

# BIOLOGIE CELLULAIRE : ORGANISATION ET FONCTIONS DE LA CELLULE ; PATHOGÈNES ET RELATIONS HÔTES/PATHOGÈNES

*Président de la section*

Henri VIAL

*Membres de la section*

Jesus AYALA SANMARTIN

Éric BAILLY

Nicole BORDES

Annie BOSCH-SAVARY

Nadine CAMOUGRAND

Philippe CHAVRIER

Mounira CHELBI-ALIX

Sophie CRIBIER

Philippe FORT

Jean-Marc GALAN

Odile KELLERMANN

Patricia KRIEF

Norbert LATRUFFE

Rob RUIGROK

Marc SITBON

Stanislas TOMAVO

Germain TRUGNAN

Jacques VAILLIER

Jean VELOURS

La cellule représente le premier niveau d'intégration du fonctionnement du vivant et à ce titre elle est naturellement placée au cœur d'un réseau d'interfaces conceptuelles et technologiques, associant les disciplines biologiques (biochimique, moléculaire, cellulaire, physiologie, développementale), et intégrant maintenant couramment la biophysique et la bioinformatique.

Les équipes rattachées à la section 23 du Comité National travaillent dans ce contexte d'interface. Les thèmes scientifiques de notre section sont en effet dominés par la recherche de convergences entre des approches multiples qui toutes encourent à une meilleure compréhension de la cellule, en tant qu'entité et dans ses relations avec le microenvironnement. La biologie cellulaire, longtemps descriptive, est actuellement dans une phase d'analyse fonctionnelle, principalement grâce aux outils développés en biologie moléculaire et au développement des techniques d'imagerie. La cellule représente maintenant un objet d'études multidisciplinaires, intéressant autant biologistes, cliniciens, physiciens que chimistes. À la perception initiale et figée des années 60 se sont substituées d'autres représentations, englobant en particulier les aspects de dynamique, d'interaction avec l'environnement et de signalisation. Dans ce contexte général, les équipes de la section 23 développent des

recherches qui peuvent être regroupées selon les axes suivants :

- approfondir notre compréhension de l'organisation structurale, dynamique et fonctionnelle de la cellule ;

- organisation et bioénergétique des membranes cellulaires : membranes et domaines membranaires, protéines membranaires,

- compartiments cellulaires : biogenèse des organites, trafic intracellulaire, cytosquelette,

- compartiments nucléaires et sub-nucléaires : transport nucléo-cytoplasmique, couplages entre expression et transport, duplication et ségrégation en mitose.

- intégrer le fonctionnement cellulaire dans son environnement ;

- devenir cellulaire, signalisation et dynamique intracellulaire,

- signalisation, développement, organogénèse et physiopathologies,

- biologie des agents infectieux (virus, bactéries parasites et prions) en conditions pathogènes ou pas,

- relations hôtes-agents infectieux : transmission, invasion, multiplication ; virulence ; et défenses non immunes de l'hôte ; variabilité, polymorphisme et mécanismes d'échappement à la réponse de l'hôte.

Dans les pages suivantes, nous résumons les évolutions conceptuelles, les progrès récents et décrivons les perspectives dans quelques domaines importants de la biologie cellulaire.

## **1 – ORGANISATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE**

La révolution technologique de la fin du xx<sup>e</sup> siècle a bouleversé notre vision compartimentalisée et statique de la cellule en mettant

en avant les interactions dynamiques entre des sous-domaines membranaires pouvant être conçus comme un continuum plutôt que des compartiments distincts (par exemple l'interface Golgi-TGN-endosome-membrane plasmique). La mise en place de ces interfaces est sous-tendue par la réalisation de fonctions spécifiques dépendant de l'organisation des composants moléculaires (protéines, lipides, glycanes, acides nucléiques) en réseaux. L'avènement de techniques innovantes permet d'identifier ces molécules (spectrométrie de masse), de déterminer leur structure (RMN, cristallographie), leurs interactions (biacore, TAP-tag, double-hybride, bioinformatique) et de les réintégrer dans la dynamique cellulaire (microscopies, FLIM, FRET, FRAP, reconstruction 3D, 4D, 5D). Enfin, la période récente a vu le développement de méthodologies puissantes à haut-débit permettant de dresser un tableau global des interactions fonctionnelles des « compartiments » de la cellule (interactome, siRNA).

Cette vision dynamique de la compartimentation cellulaire qui émerge de façon significative dans les laboratoires de la section 23, doit permettre :

- i) l'intégration des avancées de la bioénergétique dans le fonctionnement dynamique des compartiments de la cellule ;

- ii) l'appropriation par les biologistes des découvertes récentes de la biophysique des structures cellulaires ;

- iii) une meilleure compréhension des interactions de la cellule avec son environnement dans des conditions physiologiques et pathologiques, en particulier dans le contexte d'une infection et des relations hôtes-pathogènes.

### **1.1 MEMBRANES, PROTÉINES MEMBRANAIRES ET BIOÉNERGÉTIQUE**

- L'activité de recherche de ces thématiques est répartie sur 34 équipes dépendant de la

section 23 ce qui représente environ 50 chercheurs CNRS auxquels on peut ajouter un nombre équivalent d'enseignants chercheurs.

Les membranes (constituées de bicouches lipidiques associant des protéines) définissent les compartiments de la cellule, à commencer par la cellule elle-même, permettant d'entretenir des différences de composition, de concentrations ioniques, de potentiel électrochimique. Elles jouent donc un rôle crucial dans l'organisation cellulaire. Les fonctions des organites et des structures membranaires sont extrêmement variées : sites de synthèse et d'assemblage, relais ou vecteur du trafic intra et inter cellulaire, usines de dégradation, sièges des réactions de production d'ATP (respiration et photosynthèse). À quoi il convient évidemment d'ajouter les mécanismes de propagation et de transmission de l'influx nerveux.

Les protéines membranaires ont une spécificité structurale : elles possèdent des domaines hydrophobes et leur organisation tridimensionnelle, comme leurs modalités d'assemblage sont fortement conditionnées par l'alternance de régions hydrophiles et hydrophobes. Les objectifs poursuivis par les chercheurs dans ce domaine se situent sur des plans très différents selon l'état d'avancement du système étudié : à un extrême, on mène une recherche de type protéomique, dont la finalité est d'identifier de nouvelles protéines, puis d'en déterminer la fonction ; à l'autre extrême, on a affaire à des complexes membranaires dont la structure et la fonction sont connues avec un grand raffinement et qui tendent à devenir des modèles d'étude physicochimiques.

