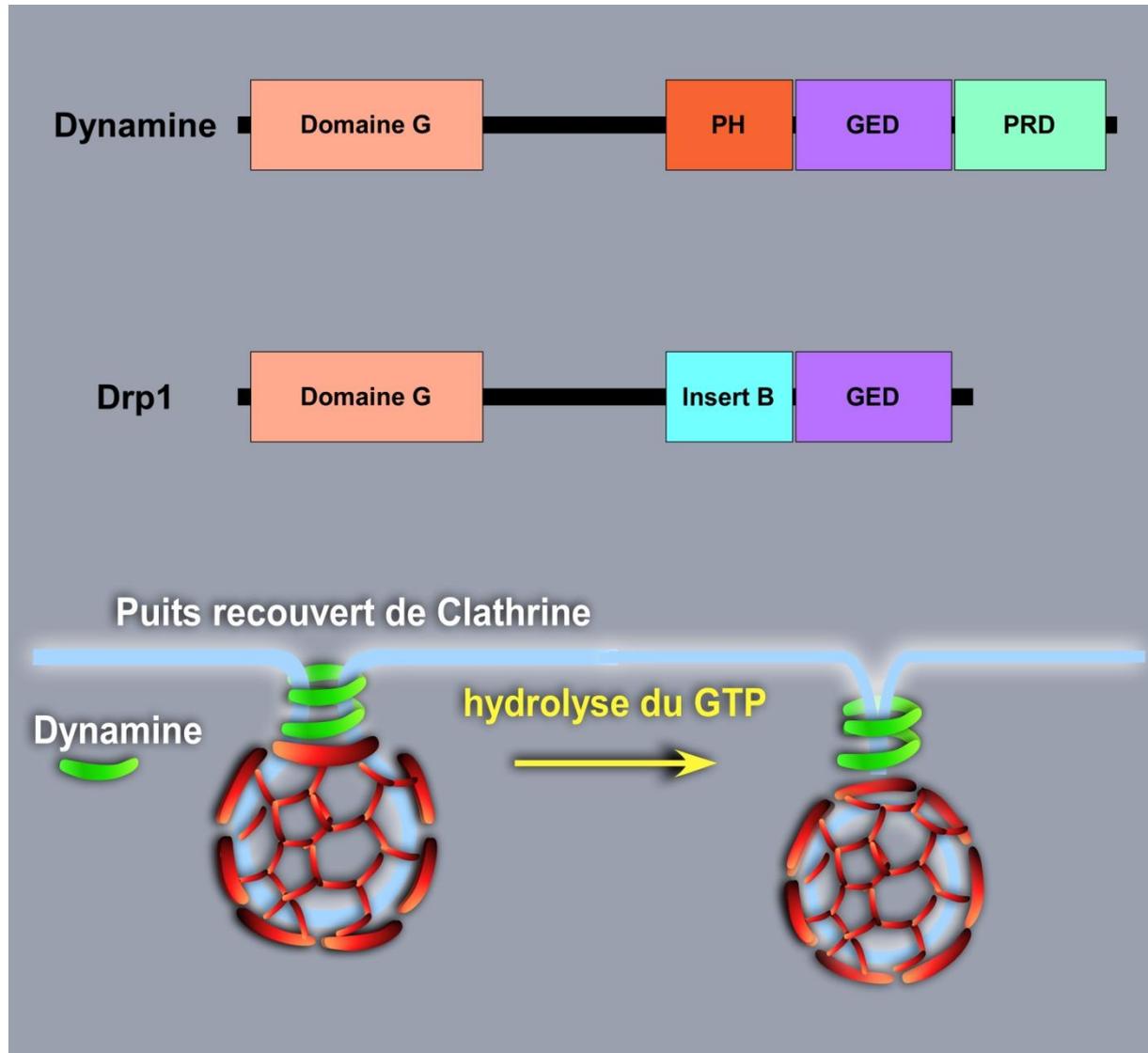


Figure 7: Représentation schématique de l'organisation en domaine et du mode d'action de la dynamine.

La dynamine se polymérise autours du cou de la vésicule en formation et par construction permet sa libération au sein de la cellule.

