Abstract :

L'endocytose est une voie ancienne qui régule la communication de la cellule avec son environnement. Au cours de ce processus, la membrane plasmique est déformée dans une séquence contrôlée: une membrane plate forme une invagination qui subit une scission pour produire une vésicule contenant une cargaison. La rupture de la membrane pour former une vésicule est peut-être le changement de forme le plus spectaculaire de ce processus. Cela a entraîné 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 GTPase dynamine. Une compréhension claire de ce qui cause la scission reste incomplète pour le réseau endocytaire beaucoup plus simple de la 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 protéines marquées par fluorescence dans des cellules vivantes.

Les sites d'endocytose sont très stéréotypés chez la levure, recrutant environ 50 protéines, la plupart avec des homologues mammifères, selon 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 définissent le site de la future invagination. Les régulateurs de l’actine arrivent plus tard et produisent les forces nécessaires pour étirer la membrane. Les protéines de scission arrivent à la fin de la chronologie et régulent la formation des vésicules.

Chez la levure, le complexe à domaines BAR 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 parviennent à la scission forment des vésicules plus petites que d'habitude. Rvs semble donc réguler à la fois le moment et la probabilité de scission, mais l’on ne connaît ni le mécanisme sous-jacent, ni comment le complexe est recruté dans les tubes de membrane en premier lieu.

Je montre que la localisation de Rvs est déterminée par son domaine BAR. Le domaine BAR détecte une forme de membrane particulière et Rvs est recruté uniquement sur les sites endocytaires une fois cette forme acquise. De manière surprenante, l'efficacité de la localisation et la localisation elle-même 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 la cause de la 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 causent pas la formation de vésicules. Le moment de la scission est également indépendant du nombre de domaines BAR recrutés dans les tubes membranaires : la rupture membranaire n’est donc pas déclenchée par 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 au-dessus duquel la membrane se rompt de manière fiable. La fonction de Rvs est de soutenir la membrane et d'empêcher la scission avant que cette force ne soit générée, permettant ainsi la formation fiable de vésicules.