- Les protéines membranaires sont beaucoup plus difficiles à purifier et à cristalliser que les protéines hydrosolubles, en raison de leur hydrophobicité. Elles doivent être solubilisées avec l'aide de détergents, ce qui rend le processus de cristallisation délicat, nécessite des protocoles spécifiques à chaque protéine. Il s'agit souvent de complexes de grande masse moléculaire, associant de multiples sous-unités. En outre, la purification de quantités de matériel suffisantes pour envisager la cristallisation est souvent problématique. Il y a donc un « retard » considérable dans l'obtention

de structures de ces protéines en comparaison avec celles des protéines solubles. La première structure de protéine membranaire a été obtenue en 1984 et à ce jour (septembre 2006) 114 structures ont été déterminées. Cet état de fait doit toutefois être nuancé de façon très significative pour les raisons suivantes :

Tout d'abord, on a vu au cours des dix dernières années paraître les structures de bon nombre de protéines membranaires de première importance. C'est le cas notamment pour la plupart des complexes majeurs de la bioénergétique : Le centre réactionnel bactérien, prix Nobel de Michel, Huber et Deisenhofer, les centres de types I et II de la photosynthèse oxygénique, le complexe bc1 (deux équipes américaines), la cytochrome-c oxydase (Michel à Francfort), la partie principalement non-membranaire (F1) de l'ATP-synthase mitochondriale (Walker à Cambridge), mais aussi, récemment, le dodécamère qui est le rotor du moteur à protons F0. Mentionnons aussi le transporteur d'adénine nucléotide mitochondrial (Éva Pebay-Peyroula à l'IBS Grenoble), le cytochrome b6f (Daniel Picot à l'IBPC, Paris), la bactériorhodopsine, le canal facilitateur du glycérol, l'aquaporine, et surtout le canal à potassium (Ca<sup>2+</sup> dépendant) dont la structure (MacKinnon) permet d'élucider le mécanisme d'ouverture et la sélectivité.

La cristallisation 3-D des protéines membranaires est difficile, cependant ces protéines présentent l'avantage spécifique de se prêter souvent à une cristallisation 2-D dans une membrane native ou artificielle. Ce type de réseaux est analysé en microscopie électronique et permet de résoudre la structure tridimensionnelle (à une précision toutefois inférieure à celle de la cristallographie X). Plusieurs laboratoires participent avec succès aux développements et applications de ces technologies et leur dissémination en France. Cette méthodologie a été appliquée avec succès, notamment à la bactériorhodopsine, aux complexes protéine-pigments (antennes) et au supercomplexe de la photosynthèse bactérienne. Une structure à 8 Å du complexe de translocation de protéines Sec vient d'être publiée. Les progrès des techniques de micro-

scopie électronique (cryomicroscopie, canon à émission de champ, tomographie) associées à ceux des techniques de traitement d'images, permettent également d'obtenir d'importantes informations structurales sur des systèmes non-cristallins. De même, la microscopie de force atomique permet aussi d'accéder à la structure de protéines reconstituées dans une bicouche lipidique. Là encore au prix d'une moindre résolution, mais avec l'avantage de pouvoir traiter des arrangements multimoléculaires dans leur environnement membranaire physiologique.

Enfin, il faut souligner que dans le cas de la photosynthèse, domaine où excellent plusieurs équipes françaises, les études fonctionnelles et spectroscopiques ont souvent fourni des informations structurales très précises (distances, orientations de cofacteurs, existence de supercomplexes) avant leur confirmation par les méthodes structurales. Il est également vrai que la résolution des structures a toujours apporté des informations inattendues de première importance (quasi-symétrie des centres réactionnels, mobilité de la protéine de Rieske du bc1, par exemple). Dans ce domaine comme dans d'autres, c'est la synergie des diverses approches (études fonctionnelles et spectroscopiques, approches biochimiques, mutagenèse dirigée, cristallisation 2 et 3D) qui a permis des progrès souvent spectaculaires.

Au total, on peut dire qu'en dépit des difficultés spécifiques aux protéines membranaires, c'est parmi elles que l'on trouve certains des objets complexes les mieux compris de la biologie (centres réactionnels photosynthétiques, bactériorhodopsine, cytochrome oxydase) ou en passe de le devenir (canal K<sup>+</sup>, ATP-ase, complexes bc1 ou b6-f).

Ces apports issus de la biologie structurale viennent ensemencer une discipline ancienne présente depuis toujours dans notre section : la bioénergétique. Notons les études sur les mécanismes de dissipation d'énergie (*Uncoupling Proteins* UCP). On peut aussi évoquer un cas paradigmatique qui est celui de l'ATP-synthase. Dans les années 70, Mitchell (Nobel 1978) élabore le concept de couplage osmo-chimique dans les mitochondries et les

chloroplastes. Des travaux d'enzymologie fonctionnelle (Boyer, Nobel 1997) ont abouti au modèle d'un moteur rotatif (stator, rotor) de mieux en mieux décrit (Walker, Nobel 1997, Kinoshita). On est ainsi passé en une vingtaine d'années d'une série d'hypothèses audacieuses et vivement controversées à un objet nanotechnologique (un double moteur mécanico-chimique parfaitement couplé) connu à la résolution atomique et observable à l'échelle du complexe individuel.

## Perspectives

### **Cristallisation et études structurales.**

Nous avons souligné les difficultés spécifiques aux protéines membranaires mais aussi le bond en avant en bioénergétique que permet la résolution de la structure quand elle aboutit. Le caractère long et aléatoire des recherches dans ce domaine (avec ce que cela implique comme déficit de publications) est probablement à l'origine du retard relatif des États-Unis et de la bonne place de l'Europe (Allemagne et GB), sans que la France ait su tirer profit de l'avantage potentiel que son système de recherche pouvait représenter dans une telle conjoncture.

**Études physiques.** Certaines protéines membranaires effectuant des fonctions particulièrement complexes, sont devenues, nous l'avons dit, des objets parmi les mieux connus de la biologie. Ces objets dont l'étude n'est pas achevée deviennent de véritables « laboratoires » de physique. Les centres réactionnels photosynthétiques sont le système privilégié d'étude du transfert d'électrons (théorie de Marcus). Ils le deviennent (avec la bactériorhodopsine et la cytochrome oxydase) pour le transfert de protons. Les premières réactions « cohérentes » (en phase avec la perturbation vibrationnelle déclenchée par excitation photochimique) ont été mises en évidence (par une équipe française) sur des centres réactionnels et des oxydases.

**Organisation pluri moléculaire des systèmes membranaires.** Alors que nombre de complexes individuels isolés sont de mieux en mieux connus, l'intérêt se porte au

niveau d'intégration supérieur, concernant par exemple les interactions de complexes dans la membrane. Les progrès de diverses techniques (microscopie électronique, sondes et pontages chimiques) concourent à rendre possible ce type d'approche. Mentionnons les recherches menées sur les associations en supercomplexes intervenant dans les membranes photosynthétiques et mitochondriale. Ces associations constituent des unités fonctionnelles, mais aussi peuvent contrôler la structure membranaire à grande échelle : c'est le cas dans les bactéries photosynthétiques et aussi dans les mitochondries. La question des hétérogénéités latérales dans les membranes, et le rôle qu'y jouent lipides et protéines est un autre sujet de première importance.