Domaine G : domaine liant le GTP

PH: Pleckstrin Homology

GED: GTPase Enhancing Domain

PRD: Proline Rich Domain

4. La synaptojanine

Les phospholipides membranaires sont des régulateurs pléiotropes de l'assemblage et du désassemblage du manteau de clathrine. De ce fait, la synaptojanine, une polyphosphoinositides phosphatase joue un rôle important dans l'endocytose dépendante de la clathrine (Cremona et al., 1999; McPherson et al., 1996). Il existe deux synaptojanines chez l'Homme, la synaptojanine 1 spécifique du cerveau et la synaptojanine 2 exprimée dans différents tissus comme le cœur, les poumons et les reins. Elles sont composées de deux domaines phosphatases distincts (McPherson et al., 1996; Rivas et al., 1999), un domaine homologue à Sac1 en N-terminal qui agit sur le PI(3)P, le PI(4)P et le PI(3,5)P₂ (Rivas et al., 1999) et un domaine inositol 5'-phosphatase qui agit sur le PI(4,5)P₂ et PI(3,4,5)P₃ (Changlletto et al., 2011; Cremona et al., 1999). Elles possèdent également un domaine C-terminal dont la séquence diverge entre la synaptojanine 1 et la synaptojanine 2. Ce domaine est composé de séquences riches en Proline qui leur permettent d'interagir avec les domaines SH3 (Src Homology domain 3) de partenaires impliqués, entre autre, dans l'endocytose dépendante de la clathrine, comme l'amphyphysine (David et al., 1996) et l'endophiline (de Heuvel et al., 1997; Ringstad et al., 1997) que je détaillerai dans un prochain paragraphe. L'épissage alternatif de ce domaine donne naissance à deux isoformes pour la synaptojanine 1, une forme courte à 145KDa et une longue à 170KDa (McPherson et al., 1996) possédant une extrémité C-terminale supplémentaire qui interagit avec le complexe adaptateur AP-2 et la clathrine. Une étude a mis en évidence que l'endophiline recrute dans les étapes tardives de l'endocytose dépendante de la clathrine l'isoforme 145KDa (Milosevic et al., 2011; Perera et al., 2006) qui va permettre par déphosphorylation des phospholipides membranaires le désassemblage du manteau protéique. L'isoforme 170KDa est recruté plus précocement (Milosevic et al., 2011; Perera et al., 2006). L'arrivée de la forme longue au niveau des puits recouverts de clathrine, où elle semble jouer un rôle dans leur maturation, précède celle de l'endophiline et de la dynamine et dépend de son extrémité C-terminal.

Chez les souris KO pour la synaptojanine 1 on observe au niveau des terminaisons nerveuses une accumulation de vésicules internalisées recouvertes du manteau de clathrine, confirmant son rôle dans le désassemblage de ce manteau protéique (Cremona et al., 1999;

Luthi et al., 2001). Néanmoins des études suggèrent que la synaptojanine 1 participe en collaboration avec la dynamine à l'étape de fission des vésicules (Chang-Ileto et al., 2011).

La voie d'endocytose dépendante de la clathrine est la voie la plus étudiée et la mieux comprise à l'heure actuelle. Ce phénomène est présent chez tous les eucaryotes et les protéines impliquées dans ce processus sont très conservées. Cette voie est empruntée par un grand nombre de récepteurs transmembranaires. Ces récepteurs sont subdivisés en deux catégories en fonction de leur mode d'internalisation. On distingue ceux internalisés de façon constitutive, indépendamment de la liaison d'un ligand comme le récepteur à la transferrine, et ceux internalisés de manière régulée. Ces derniers nécessitent la fixation de leur ligand pour être internalisés et sont généralement impliqués dans la transmission de signaux intracellulaires. C'est le cas de certains récepteurs couplés aux protéines G sur lesquels je me focaliserai dans ce manuscrit.

5. Les récepteurs couplés aux protéines G

Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) constituent la famille de protéines la plus grande et la plus hétérogène chez les mammifères (Fredriksson et al., 2003; Takeda et al., 2002). Ils représentent environ 1% du génome et contrôlent les grandes fonctions de l'organisme telles que la vision, l'olfaction ou encore la neurotransmission. Les RCPG sont des protéines à 7 domaines transmembranaires (Li et al., 2004; Schertler et al., 1993) qui, suite à leur stimulation, vont permettre le transfert de l'information à travers la membrane cellulaire. Ils sont activés par les photons ou par une multitude de ligands endogènes ou exogènes comme des peptides, des acides aminés, des hormones et des ions. Une fois activés, ces RCPGs vont changer de conformation, lier et activer une famille de protéines: les protéines G hétérotrimériques. Celles-ci sont composées de trois sous-unités : la sous-unité α , qui se lie au GDP à l'état inactif et au GTP quand elle est activée, et les sous-unités β et γ . Les protéines G hétérotrimériques, qui sont liées à l'état inactif, se dissocient en deux complexes suite à leur activation. On retrouve la sous-unité $G\alpha$ liée au GTP et les sous-unités $G\beta\gamma$ (Figure 8). Ces deux parties modulent la concentration de messagers secondaires

intracellulaires et régulent ainsi différentes voies de signalisation afin de répondre au stimulus reçu.

