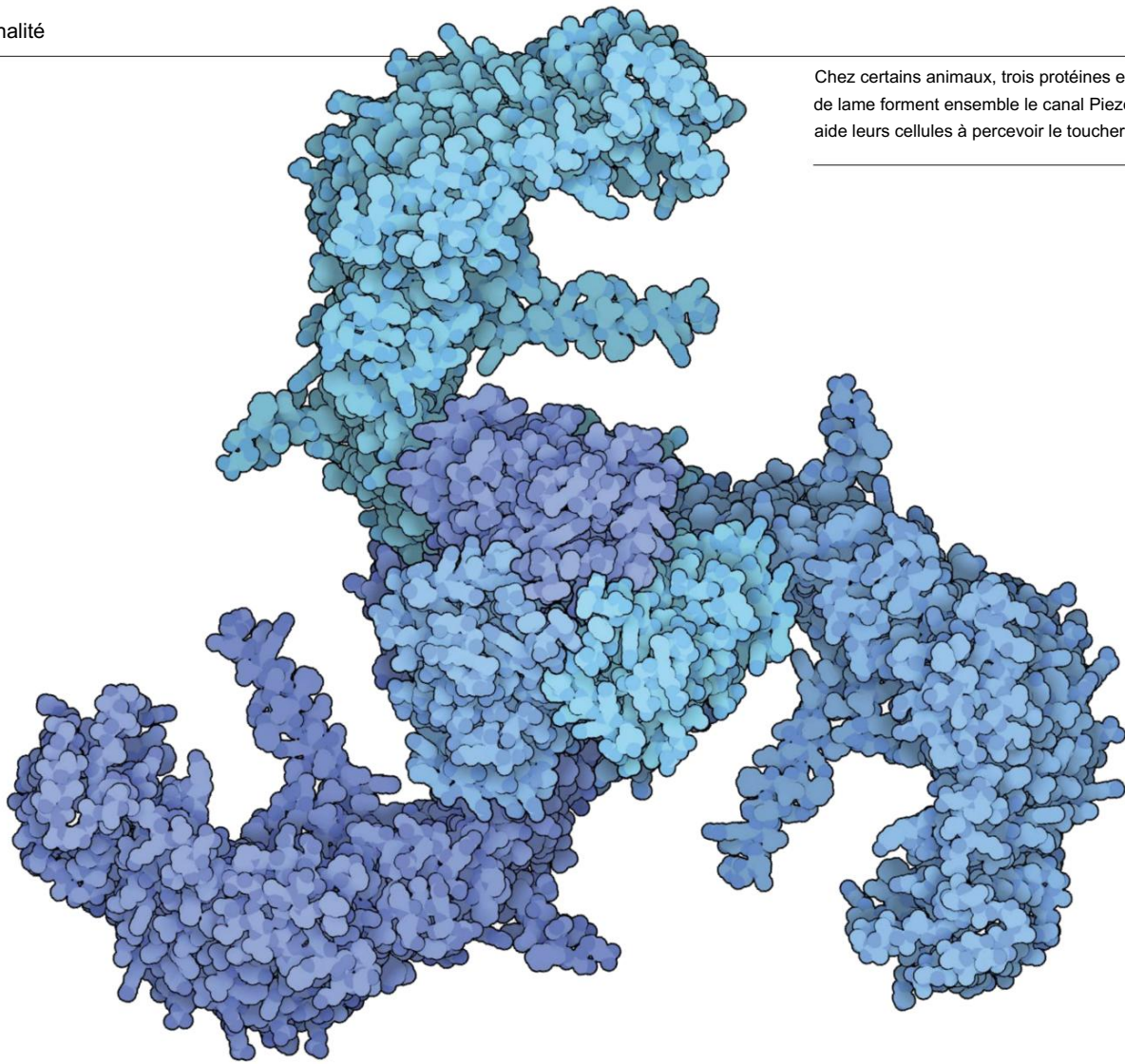




Chez certains animaux, trois protéines en forme de lame forment ensemble le canal Piezo1, qui aide leurs cellules à percevoir le toucher.

RESSENTEZ LA FORCE

Après des décennies passées à tenter de comprendre comment les cellules perçoivent le toucher et la pression, les scientifiques se concentrent désormais sur les protéines responsables. Par Amber Dance

T La fille s'efforçait de tenir ses bras et les mains fermes, mais ses doigts s'agitait et se tordaient. Si elle fermait Ses yeux se fermaient et ses mouvements s'intensifiaient. Ce n'était pas qu'elle manquait de force pour Elle devait garder ses membres immobiles — elle semblait tout simplement ne plus les contrôler.

Carsten Bönnemann se souvient d'avoir examiné l'adolescent dans un hôpital de Calgary, au Canada, en 2013. Neurologue pédiatrique à l'Institut national américain des troubles neurologiques et des accidents vasculaires cérébraux (NINDS) de Bethesda, dans le Maryland, il voyageait fréquemment pour donner son avis sur des cas complexes. Mais il n'avait jamais rien vu de tel.