Les approches de ces problématiques à l'aide de membranes modèles se sont développées depuis de nombreuses années avec plusieurs laboratoires français à la pointe dans ce domaine. La physique à l'équilibre de ces membranes, mêmes complexes, semble maintenant bien comprise. Les lipides, longtemps considérés par les biologistes comme un simple « solvant » des protéines membranaires, sont devenus des composants à part entière des membranes, pouvant jouer un rôle biologique. Leur hétérogénéité de distribution, tant transverse que latérale, est reliée aux problèmes de courbure et de dynamique membranaires et par conséquent impliquée dans la dynamique cellulaire (signalisation, transport etc.). De même, on prend maintenant conscience que le mouvement des protéines membranaires dans la membrane plasmique, et plus particulièrement celui des récepteurs, est beaucoup plus complexe qu'une simple diffusion brownienne et révèle une organisation dynamique de la membrane. Des modèles plus complexes et plus réalistes prenant en compte des aspects hors-équilibre des biomembranes sont maintenant développés. Le défi est de comprendre l'organisation des composants membranaires à différentes échelles spatiales (ou temporelles) et leur dynamique de façon à proposer une description globale satisfaisante des membranes cellulaires. La réussite passe par une collaboration étroite entre biologistes et physiciens.

## 1.2 DEVENIRS CELLULAIRES, SIGNALISATION ET DYNAMIQUE INTRACELLULAIRE

La cellule est constituée d'organites et de sous-domaines membranaires dont la description statique initiale a été reconsidérée au cours des dernières années grâce à la multiplication de traceurs membranaires fluorescents et au développement de techniques d'imagerie de la cellule vivante. La vision actuelle, nettement moins stricte, est celle de sous-domaines reliés par un continuum très mobile d'intermédiaires. L'organisation en sous-domaines est probablement une propriété intrinsèque des membranes biologiques, entraînant des particularités fonctionnelles, comme l'illustre l'hétérogénéité latérale, induisant la présence de microdomaines membranaires riches en cholestérol et sphingolipides où sont concentrées les protéines de signalisation. Il est probable que certaines étapes du transport, par exemple dans l'appareil de Golgi, s'effectuent également par transformation progressive de la composition membranaire. À cette nouvelle vision gradualiste des compartiments s'ajoute une composante cinétique intracellulaire, révélée par l'observation de mouvements directionnels extrêmement dynamiques de compartiments le long des réseaux d'actine et de microtubules, assurés par des moteurs moléculaires. Le noyau et la mitochondrie, deux compartiments contenant l'ADN de la cellule eucaryote, ont depuis longtemps focalisé une attention particulière. Le noyau est le compartiment dans lequel s'effectuent le maintien et l'expression conditionnelle du matériel génétique. Le lien entre structures sub-nucléaires et expression génique est un champ de recherche très actif. La mitochondrie, organite très dynamique principalement connu comme source majeure de production d'ATP et siège de nombreuses réactions métaboliques, intervient également dans les processus de mort cellulaire apoptotique.

Un défi de la biologie cellulaire est de comprendre comment les processus fondamentaux tels que la division cellulaire, et plus généralement, l'engagement d'une cellule vers

différents devenir, sont corrélés aux changements de nature et de dynamique des compartiments cellulaires. Cette connaissance aura un impact majeur sur la compréhension globale du développement de pathologies, qu'il s'agisse de cancérogenèse, de dégénérescence ou d'infections.

La division cellulaire, indissociable du vivant, est un processus au cours duquel se posent des problèmes de plusieurs ordres : Comment transmettre chromosomes, organites et sous-compartiments membranaires à chaque cellule fille ? Comment générer les forces permettant la partition des composants et la cytokinèse ? Comment assurer la chronologie correcte des différentes étapes ? Quels mécanismes et quelles cibles sont affectées au cours de la sénescence ?

Plus généralement, le « déterminisme cellulaire » décrit l'impact des changements d'environnement sur la physiologie cellulaire et son adaptation. Cela concerne l'ensemble des modifications cellulaires engendrées par les couples récepteur/ligand (signalisation cellulaire), ainsi que l'impact des changements de milieu (éléments nutritifs, pH, oxygène, etc.). Au cours des dernières années, l'analyse des voies de signalisation a mis en évidence de nouvelles modifications post-traductionnelles des protéines, et l'importance des compartiments sous-membranaires, dans les réponses cellulaires englobées par la notion de déterminisme (croissance, prolifération, différenciation, adhérence, motilité, apoptose, autophagie).

Cette problématique est abordée dans une vingtaine d'Unités dépendant de la Section 23, au sein desquelles plusieurs équipes couvrent divers aspects de la dynamique des compartiments à la signalisation, modelant le devenir de la cellule.

## **Transport et dynamique intracellulaire**

Un des fondements de l'évolution des procaryotes vers la cellule eucaryote est la ségrégation des fonctions cellulaires au sein

d'organites distincts. Cette compartimentation, qui répond à une complexification et une optimisation des fonctions cellulaires, est accompagnée par la mise en place de systèmes de communication entre les différents compartiments assurant ainsi la coordination des fonctions cellulaires. Les échanges entre compartiments dépendent de signaux cytosoliques mais également de transferts directs de composants à travers des mécanismes de transports vésiculaires et non-vésiculaires.

### **Le transport vésiculaire**

Les échanges de composants membranaires entre les compartiments font intervenir des intermédiaires de transport dont la nature vésiculaire a été reconnue initialement, mais qui peuvent également adopter une forme tubulaire. Ces vésicules/tubules se forment et se détachent d'un compartiment donneur, sont transportées de façon directionnelle grâce à différentes structures cytosquelettiques et fusionnent avec un compartiment accepteur. L'étude des mécanismes du transport intracellulaire est un domaine très actif de la biologie cellulaire. Des avancées considérables ont été réalisées ces dernières années dans la description au niveau moléculaire des principales voies de transport, dans l'étude des mécanismes de tri et d'adressage des protéines et des lipides, et dans la compréhension des processus complexes et étroitement régulés qui permettent à la cellule de maintenir à tout moment l'intégrité fonctionnelle de ses compartiments. Cinq grandes familles de protéines interviennent directement dans les mécanismes du transport intracellulaire : les protéines de manteaux, les complexes SNAREs, les complexes d'arrimage, les petites GTPases Rab, et les moteurs moléculaires. D'une phase essentiellement descriptive et basée sur des concepts de ciblage et de reconnaissance moléculaire, le transport intracellulaire évolue maintenant vers une phase d'analyse dynamique et de compréhension des processus d'auto-organisation dans la formation et le maintien des compartiments membranaires, sur lesquels repose l'unité fonctionnelle de la cellule eucaryote.