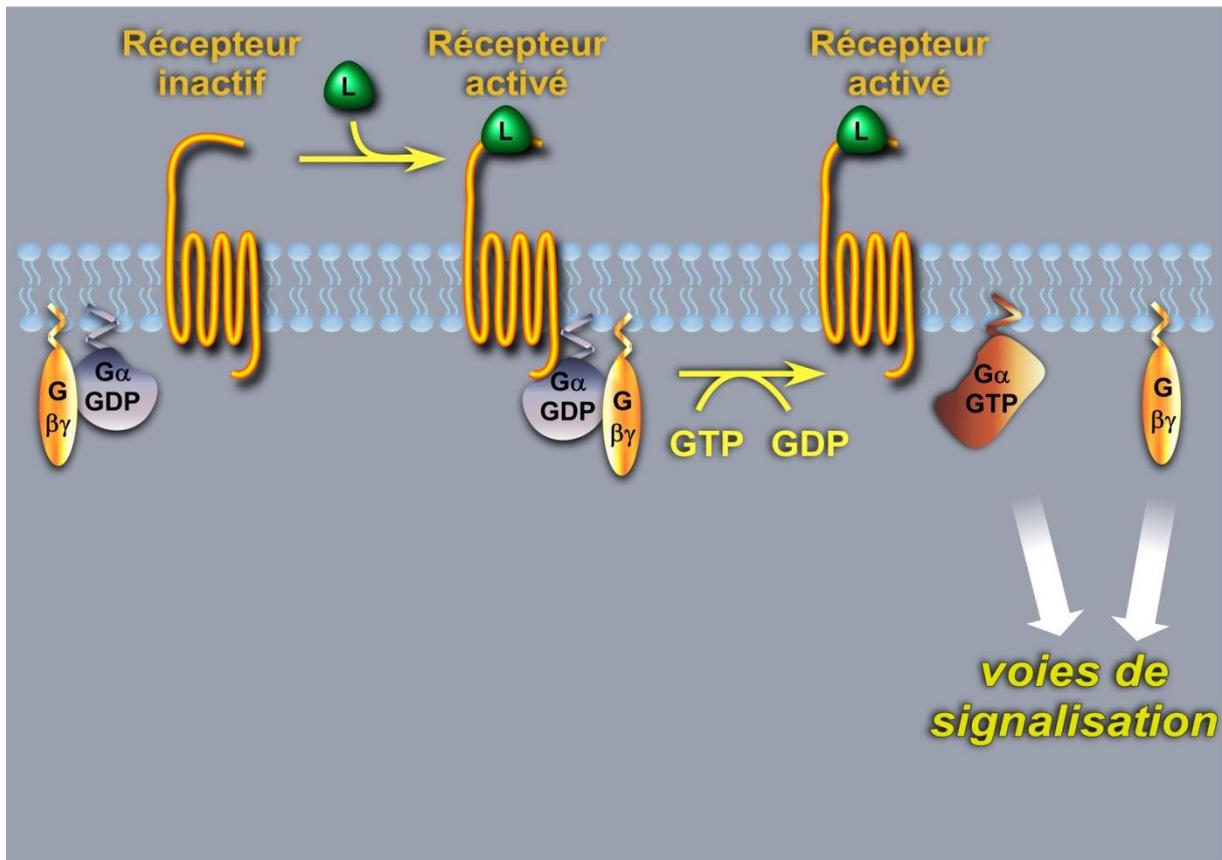


Figure 8: Schéma de l'activation des protéines G hétérotrimériques par les RCPGs.

Une fois activés par leurs ligands, les RCPG changent de conformation. Ceci leur permet de lier et d'activer les protéines G hétérotrimériques. Ces dernières se dissocient en une sous-unité G α liée au GTP et les sous-unités G β et γ et activent ainsi différentes voies de signalisation.

6. Les GRKs (G-protein Receptor Kinase)

Cependant l'activation et la cascade de signalisation induites par la fixation du ligand sur le récepteur ne peuvent pas perdurer dans la cellule afin d'éviter les effets néfastes d'une stimulation prolongée du récepteur. C'est pourquoi l'activité de ces récepteurs est finement régulée. En effet, après stimulation, les RCPGs sont phosphorylés par des protéines kinases, les GRKs (G-protein Receptor Kinase) qui sont des protéines clés dans la désensibilisation des RCPGs. Les GRKs appartiennent à la famille des sérine/ thréonine kinase. A ce jour, 7 GRKs ont été décrites et subdivisées en 3 sous-familles en fonction de leur homologie de séquence : la famille des kinases visuelles (GRK1 et GRK7), la famille des kinases des récepteurs β -adrénergiques (GRK2 et GRK3) et la famille GRK4 (GRK4, GRK5 et GRK6).