Si elle ne regardait pas ses membres, la jeune fille semblait n'avoir aucune idée de l'endroit où ils se trouvaient. Elle n'avait pas conscience de la position de son corps dans l'espace, une capacité cruciale appelée proprioception. « C'est quelque chose qui ne se produit tout simplement pas », explique Bönnemann.

Son équipe a séquencé les gènes de la fille, ainsi que ceux d'une autre fille présentant des symptômes similaires¹, et a découvert des mutations dans un gène appelé PIEZO2. Leur timing était heureux : quelques années auparavant, des chercheurs cherchant les mécanismes que les cellules utilisent pour percevoir le toucher avaient découvert que le gène codait une protéine sensible à la pression².

La découverte de Piezo2 et d'une protéine apparentée,

Piezo1 a marqué une étape importante dans des décennies de recherche sur les mécanismes qui contrôlent le sens du toucher. Les piézos sont des canaux ioniques — des portes dans la membrane cellulaire qui permettent le passage des ions — sensibles à la tension.

« Nous avons beaucoup appris sur la façon dont les cellules... »

« La communication a presque toujours reposé sur la signalisation chimique », explique Ardem Patapoutian, neurobiologiste moléculaire au Scripps Research de La Jolla, en Californie, dont l'équipe a identifié les piézos. « Nous découvrons aujourd'hui que la sensation mécanique, cette force physique, est également un mécanisme de signalisation, et nous en savons encore très peu sur ce sujet. »

Le toucher est à la base du fonctionnement de presque tous les tissus et types de cellules, affirme Patapoutian.

Les organismes interprètent les forces qui les entourent pour comprendre leur environnement, apprécier une caresse et éviter les stimuli douloureux. Dans le corps, les cellules perçoivent le flux sanguin, le gonflement des poumons et la sensation de satiété dans l'estomac ou la vessie.

L'ouïe repose sur la capacité des cellules de l'oreille interne à détecter la force des ondes sonores.

Au cours de la dernière décennie, l'étude des protéines piézoélectriques et autres canaux ioniques mécanosensibles

a connu un essor considérable. Plus de 300 articles ont été publiés sur les seules protéines piézoélectriques ces trois dernières années. L'une des questions majeures concerne la manière dont ces protéines, situées dans la membrane cellulaire, perçoivent les forces et y réagissent. Grâce à la cryo-microscopie électronique (cryo-ME), les scientifiques ont progressé dans la compréhension de la structure particulière à trois lames des canaux piézoélectriques, mais le mécanisme complet reste encore inconnu. Les chercheurs découvrent également des rôles pour les protéines piézoélectriques au-delà du toucher ou de la proprioception. Par exemple, elles pourraient expliquer la résistance de certaines personnes au paludisme, et peut-être même la perte de densité osseuse observée chez les astronautes en orbite. Déjà, certains chercheurs envisagent de cibler les protéines sensibles aux forces avec des médicaments pour traiter, par exemple, la douleur chronique.

« Pendant longtemps, nous savions que les cellules faisaient cela, mais nous n'avions aucune idée du comment », explique Miriam Goodman, physiologiste sensorielle à l'université de Stanford en Californie. « La technologie piézo a vraiment changé la donne. »

Le toucher, un sens

difficile à cerner. D'autres sens, comme la vue ou le goût, sont mieux compris, explique Patapoutian : les photons qui frappent l'œil ou les substances chimiques qui pénètrent dans le nez et la langue activent tous des récepteurs de la même famille.

Ces récepteurs déclenchent l'ouverture de canaux ioniques, permettant ainsi l'entrée d'ions positifs. Cela dépolarise la cellule, convertissant le stimulus en un signal électrique que le cerveau peut décoder.

Les scientifiques soupçonnaient que, dans le toucher, la proprioception et l'audition, une seule protéine agissait à la fois comme capteur de force et comme canal ionique, car, dans l'audition, la signalisation est très rapide (de l'ordre de la microseconde). Mais l'identité de ces protéines unifiées capteur-canal restait en grande partie mystérieuse, du moins chez les mammifères. Les chercheurs avaient identifié certains canaux mécanosensibles.

chez les bactéries, les mouches des fruits et les vers nématodes.

Patapoutian et son collègue Bertrand Coste ont donc mis au point un plan. Ils partaient d'un type de cellule de souris capable de transformer une minuscule impulsion d'une pipette en un courant électrique mesurable. Coste inactiverait ensuite des gènes candidats de canaux ioniques, un gène différent dans chaque lot de cellules, et rechercherait un lot qui perdrait soudainement sa sensibilité tactile. Coste était confiant au départ, pensant qu'il lui faudrait quelques mois, voire quelques semaines, pour trouver la cellule responsable.