## Cytosquelette et moteurs

La vision traditionnelle du cytosquelette en tant qu'ossature cellulaire a évolué au cours des dix dernières années vers une perception beaucoup plus dynamique des réseaux de microfilaments qui se polymérisent *de novo* en réponse aux stimuli extérieurs et s'organisent pour assurer des fonctions cellulaires extrêmement variées (migration, phagocytose, cytokinèse, polarité cellulaire, etc.). De très nombreux composants de la machinerie contrôlant l'assemblage et l'organisation des filaments d'actine ont été identifiés. Une des avancées majeures dans ce domaine a été l'identification du complexe Arp2/3 et de protéines de la famille des formines qui sont capables de nucléer les filaments d'actine *de novo*. Les mécanismes moléculaires de la nucléation par ces molécules sont en voie d'être élucidés et les voies de régulation de ces nucléateurs par les GTPases Rho ont été décryptées. Un des domaines ayant permis des avancées rapides dans l'élucidation de ces mécanismes a été l'étude de l'entrée de bactéries dans leurs hôtes cellulaires (*Listeria*, *Shigella*). Un autre aspect concerne la mise en évidence récente du rôle de la polymérisation de l'actine dans les mécanismes de transport intracellulaire faisant intervenir des moteurs moléculaires de type myosine ou basés directement sur la polymérisation de l'actine à la surface de la vésicule générant la force nécessaire à la propulsion.

Le déplacement directionnel à longue distance des intermédiaires de transport dans les cellules animales implique les microtubules sur lesquels se déplacent des moteurs moléculaires de type dynéine ou kinésine. L'ensemble des moteurs moléculaires classiques (myosines, kinésines, et dynéine) chargé des mouvements intracellulaires est identifié, et l'on a des bonnes notions de leur fonction cellulaire pour la plupart. Les études de pointe dans ce domaine vont des études biophysiques et de la détermination des structures cristallines des protéines ou des complexes purifiés, aux études de la visualisation dynamique des mouvements intracellulaires.

## Le transport nucléo-cytoplasmique

Plusieurs types de signaux inscrits dans la structure primaire ou secondaire des protéines permettant de les cibler spécifiquement vers les compartiments de la cellule (réticulum endoplasmique, mitochondries, chloroplastes, peroxyosomes) sont maintenant caractérisés. Notons que le décryptage de ces signaux (et en particulier de la séquence signal permettant la translocation des protéines au travers des membranes du réticulum endoplasmique) a valu le prix Nobel de Médecine à G. Blobel en 1999. Les signaux responsables de la localisation des protéines sur l'appareil de Golgi ou certains sous-domaines membranaires restent néanmoins très mal connus, et les récepteurs à ces signaux d'adressage ainsi que l'assemblage et la dynamique des complexes ne sont pas complètement élucidés.

Un domaine qui a connu un essor spectaculaire ces dernières années est celui du **transport nucléo cytoplasmique** qui permet l'import vers le noyau de nombreuses protéines et la sortie des ARN messagers. La structure du pore nucléaire est maintenant connue, ainsi que la machinerie moléculaire du transport nucléo cytoplasmique. Ces études ont mis en particulier en évidence le rôle-clé joué par la GTPase Ran dans ces processus (établissement d'un gradient Ran:GTP versus Ran:GDP). Une forte concentration de Ran-GTP près de la chromatine est également nécessaire pour l'assemblage normal du fuseau mitotique. Les multiples fonctions distinctes de la GTPase Ran illustrent bien la complexité des mailles des réseaux de régulation qui défie notre capacité actuelle de les cataloguer et de les comprendre comme un système intégré fonctionnel.

## Contrôle de la division cellulaire

### Régulation du cycle cellulaire

La division cellulaire a toujours fasciné les biologistes. L'identification des CDK (*cyclin-dependent kinases*) a été une étape décisive dans l'élucidation des mécanismes qui sont à

la base du contrôle du cycle cellulaire (L. Hartwell, P. Nurse, et T. Hunt, Nobel 2001). La diversité des systèmes modèles (levures, ovocytes et embryons précoces d'amphibiens et de drosophile) et des approches utilisées a largement contribué à la réussite de ces travaux. La conservation des mécanismes mis en jeu a grandement favorisé l'extrapolation de ces nouveaux concepts aux cellules de mammifères.

Trois grands processus contribuent au contrôle du **cycle cellulaire** :

1. la phosphorylation de protéines cibles par les CDK ;
2. la régulation génique de régulateurs essentiels, en particulier les cyclines responsables de l'activation périodique des CDK et enfin ;
3. la protéolyse régulée par le système ubiquitine/protéasome.

La chronologie et la fidélité de la division cellulaire reposent sur des mécanismes de surveillance (*checkpoints*) capables de bloquer le cycle cellulaire en réponse à différents dysfonctionnements (réplication incomplète, présence de dommages au niveau de l'ADN ou du fuseau mitotique). Les voies biochimiques mises en jeu apparaissent, là encore, hautement conservées chez les eucaryotes et ont pour la plupart été caractérisées dans différents modèles expérimentaux.

Les dix dernières années ont vu se poursuivre d'une part la caractérisation des mécanismes de régulation des CDK et d'autre part, des études fonctionnelles de complexes multiprotéiques impliqués dans différents aspects de la division. Notre compréhension de l'organisation et de la dynamique des chromosomes en mitose comme en méiose a ainsi progressé de façon spectaculaire, en particulier avec la caractérisation des cohésines et des condensines, deux complexes protéiques responsables, respectivement, de la cohésion des chromatides sœurs et de la compaction de la chromatine en mitose. De même, les études menées sur l'APC (*Anaphase Promoting Complex*) et le SCF (Skp1/Cullin/F-box), nous permettent au-

jourd'hui de mieux appréhender le rôle central de ces deux ubiquitine-ligases dans les voies de protéolyse des principaux régulateurs du cycle cellulaire et fournissent de nouveaux paradigmes pour d'autres champs d'investigations.

### **Dynamique des compartiments dans la cellule en mitose**

La plupart des compartiments cellulaires connaissent de profonds remaniements structuraux durant la mitose (rupture de l'enveloppe nucléaire, dissémination des compartiments membranaires, réorganisation des différents réseaux du cytosquelette, etc.). Ces remaniements coïncident également avec des modifications fonctionnelles importantes (inhibition de la transcription, des voies d'endocytose et de sécrétion, accroissement de la dynamique du système microtubulaire, etc.). En dépit des progrès importants réalisés au cours des dernières années, notre connaissance des mécanismes moléculaires sous-jacents est encore parcellaire. En particulier, l'identification des cibles des CDK responsables de ces modifications reste à faire.