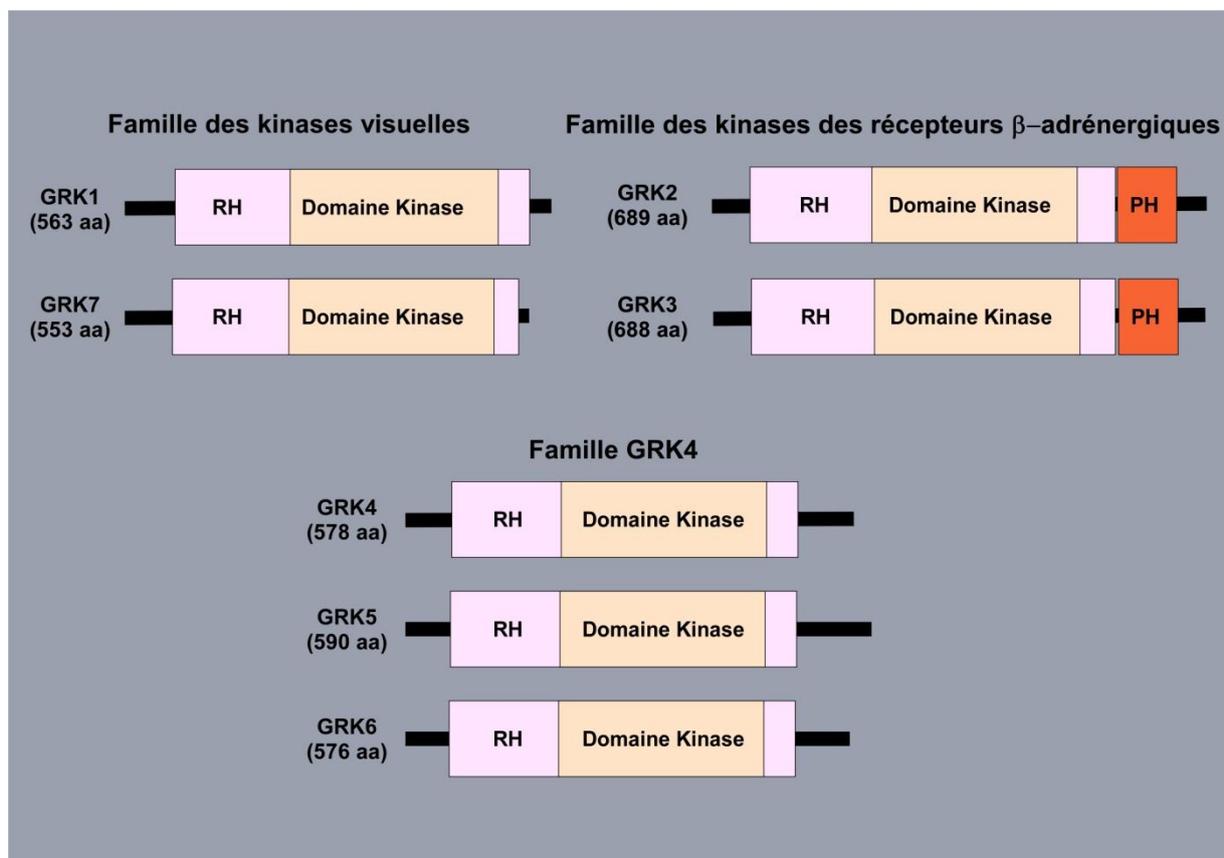


Figure 9: Organisation de la structure en domaines des GRKs (G-protein Receptor Kinase) (adapté de (Sato et al., 2015)).

Domaine RH: Regulator of G-protein signaling (RGS) Homology domain

Domaine PH: Pleckstrin Homology

GRK	Expression	GPCRs Ciblés
1	Rétine	Rhodopsine
2	Ubiquitaire, cœur	Récepteurs β -adrénergiques, angiotensine II type 1
3	Ubiquitaire, épithélium olfactif	Récepteur α 1-adrénergique, Thrombine, récepteurs muscariniques M2 et M3
4	Testicules, rein, cerveau	Dopamine 1
5	Ubiquitaire, cœur	Récepteurs β -adrénergiques, angiotensine II type 1, récepteur muscarinique M2
6	Ubiquitaire	Récepteurs aux chimiokines 4, dopamine 2
7	Rétine	Opsines

Tableau 1 : classification des GRKs exprimées chez les mammifères (adapté de (Belmonte and Blaxall, 2011)).

Ces kinases sont exprimées de manières ubiquitaires à l'exception de GRK1 et GRK7, exprimées au niveau de la rétine, et de GRK4 localisée dans les testicules (Tableau 1). Les GRKs partagent une architecture commune. Elles sont composées d'un domaine central catalytique entouré d'un domaine N-terminal et d'un domaine C-terminal de taille variable. Le domaine N-terminal est très conservé et semble être important pour la reconnaissance du substrat (Garcia-Higuera et al., 1994; Murga et al., 1996). Il possède un domaine d'homologie aux protéines régulatrices de la signalisation des protéines G, nommé domaine RH (Regulator of G-protein signaling (RGS) Homology domain) (Carman et al., 1999; Dhimi et al., 2002; Sallese et al., 2000). Le domaine C-terminal est la région la plus divergente dans la famille des GRK et contribue à leur localisation sub-cellulaire et à leur translocation dépendante de l'agoniste à la membrane plasmique (Kohout and Lefkowitz, 2003; Pitcher et al., 1992; Reiter and Lefkowitz, 2006). En effet le domaine C-terminal des protéines GRK2 et

3 est composé d'un domaine PH capable d'interagir avec les phospholipides de la membrane plasmique et un site de reconnaissance pour la sous-unité $G\beta\gamma$ (Figure 9) (Koch et al., 1993). Les RCPGs, suite à leur activation, sont phosphorylés sur des résidus sérine et thréonine présents dans la queue cytoplasmique ou de la troisième boucle intracellulaire des récepteurs. Cette phosphorylation va permettre d'augmenter l'affinité des RCPGs pour les arrestines et ainsi permettre la liaison de cette dernière.

