Abstract :

L'endocytose est une voie ancienne qui régule la communication de la cellule avec son environnement. Au cours de ce processus, la membrane plasmatique est déformée dans une séquence contrôlée: une membrane plate forme une invagination qui subit une scission pour produire une vésicule remplie de cargaison. Casser l'invagination de la membrane pour former une vésicule est peut-être la transition de forme la plus spectaculaire de ce développement. Cela a excité un grand nombre de publications sur la cause de la scission de la membrane. Les travaux sur les cellules de mammifères ont convergé vers un mécanisme de scission basé sur la constriction du col de la membrane par la dynamine GTPase. Une compréhension claire de ce qui cause la scission reste incomplète pour le réseau endocytaire beaucoup plus simple dans les cellules de levure.

Dans cette thèse, j'étudie le mécanisme de la scission membranaire chez Saccharomyces cerevisiae et les protéines impliquées en combinant la mutagenèse avec l'imagerie de cellules vivantes de protéines marquées par fluorescence.

Les sites d'endocytose sont très stéréotypés chez la levure, recrutant environ 50 protéines, la plupart avec des homologues mammifères, dans une séquence très spécifique. Ces protéines peuvent être affectées à des modules séparables en fonction de leur rôle dans l'endocytose. Les membres du module manteau arrivent lorsque la membrane est encore plate et forment le gabarit pour invagination. Les régulateurs d’actine arrivent plus tard et produisent les forces nécessaires pour remonter la membrane. Les protéines de scission arrivent à la fin de la chronologie et régulent la formation des vésicules.

Le complexe de domaine BAR de levure Rvs est un régulateur important de la scission: dans les cellules sans Rvs, l'efficacité de la scission diminue de près de 30%. Les 70% d'invaginations qui subissent une scission dans les cellules forment des vésicules plus petites que d'habitude. Rvs semble donc réguler à la fois le moment et la probabilité de scission, mais il n'a pas été clair comment cela se passe, ou comment il est recruté pour les tubes à membrane en premier lieu.

Je trouve que la localisation de Rvs est chronométrée par son domaine BAR. Le domaine BAR détecte une forme de membrane particulière et Rvs est recruté uniquement sur les sites endocytaires une fois que cette forme est acquise. De manière surprenante, l'efficacité et la localisation de la localisation sont affectées par un second domaine de Rvs167, le domaine SH3. Ce domaine facilite le recrutement de Rvs et couple probablement le réseau d'actine à la scission des vésicules, ce qui déclenche le désassemblage du réseau d'actine une fois que la scission se produit.

Plusieurs modèles ont été proposés pour ce qui finit par causer une scission. Je teste les prédictions de certains de ces modèles. Je trouve que les forces générées par la dynamine et l'hydrolyse des lipides ne conduisent pas à la formation de vésicules. Le temps de scission est également indépendant du nombre de domaines BAR recrutés dans les tubes membranaires, et ne dépend donc pas de la rupture membranaire dépendante de la concentration de BAR. Ce moment est plutôt régulé par la quantité d’actine au niveau des sites endocytaires, et donc par l’ampleur des forces générées sur la membrane. Il semble y avoir un seuil de force sur lequel la membrane se rompt de manière fiable. La fonction de Rvs est d'échafauder la membrane et d'empêcher la scission avant que cette force ne soit générée, permettant ainsi la formation fiable de vésicules.