La dernière étape de la division cellulaire conduisant à la séparation physique des cellules filles (cytocinèse) focalise l'attention de la communauté scientifique depuis quelques années. Là encore, la diversité des modèles et des approches mises en œuvre (cribles RNAi à haut débit, cribles génétiques, analyses protéomiques) a d'ores et déjà permis de recenser les principaux acteurs impliqués et de dresser une première cartographie des grandes voies de signalisation moléculaire mises en jeu dans ce processus clé de la division.

### **Signalisation et devenir cellulaire**

La signalisation cellulaire recouvre l'ensemble des voies activées par la liaison d'un récepteur membranaire à son ligand, entraînant des changements des propriétés cellulaires. Les voies concernant les propriétés



générales telles que croissance, prolifération, différenciation, morphologie, mouvements et migration ont été particulièrement étudiées, et des progrès considérables ont été accomplis ces dernières années. La plupart des récepteurs membranaires ont été identifiés, et pour nombre d'entre eux, les études de signalisation ont permis de dégager les spécificités de réponse ainsi que des caractéristiques communes. Une constante dans l'initiation de la signalisation est l'activation de phosphorylations de protéines et de lipides, déclenchées par le récepteur lui-même (RTK) ou par des kinases activées secondairement. La vision classique acquise au cours des dernières décennies abordait la signalisation sous un angle exclusivement transcriptionnel, le signal initial étant converti *in fine* en différentiel d'expression génique. L'utilisation massive de puces à ADN a facilité ce type d'analyse. Si de telles approches restent toujours d'actualité pour comprendre les changements engendrés par un signal externe, elles doivent être complétées par une analyse plus globale, tenant compte en particulier de modifications biochimiques et de distribution subcellulaire.

Citons par exemple, les modifications post-traductionnelles, telles que clivages peptidiques, conjugaison d'ubiquitine ou de peptides similaires (SUMO, Nedd1, etc.), glycosylation, acétylation, méthylation et polyglutamylolation, ou altérations des protéines G, dont l'activation dépend du nucléotide fixé.

Par ailleurs, aux travaux initiaux d'identification des composants des voies de signalisation a succédé l'analyse des réseaux d'interactions, notamment grâce au système double hybride au cours des dix dernières années. L'amélioration des méthodes de purification de complexes et d'identification de leurs constituants par spectrophotométrie de masse ouvre de nouvelles approches d'analyse plus intégrées. L'analyse bio-informatique des données massives ouvre également des perspectives intéressantes pour simuler les réseaux de signalisation complexes et tester leur fonctionnalité.

Enfin, les travaux pionniers concernant la signalisation chez les eucaryotes supérieurs ont

majoritairement été effectués sur lignées cellulaires, souvent tumorales. La recherche actuelle dans le domaine concerne ou bien des modèles plus physiologiques (animaux, embryons, explants, cellules primaires) ou pathologiques fraîchement isolés (biopsies, dissections).

Les études de signalisation menées au sein des Unités de Recherche de la section 23 concernent diverses voies de différenciations cellulaires (hématopoïétique, nerveuse, musculaire, intestinale, épithéliale), sur des modèles biologiques allant de la cellule *ex vivo* à l'organisme entier (drosophile, ver, xénope, souris).

### **Identification des voies de signalisation**

Plusieurs approches complémentaires permettent d'identifier rapidement les composants de voies de signalisation. À la recherche par interaction mentionnée plus haut, s'ajoute maintenant des analyses à haut débit, permettant de cribler le phénotype cellulaire induit par l'inactivation systématique d'un grand nombre de gènes. Cette approche a été rendue possible par la généralisation de l'interférence ARN pour éteindre l'expression spécifique de gènes (AZ Fire et Mello, Nobel 2006). Le développement de plate-formes utilisant ces technologies est capital pour accélérer l'analyse fonctionnelle d'une signalisation spécifique. Ce type d'analyse est par exemple possible sur la plate-forme Biophenics, développée à l'Institut Curie.

Le couplage physique entre protéines de signalisation et trafic intracellulaire permet probablement de compartimenter certaines voies et ainsi de les favoriser. Les structures cavéolaires, des régions de la membrane plasmique riches en cholestérol, glycosphingolipides et protéines, semblent participer à ce phénomène en couplant endocytose et signalisation cellulaire. L'activation spécifique d'une voie de signalisation peut aussi passer par l'inactivation ciblée d'autres voies.

Un dernier aspect concerne l'identification d'inhibiteurs dirigés contre une seule ou une famille de molécules de signalisation. Là

encore, le développement de systèmes cellulaires couplés à une visualisation des phénotypes a permis d'identifier des composés inhibiteurs de voies de protéines kinases ou de protéines G. Outre un éventuel intérêt thérapeutique, ces composés revêtent une grande importance en tant qu'outils d'analyse, comme c'est le cas des inhibiteurs de MAPK couramment utilisés.

### **Signalisation et physiologie**

Les premières percées dans le domaine de la signalisation ont bénéficié de l'étude de modèles biologiques permettant une approche génétique (levure, *C. elegans*, drosophile). Les voies majeures, évolutivement conservées, telles que celles des MAPK, PI3K, JAK/STAT, GSK-3 ont ainsi été identifiées. Les travaux en cours concernent l'impact physiologique des voies déjà connues dans un contexte biologique différent (développement embryonnaire, engagement en différenciation de précurseurs ou cellules souches). De nouvelles voies, spécifiques des modèles analysés ont également été identifiées (puces ADN, protéomique, etc.). Le développement de l'imagerie a permis d'aborder la dynamique cellulaire au sein d'organismes (développement embryonnaire d'invertébrés), ainsi que la dynamique des compartiments et du cytosquelette en réponse aux signaux. Enfin, l'utilisation de microcircuits permet maintenant d'aborder les relations entre signalisation et contraintes mécaniques et topologiques.

Une problématique majeure de la signalisation cellulaire au sein d'un organisme est celui du contrôle de la quiescence, de la prolifération et de l'élimination programmée par apoptose ou autophagie. Ces dernières sont essentielles au cours du développement lors de l'organogenèse, ainsi que chez l'adulte pour maintenir l'homéostasie et pour assurer la fonction du système immunitaire. L'apoptose est également activée par les mécanismes de surveillance de l'intégrité du génome en présence de lésions irréparables de l'ADN, conduisant à l'élimination de cellules anormales.

L'autophagie est un programme cellulaire dévolu au catabolisme/recyclage des structures sénescents allant des macromolécules solubles jusqu'aux organites entiers. Elle se caractérise par la formation d'autophagosomes qui séquestrent du matériel cytoplasmique avant de l'adresser vers la voie de dégradation lysosomale. Stimulée en cas de stress, en particulier lors de carences nutritives, l'autophagie est d'abord un programme de survie permettant à la cellule d'adapter son métabolisme aux conditions externes, puis si l'activité catabolique devient incompatible avec la survie, elle induit la mort cellulaire, de façon autonome ou associée aux processus apoptotiques.