7. Les arrestines

Les arrestines agissent comme des cofacteurs des GRKs pour désensibiliser les RCPGs. La famille des arrestines est composée de 4 protéines cytosoliques. On retrouve ainsi deux arrestines visuelles exprimées dans la rétine, la V-arrestine et l'arrestine-C exprimées respectivement au niveau des cellules en bâtonnets et en cônes. A celles-ci s'ajoutent deux arrestines exprimées de manière ubiquitaire, la β -arrestine1 (ou arrestine2) et la β -arrestine 2 (ou arrestine3). Les β -arrestines sont composées de deux domaines majeurs, le domaine N et le domaine C auxquels s'ajoute un cœur polaire stabilisé par une queue carboxy-terminale qui bloque la molécule dans sa conformation inactive (Figure 10) (Moore et al., 2007; Shilton et al., 2002). En se liant à l'extrémité C-terminale des RCPGs, elles permettent, par compétition, le découplage du récepteur et des protéines G et par conséquent terminent le signal de transduction induit par la liaison du ligand. Après avoir découplé le récepteur des protéines G, les β -arrestines dirigent ensuite les RCPGs vers la machinerie d'endocytose dépendante de la clathrine. En effet, la liaison des β -arrestines aux récepteurs semble libérer leur extrémité C-terminale qui va leur permettre d'interagir avec la chaîne lourde de la clathrine ainsi que la protéine adaptatrice AP-2 (Figure 11) (Moore et al., 2007; Shilton et al., 2002).

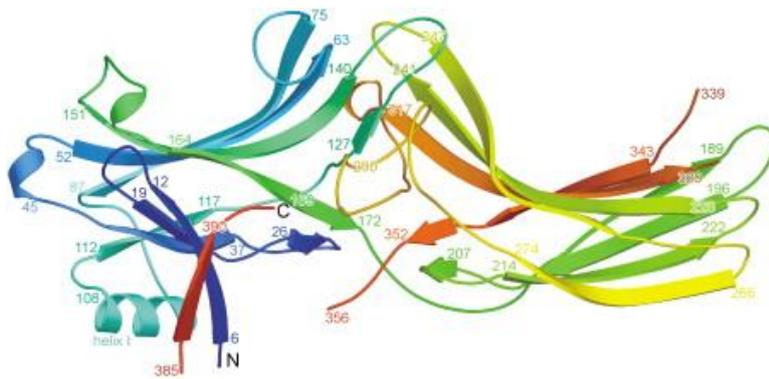


Figure 10: Représentation schématique de la structure 3D de la β -arrestine bovine dans sa configuration inactive (Han et al., 2001).

Les couleurs varient du bleu au niveau du domaine N-terminal au rouge au niveau du domaine C-terminal.

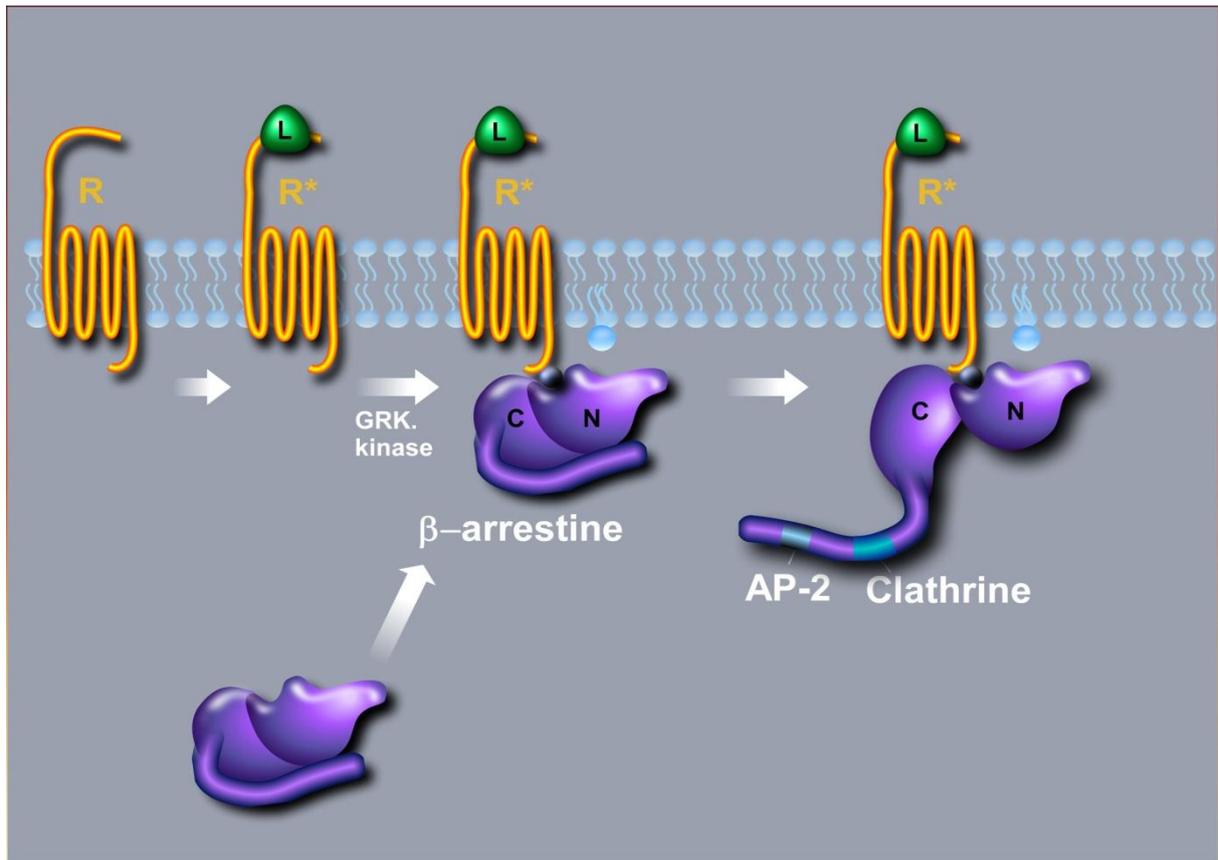


Figure 11 : Modèle d'activation de la β -arrestine après liaison au RCPG activé.

Les RCPGs activés sont phosphorylés par les protéines kinases GRK permettant ainsi le recrutement et la liaison de la β -arrestine aux récepteurs. La β -arrestine activée se change de conformation et libère ses sites de liaison pour la protéine adaptatrice AP-2 et la clathrine.

B. L'endocytose dépendante des cavéoles

L'endocytose indépendante de la clathrine a initialement été décrite comme étant le processus utilisé par les toxines bactériennes pour pénétrer les cellules. Au cours de ces dernières années les études sur cette voie d'internalisation se sont multipliées. Il existe plusieurs types d'endocytose indépendante de la clathrine qui sont soit constitutifs, soit déclenchés par un signal spécifique, soit détournés par des pathogènes.

La voie cavéole représente la voie d'endocytose indépendante de la clathrine la mieux étudiée. Elle fut décrite pour la première fois en 1953 par George E. Palade (Palade, 1953). Les cavéoles sont des invaginations de la membrane plasmique, en forme d'oméga et recouvertes de structures striées ou en spirale (Figure 12). Leur morphologie particulière leur permet de se distinguer facilement des puits recouverts de clathrine. Elles sont abondantes dans de nombreuses cellules eucaryotes et en particulier dans les cellules endothéliales, les fibroblastes, les cellules musculaires et les adipocytes (Nasoy and Lamaze, 2012). Les vésicules formées ont une taille comprise entre 50 et 80nm de diamètre (Parton and Simons, 2007). Les cavéoles sont caractérisées par leur association avec une famille de protéine liant le cholestérol, les cavéolines (Rothberg et al., 1992) qui permettent en association avec une famille de protéines, les cavines, la mise en place et le maintien de ces structures. Il existe 3 isoformes de la protéine cavéoline codés par 3 gènes différents CAV-1, CAV-2 exprimées dans tous les tissus à l'exception du muscle squelettique et CAV-3 exprimé majoritairement au niveau du muscle strié (Parton and del Pozo, 2013). Les cavéolines sont composées d'un domaine C-terminal cytosolique, de deux domaines d'attachement aux membranes entrecoupés d'un domaine transmembranaire et d'un domaine d'oligomérisation (Cohen et al., 2004) (Figure 13). Les cavéoles sont composées de 140 à 150 cavéolines 1 qui ont été décrites comme étant nécessaires et suffisantes à la formation de ces structures. Les cavéolines 1 et 2 vont s'associer entre-elles au niveau de l'appareil de Golgi pour former un microdomaine plat qui va ensuite migrer vers la membrane plasmique. C'est alors que les cavines vont intervenir. Il existe 4 isoformes des cavines chez les mammifères, la cavine 1 qui comme la cavéoline 1 est essentielle à la formation de toutes les cavéoles, la cavine 2 et la cavine 3 enrichies au niveau des poumons et du tissu adipeux et la cavine 4 qui est spécifique du muscle (Echarri and Del Pozo, 2015). Le microdomaine des cavéolines va alors s'associer avec la cavine 1 pour former un complexe qui est essentiel

pour la formation des cavéoles. La cavine 1 va ensuite interagir soit avec la cavine 2 soit avec la cavine 3 en fonction du tissu dans lequel les cavéoles sont formées.