### **Signalisation et pathologies**

Par essence, les pathologies résultent d'anomalies dont la caractérisation est cruciale pour la compréhension de la biologie cellulaire, en particulier la relation génotype/phénotype. Si les syndromes résultant d'anomalies de développement commencent à être analysés en termes de signalisation, l'étiologie et le développement des cancers focalisent toujours l'intérêt de la communauté. La tumorigenèse est en effet particulièrement étudiée en raison des propriétés cellulaires et physiologiques mises en jeu, ainsi que son importance en santé publique. Le développement d'un cancer suit en général la séquence d'événements suivante :

1. formation d'une tumeur primaire ;
2. dissémination ;
3. développement de tumeurs secondaires dans d'autres tissus.

Les phases de développement *in situ* 1 et 3 résultent d'anomalies dans le contrôle du cycle cellulaire, la communication intercellulaire et le fonctionnement du système immunitaire. Un exemple de dérèglement de signalisation est l'activation continue des STAT, observée dans de multiples tumeurs solides et syndromes prolifératifs et corrélée à une perte de contrôle de la prolifération et de la survie. Les phosphotyrosines phosphatases (SHPs, CD45, PTP1B/

TC-PTP), les SOCS (*Suppressor Of Cytokine Signaling*) et les PIAS (*Protein Inhibitor of Activated STAT*), inhibiteurs de la voie JAK/STAT à différents niveaux, sont fréquemment dérégulés dans les cellules cancéreuses. Les phases 1 et 3 font également intervenir une néo-vascularisation de la tumeur. La phase de dissémination nécessite un premier changement des propriétés d'adhérence et d'invasion de cellules de la tumeur primaire, puis un second changement, assurant leur adhérence pendant le développement de la tumeur secondaire. La question se pose différemment pour les cancers hématopoïétiques, dont la dissémination est déjà assurée par la circulation sanguine. Une dizaine de laboratoires relevant de la Section 23 abordent ces thèmes de recherche, en particulier les connexions entre, d'une part le contrôle du cycle cellulaire, la survie, l'hypoxie, la différenciation et la sénescence, et d'autre part, l'adhérence, l'invasion et la motilité. Ces approches cellulaires, combinées à l'analyse d'échantillons mis à disposition de la communauté dans des tumorothèques, ont conduit à une meilleure connaissance de ces connexions. Citons par exemple la notion de récepteur à dépendance, induisant un signal apoptotique en absence de ligand. Ces récepteurs ont probablement une fonction très importante au cours du développement embryonnaire et dans l'homéostasie de l'adulte, ainsi que dans la survie de cellules tumorales migrantes.

### **Perspectives**

Historiquement, la signalisation cellulaire a pris son essor à partir de lignées en culture et de récepteurs uniques. Depuis, la complexité des récepteurs et des réponses cellulaires a conduit aux notions d'interconnexions (*cross-talk*) et de réseaux. La connaissance de l'ensemble des voies, ainsi que leurs interactions physiques et/ou fonctionnelles est nécessaire pour intégrer la signalisation à l'échelle cellulaire. Si une carte globale des interactions protéiques n'est encore guère envisageable pour les vertébrés, des cartes ciblées par cribles double-hybride à haut débit, immunopurification des complexes ou utilisation de « puces

à protéines », centrées sur des familles, des motifs, ou des modifications, devraient permettre de circonscrire leurs rôles et d'aborder la question de l'organisation des réseaux. Cette approche doit être suivie par un développement informatique pour l'analyse de la masse de données produites et la modélisation des réseaux de régulation. Un apport plus important de la physique de la matière molle sera nécessaire à cet égard. Les données d'approches globales *in silico* devront enfin être confrontées au vivant. La poursuite du développement d'outils d'imagerie (protéines et marqueurs fluorescents, nanovidéomicroscopie, de micro ou nanospectrofluorimétrie, microscopie du petit animal) est indispensable pour optimiser la visualisation en temps réel des mouvements d'objets intracellulaires, des interactions entre partenaires et des changements d'activité dans des systèmes cellulaires isolés et surtout intégrés.

## **2 – PATHOGÈNES ET RELATIONS HÔTES/PATHOGÈNES**

Les virus, bactéries, parasites et les agents transmissibles non conventionnels (ATNC ou prions) sont directement responsables de plus de 26 % des 57 millions de morts recensés par an dans la population mondiale. Cet impact est amplifié par leurs effets délétères sur la santé animale, la production agricole et alimentaire, ainsi que par leur rôle potentialisateur de maintes pathologies.

### **2.1 LES VIRUS**

L'étude des virus ne se réduit évidemment pas à leurs effets pathogènes. Ainsi, de nombreuses avancées qui ont fait date en médecine et physiologie (l'élaboration de vaccins, l'élu-

cidation de certains processus cancéreux, ou, plus récemment encore, la mise au point de nouvelles stratégies de thérapie génique, etc.) ont été réalisées grâce aux apports conceptuels et à la création de nouveaux outils dérivés de l'étude des virus et ATNC.

En ce sens, un changement de l'intitulé correspondant de la section 23 en « Pathogènes et relations hôtes-agents infectieux » décriraient mieux les programmes de recherche dévolus au CNRS.

De par leur dépendance stricte de la machinerie cellulaire pour leur réplication et dissémination, les virus servent à sonder le fonctionnement du vivant à tous les niveaux d'intégration de la biologie : structural (architectures moléculaires, auto-assemblages, formation des complexes ribonucléoprotéiques, dynamiques membranaires, etc.), biochimique (régulateurs géniques et post-transcriptionnels, échanges intermembranaires, interactions moléculaires, etc.), cellulaire (trafics intracellulaires, apoptose, différenciation, cancérisation, etc.), tissulaire (contacts et échanges intercellulaires), ainsi que pour des explorations aux niveaux de l'organe (systèmes nerveux et hématopoïétique, foie, muscle, etc.), de l'organisme entier (développement, vieillissement, reproduction, épigénétique, etc.) et des populations (évolution des génomes, spéciation, génétique des populations, etc.).

Des progrès considérables ont été réalisés dans l'élucidation des étapes de l'entrée virale avec l'identification de nouveaux récepteurs et co-récepteurs cellulaires et des domaines et mécanismes de liaison et d'entrée assurés par les glycoprotéines virales de surface. Plusieurs équipes du CNRS ont fourni des contributions notables dans ces domaines (Lille, Lyon, Montpellier, Région Parisienne, etc.).

L'analyse des changements conformationnels consécutifs à l'interaction virus-récepteurs et l'étude des processus de fusions membranaires a considérablement bénéficié des apports de la biologie structurale.

En effet, des programmes à haut-débit, d'identification, de criblage et d'analyses des composants viraux ont été mis en route par

plusieurs équipes en France, aidés en cela par la constitution de plateformes et de grands équipements performants appliqués à l'imagerie et aux analyses ultrastructurales. Ces efforts se sont traduits par un impact particulièrement positif sur la recherche en France (Grenoble, Marseille et Région Parisienne, par exemple) sur les analyses structurales des composants viraux et ceci sur un très large éventail de virus à hôtes eucaryotes et procaryotes.