La formation et la morphologie de ces structures sont également contrôlées par la Pacsin2 une protéine à domaine F-BAR (Fer-cyp4 Homology) capable de lier et de déformer les membranes (Hansen et al., 2011). Des études ont mis en évidence que la Pacsin2 est capable d'interagir avec la cavéoline 1 et que la perte d'expression de la Pacsin2 dans les cellules entraînait une diminution de la densité des cavéoles. La Pacsin2 semble intervenir au niveau de la membrane plasmique dans le processus par lequel les microdomaines de cavéolines vont atteindre cette morphologie caractéristique des cavéoles. Le cholestérol, lui, joue un rôle dans la formation de ces cavéoles en contrôlant la transcription de la cavéoline 1 (Bist et al., 1997; Fielding et al., 1997). La fission des vésicules formées par les cavéoles se fait par l'intermédiaire de la dynamine.

Cependant, le mécanisme précis par lequel les cavéolines s'associent entre elles et avec les autres partenaires pour former la structure caractéristique des cavéoles n'est pas entièrement compris. De plus, la voie des cavéoles ne possède pas de cargos spécifiques ce qui rend son étude compliquée.

Des études récentes ont montré que les cavéoles, en plus de leur rôle dans l'endocytose, sont importantes pour la régulation de différentes voies de signalisation, pour l'homéostasie des lipides (Okamoto et al., 1998) et le maintien de l'intégrité de la membrane plasmique au cours de stress mécaniques. Des expériences ont mis en évidence que la perte d'expression par knockout des différentes protéines impliquées dans cette voie, et notamment celle de la cavéoline 1, entraînait une insulino-résistance et des défauts de signalisation de l'insuline chez les souris (Cohen et al., 2003). On constate également des problèmes de vascularisation en absence de cavéoles, compliquant les études visant à déterminer le mécanisme à l'origine de ce phénotype insulino-résistant. Des mutations de la cavéoline 1 ont été décrites chez l'homme. On constate chez ces sujets, de manière similaire aux souris, une lipodystrophie et une insulino-résistance (Garg and Agarwal, 2008; Hayashi et al., 2009; Liu et al., 2008). Par ailleurs, les sujets possédant une mutation de la cavine 1, qui participe notamment à la formation des cavéoles au niveau du muscle cardiaque, développent entre autres des myopathies et des arythmies cardiaques (Ardissone et al., 2013).

Des expériences de microscopie électronique ont mis en évidence que les cavéoles se retrouvent associées aux fibres de stress composées d'actine dans différentes lignées

cellulaires (Rothberg et al., 1992; Valentich et al., 1997) et que ce phénomène se faisait probablement par l'intermédiaire de la filamine A (Stahlhut and van Deurs, 2000; Sverdlov et al., 2009), un « cross-linker » de l'actine. Les forces mécaniques activent entre autres, au sein de la cellule, les protéines RhoA (Ras homolog gene family A), Erk (Extracellular signal-regulated kinases), Akt et Enos (Endothelial Nitric Oxide Synthase) et les cavéoles ont été décrites comme jouant un rôle dans ce processus d'activation (Grande-Garcia et al., 2007). Les protéines Cavine 1 et Cavine 4 sont capables de réguler positivement RhoA qui est un acteur majeur dans la réorganisation du cytosquelette d'actine et le contrôle de la contractilité de l'actomyosine. Des expériences ont également mis en évidence que le désassemblage des cavéoles permettait aux cellules de répondre au stress mécanique (Sinha et al., 2011). L'exposition des cellules à un stress mécanique aigue entraîne un désassemblage des cavéoles, une diminution de l'interaction entre les cavéolines et les cavines et une augmentation de la quantité de cavéolines libres à la membrane plasmique.