Parallèlement, les travaux visant à élucider les mécanismes de traduction, transcription et réplication des génomes viraux au cours du cycle viral ont été poursuivis permettant de préciser les assemblages moléculaires mis en jeu et dans certains cas d'effectuer leur reconstitution *in vitro*. Les avancées les plus significatives, qui ont largement bénéficié du développement de la technique du système de double-hybride en levure puis des analyses protéomiques et des techniques d'imagerie en biologie cellulaire, concernent l'identification des interactions des constituants viraux avec la machinerie cellulaire et de leur trafic intracellulaire (interactions avec le cytosquelette, trafic vésiculaire, translocation nucléaire, assemblage des virions). Un effort important des équipes Françaises consacré au trafic intracellulaire et l'assemblage de plusieurs types de virus a abouti à une production significative venant de plusieurs centres de recherches, dont Grenoble, Lyon, et la Région Parisienne.

L'importance des structures membranaires intracellulaires dans la constitution des complexes de réplication viraux a été précisée, et le rôle des microdomaines membranaires (radeaux lipidiques ou « rafts ») pour l'assemblage et la morphogenèse des particules virales mis en évidence. Par ailleurs, de nombreux travaux ont porté sur l'impact de l'infection virale sur la biologie de la cellule, notamment sur l'activation cellulaire et les voies de signalisation, le cycle cellulaire, la modulation de la structure de la chromatine (particulièrement dans le cadre de l'établissement de la latence virale et de sa réactivation). Ces thèmes sont explorés par plusieurs équipes en France avec une bonne productivité dans plusieurs centres dont notamment Lyon, Montpellier, la Région

Parisienne et Strasbourg. Enfin, les infections par les virus ou les ATNC sont aussi abondamment étudiées en relation avec, selon les virus, l'induction (lyse) ou l'inhibition (cancérisation) de l'apoptose cellulaire. Les contributions des équipes françaises dans ces domaines sont nombreuses et réparties sur de nombreux centres de Province et de la Région Parisienne.

Au niveau de l'organisme entier, l'étude des mécanismes d'échappement des virus à la réponse de l'hôte a permis aussi l'identification de nombreuses protéines virales homologues de protéines cellulaires (virokines, virocepteurs, protéines anti-apoptotiques, etc.) et l'élucidation d'une variété de mécanismes moléculaires mis en jeu pour l'échappement aux réponses cellulaires antivirales non immunitaires (inhibition de la réponse interféron, de l'apoptose, des déaminases cellulaires) ou immunitaires (inhibition de la présentation des épitopes par le CMH-I ou le CMH-II). De telles études, initialement menées dans des systèmes cellulaires modèles, ont été plus généralement appliquées aux cellules primaires (cellules dendritiques, monocytes/macrophages, lymphocytes, hépatocytes, etc.) et en relation avec l'état de différenciation ou d'activation cellulaire, notamment grâce aux techniques de cytométrie.

L'étude des réponses antivirales de type innées intra ou extracellulaires (interférons, siRNA, déaminases, etc.) ou acquises (réponses immunitaires) ont connu un essor récent au niveau mondial, essor aussi répercuté en France. De nombreuses équipes Françaises se sont illustrées dans ces domaines avec pourtant une implication relativement faible du CNRS.

En terme de physiopathologie des infections, le modèle de la souris reste largement utilisé, notamment de par les possibilités offertes par les techniques de transgénèse et d'inactivation de gènes (souris K.O). Ces approches ont permis de mieux appréhender la pathogénèse liée aux prions, à évaluer l'importance relative des différents compartiments de la réponse de l'hôte à l'infection virale, ainsi que de mieux définir la contribution de l'expression de différents gènes viraux dans la carcinogénèse.

L'émergence, ces vingt dernières années, de nombreuses épidémies, virales ou à ATNC, caractérisées par la transmission inter espèces des agents infectieux identifiés a souligné l'importance de travaux sur la transmission et le franchissement de la barrière d'espèce par divers virus et ATNC. Ces aspects sont abordés pour quasiment tous les virus étudiés bien qu'en France ils portent plus particulièrement sur le VIH, les virus simiens apparentés, et le VHC, qui à eux seuls représentent près de la moitié des publications de ces dix dernières années sur la transmission, alors que ces questions se posent de façon de plus en plus aiguë pour de nombreux autres agents.

Au cours des dix dernières années, la découverte de nouveaux virus et ATNC (virus Hendra, virus Nipah, HTLV-3 et 4, TTV, vCJD), l'identification d'homologues simiens de virus importants en pathologie humaine (herpesvirus simiens, SIV du chimpanzé et de petits primates), l'émergence chez l'homme de virus issus du réservoir animal (grippe du poulet à Hong Kong, *monkeypox virus* en Afrique), la survenue d'épidémies de virus de fièvres hémorragiques (Ébola, virus de la fièvre de la vallée du Rift), ainsi que l'extension géographique ou la réémergence de virus ou de variants viraux dans de nouvelles régions du globe (virus de la chikungunya, virus West-Nile, virus de la Dengue, entérovirus recombinants), sans oublier l'ampleur considérable prise par la pandémie liée au VIH et les ravages causés par les entérovirus et les virus respiratoires, sont autant d'éléments rappelant l'extraordinaire plasticité et capacité d'adaptation des virus à de nouvelles niches écologiques et un potentiel toujours actuel de découverte de nouveaux agents infectieux.

La découverte encore toute récente par criblage haut-débit d'un nouveau rétrovirus humain, le XMRV, apparenté aux rétrovirus leucémogènes murins, et retrouvé dans des cancers de la prostate chez des patients déficients en RNaseL est en ce sens exemplaire. Cette découverte rappelle l'ampleur du potentiel étiologique de virus encore non-identifiés dans des pathologies idiopathiques ainsi que la nécessité du maintien d'une virologie générale

diversifiée et de haut niveau, garante de notre capacité à explorer de nouvelles pistes et à établir de nouvelles bases qui déborderont largement du cadre de la virologie.

Des contributions significatives ont été faites par des laboratoires français dans le domaine de la rétrovirologie en générale et du VIH en particulier. Le CNRS a pris une part significative dans les domaines de la rétrovirologie et des rétrotransposons. L'attention récente portée au Virus de l'Hépatite C a permis la création d'un tissu de recherche autour de ce sujet. Des contributions significatives ont aussi été fournies par des équipes françaises dans le domaine de la vectorologie virale et la virologie structurale. Faute de moyens propres, de nombreuses études sur des classes importantes de virus (herpesvirus, entérovirus, virus respiratoires, papillomavirus, arbovirus, etc.) restent largement dominées par l'aspect médical des infections. Peu ou pas d'équipes se concentrent sur des études fondamentales autour de ces virus, même si quelques excellentes équipes peuvent être identifiées.

## 2.2 LES PARASITES

Le parasitisme est classiquement défini comme une relation écologique entre deux organismes eucaryotes, le parasite et son hôte, le parasite étant physiologiquement ou métaboliquement dépendant de l'hôte. Il constitue le moyen de vie le plus répandu, plus de 50 % des espèces animales étant des parasites dont nombre affectent la santé des individus et des animaux domestiques. La parasitologie combine l'étude des parasites eux-mêmes, des modes d'infection de leurs hôtes, des interactions qu'ils y établissent durablement, ainsi que des pathologies associées. Cette discipline transversale implique des domaines aussi divers que l'évolution, la taxonomie, la biologie moléculaire et cellulaire, la génétique, l'immunologie, l'écologie, la physiopathologie, l'épidémiologie et la pharmacochimie.

Depuis une quinzaine d'années, la parasitologie moléculaire et cellulaire a conduit à des découvertes fondamentales importantes, et a conduit à réviser de nombreux concepts « classiques » de la biologie : l'épissage en trans et le montage ou l'édition des ARN mitochondriaux (*RNA editing*), la découverte de l'ancrage GPI des protéines membranaires (chez les trypanosomes), le concept de la polarité TH1/TH2 de la réponse immune (sur la leishmaniose murine) ou les mécanismes de variation antigénique chez les trypanosomes ou *Plasmodium*. La découverte de groupes de parasites amitochondriaux tels que les microsporidies (responsables de pathologies associées au SIDA) ou les diplomonades (dont le représentant le plus connu est *Giardia lamblia*, parasite humain responsable de diarrhées) illustre la notion d'évolution par simplification. Le développement de la génétique inverse a révolutionné la discipline, et a par exemple permis de découvrir les fonctions biologiques inédites de complexes protéiques d'organites spécifiques des parasites Apicomplexes (un phylum dont les représentants les plus connus sont *Plasmodium*, et *Toxoplasma gondii*, responsables du paludisme et de la toxoplasmose). Deux équipes du CNRS (Montpellier et Grenoble) se sont illustrées dans ces domaines.

La découverte de l'apicoplaste, un organe comportant un petit génome extranucléaire de 35 kb également spécifique des parasites Apicomplexes a révolutionné notre perception de l'origine évolutive de ces parasites, apparentés aux microorganismes photosynthétiques. Deux équipes Françaises (Grenoble et Lille) ont fourni des contributions importantes dans ce domaine, offrant à terme une possibilité thérapeutique par des inhibiteurs du chloroplaste (herbicides). Enfin, le développement des outils de manipulation génique et la mise en place de programmes de séquençage des génomes chez plusieurs parasites modèles (Trypanosomes, Leishmanies, Toxoplasmes, Plasmodies, Amibes et *Theileria*, microsporidies) ont révolutionné la discipline. Des équipes du CNRS (Bordeaux, Paris, Clermont Ferrand) se sont particulièrement illustrées dans ces programmes.

Ces outils ont permis l'émergence de la parasitologie cellulaire, visant à comprendre le fonctionnement de la cellule parasitaire et ses interactions avec son hôte. Des contributions importantes ont été faites ces toutes dernières années, concernant la biogenèse d'organites sécrétoires particuliers aux parasites apicomplexes (rhoptries, micronèmes et granules denses), leurs rôles dans les processus d'invasion de la cellule hôte ainsi que les facteurs de virulence parasitaires (Montpellier et Grenoble). Un défi immédiat du décryptage des génomes des parasites est d'identifier les facteurs nucléaires régulant l'expression des gènes impliqués dans la progression du cycle biologique et de la transmission du parasite. Des avancées considérables dans l'élucidation des mécanismes de régulation des gènes ont ainsi été réalisées par plusieurs équipes du CNRS (Paris, Grenoble et Lille).

Les équipes d'Unités rattachées à la section 23 ont contribué de façon très significative dans les domaines suivants :

- **génomés parasitaires** : séquençage et l'annotation du génome complet des microsporidies (le plus petit génome eucaryote décrit à ce jour, d'environ 2,9 Mb). On peut citer également des participations fortes à l'annotation des génomes de kinétoplastides et d'anophèle et les travaux sur le caryotype de leishmanies et l'analyse du polymorphisme de ces parasites ;

- **mécanismes d'invasion, adaptation et évation des parasites** : découverte des régulations des gènes *var* impliqués dans la variation antigénique de *Plasmodium*, mécanismes de motilité, d'adhérence et d'invasion cellulaire de *Toxoplasma gondii* et *Plasmodium*, locus de susceptibilité à l'infection toxoplasmique ainsi que le rôle de l'IL7 de l'hôte dans le développement de *Schistosoma* ;

- **spécificités métaboliques et biologiques** : voies de biosynthèse des phospholipides chez *Plasmodium*, du métabolisme énergétique chez les trypanosomes et le toxoplasme, avec possibilités applications pharmaco-biologiques peut être majeures.

## 2.3 PERSPECTIVES

La recherche fondamentale sur les agents infectieux, pathogènes ou non (virus, parasites, bactéries, ATNC) constitue une priorité. Cette recherche vise à définir les mécanismes fondamentaux du fonctionnement des microorganismes, les spécificités liées à leur diversité et les bases des interactions hôte-agents infectieux.

L'étude de ces interactions bénéficie maintenant de la connaissance des génomes de l'agent infectieux et de l'organisme hôte, ouvrant des perspectives globales de génomique fonctionnelles et de biologie structurale. Cela permettra de préciser les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans l'infection et dans le processus d'échappement aux défenses de l'hôte. La notion de « biologie des systèmes intégrés » apparaît essentielle pour établir de nouveaux concepts sur l'adaptation des microorganismes à leurs hôtes et sur l'expression de leur pouvoir pathogène. La notion de tropisme devra être davantage prise en compte.

Si les maladies infectieuses restent la cause majeure de mortalité dans le monde, entraînant chaque année plus d'un quart des décès, seules les connaissances acquises par la recherche fondamentale permettront le développement régulier de nouvelles approches diagnostiques, thérapeutiques et éventuellement prophylactiques. Le CNRS a un rôle irremplaçable dans la compréhension moléculaire et cellulaire des microorganismes et des agents infectieux et de leurs relations avec la cellule et l'organisme hôte et l'élucidation de leur régulation génétique.

Une vision intégrée de la biologie des agents infectieux implique des actions multidisciplinaires d'ampleur et un niveau de moyens à la hauteur des enjeux. À l'évidence, cette dynamique de recherche n'est soutenue que par de trop rares sources, à quoi s'ajoute le désintérêt des industriels pharmaceutiques pour une recherche sur des pathologies qui le plus souvent sévissent dans les pays du tiers monde.