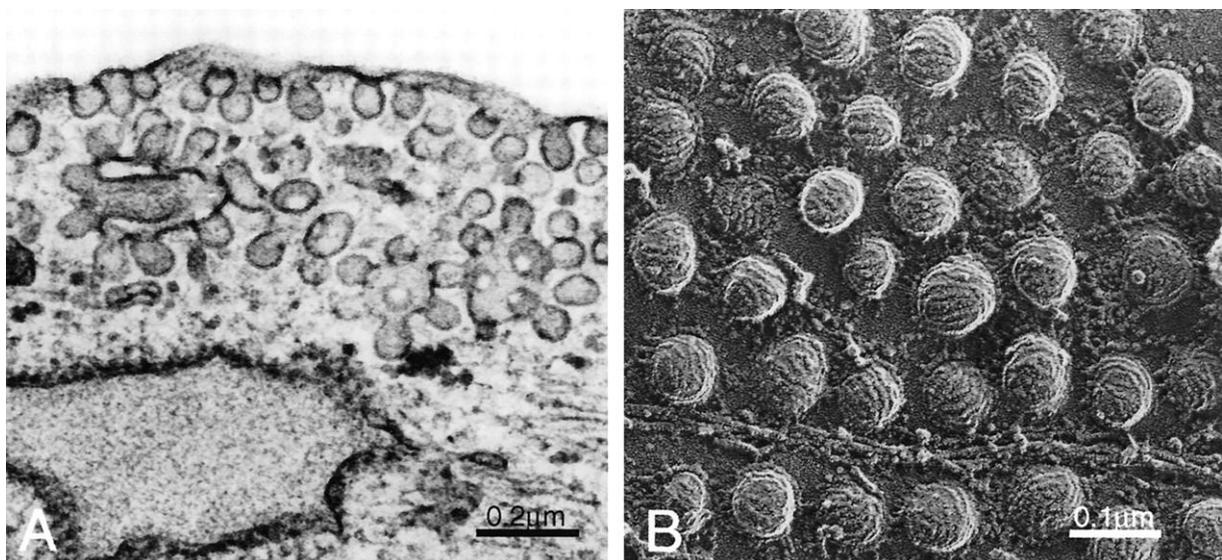


Figure 12: Structure des cavéoles (Shaul and Anderson, 1998).

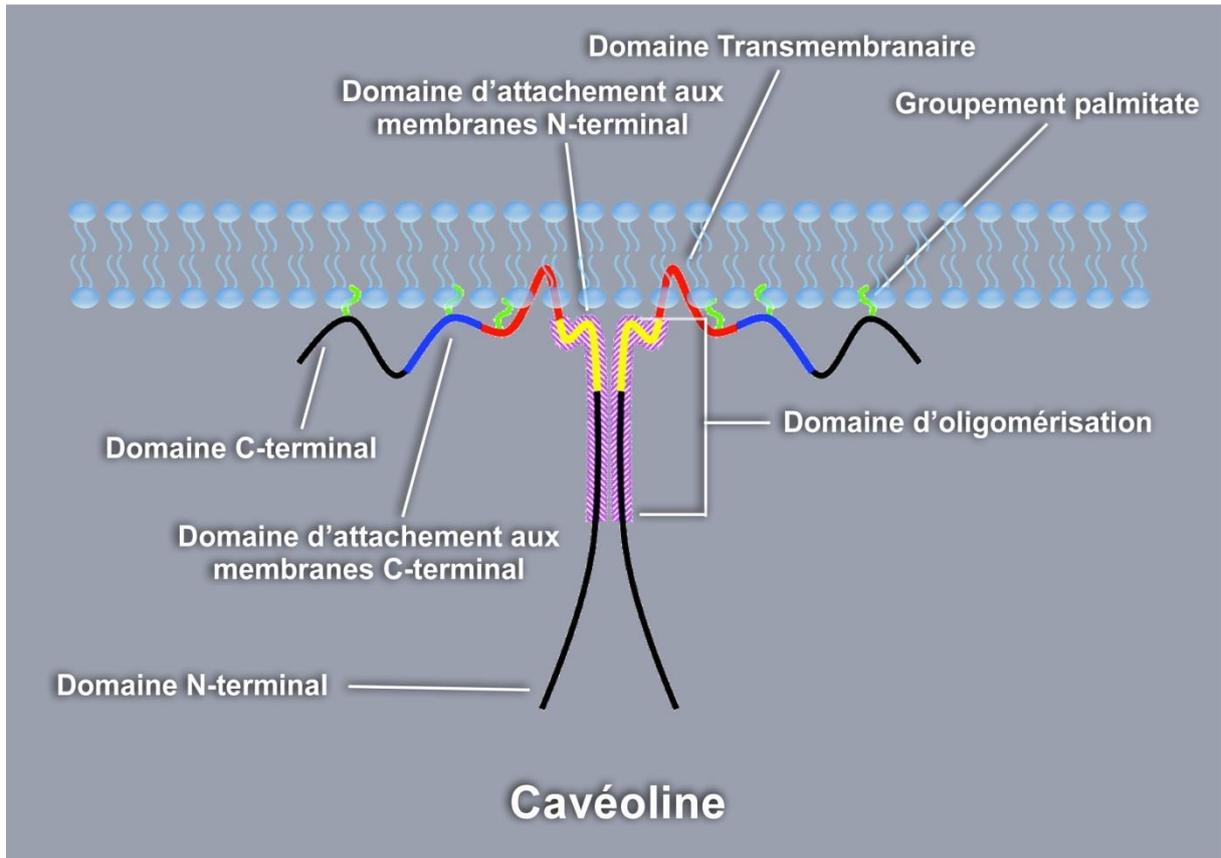


Figure 13: Représentation schématique des cavéolines (adaptée de (Cohen et al., 2004)).

La cavéoline est composée de différents domaines dont un transmembranaire et un domaine lui permettant de s'oligomériser.