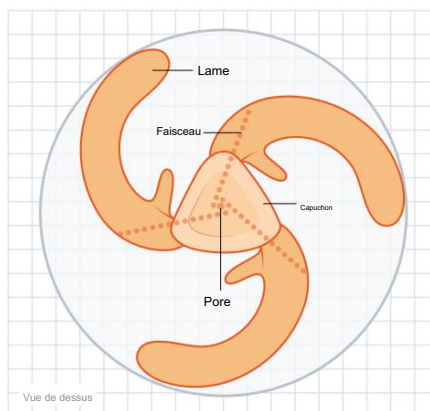
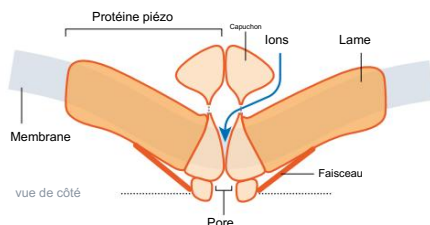
Cela a pris presque un an. Puis, peu de temps après,

CAPTEURS DE PRESSION

Les cellules possèdent des protéines spécialisées qui leur permettent de percevoir les forces. Les protéines piézoélectriques sont parmi les mieux caractérisées chez les mammifères ; elles forment des canaux qui transportent les ions à l'intérieur et à l'extérieur des cellules. Les chercheurs tentent de déterminer comment ces canaux s'ouvrent.

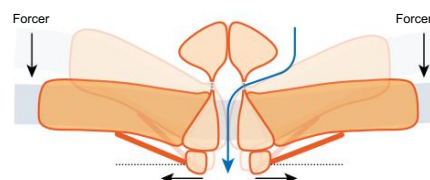
Gros plan sur la fermeture

L'imagerie des canaux fermés révèle qu'ils sont constitués de trois protéines piézo, chacune formant une lame et une poutre disposées autour d'un pore central. Le canal plisse la membrane dans laquelle il se situe, créant ainsi une cavité.

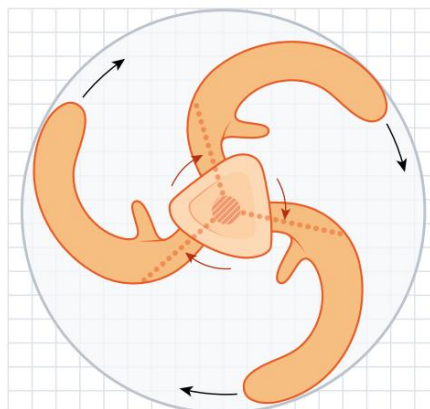


Gambits d'ouverture

Il n'existe aucune image de canaux piézo ouverts, mais les chercheurs ont quelques théories sur la façon dont ils pourraient s'ouvrir. Les lames incurvées pourraient s'aplatir pour faire éclore le pore, ou une force pourrait déplacer les lames, agissant d'une manière ou d'une autre sur les poutres pour ouvrir le canal.



Les lames pourraient tourner et ouvrir le pore en le tordant. Certaines études suggèrent que chaque lame peut se déplacer indépendamment.



Avant la fin de 2009, il observa quelque chose... ou plutôt rien. Coste tenta de stimuler la cellule avec sa pipette, mais celle-ci ne réagit pas. Il dut éliminer un canal ionique sensible à la force.

« C'était une très belle journée », se souvient Coste, aujourd'hui au CNRS à Marseille. Avec Patapoutian, il a nommé le gène de la souris Piezo1, d'après le mot grec signifiant pression, et a rapidement identifié Piezo2. Plus tard, l'équipe a établi un lien direct entre Piezo2 et la sensation tactile dans les neurones sensoriels et les cellules cutanées de

Lames cachées

Les chercheurs étaient en effervescence face à ce résultat, se souvient Goodman, notamment parce que les protéines Piezo étaient si grandes et complexes.

Composée de plus de 2 500 acides aminés et pesant 300 kilodaltons, la protéine Piezo1 traverse la membrane cellulaire un nombre record de 38 fois. (À titre de comparaison, les protéines de mammifères contiennent généralement environ 500 acides aminés.)

Malheureusement, cette taille gigantesque a entravé les chercheurs qui tentaient de répondre aux questions les plus cruciales dans le domaine piézoélectrique : comment les canaux détectent-ils la force ? Et comment s'ouvrent-ils et se ferment-ils ? La structure protéique est d'une grande aide pour répondre à ce genre de questions, explique le biophysicien Roderick MacKinnon de l'Institut Rockefeller. Université de New York. « On ne sait pas tant qu'on ne l'a pas vu. »

Les techniques structurales telles que la cristallographie aux rayons X et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire peinent à appréhender les protéines volumineuses et complexes, explique le neuroscientifique Bailong Xiao de l'université Tsinghua de Pékin, ancien chercheur postdoctoral dans le laboratoire de Patapoutian.

Heureusement, alors que Xiao mettait en place son laboratoire en 2013, une autre option pour obtenir des structures à haute résolution devenait disponible : la cryo-microscopie électronique. Son équipe a utilisé cette méthode pour décrire la première structure de Piezo1 en 2015, et depuis, plusieurs versions à plus haute résolution ont été publiées par les équipes de Xiao, MacKinnon et Patapoutian. En septembre dernier, Xiao a présenté une image de Piezo2, similaire à Piezo1 par sa taille et sa forme. Cette image de Piezo2 était la plus nette à ce jour des extrémités des trois lames, qui sont mobiles et donc difficiles à photographier.

Les images étaient saisissantes. Trois protéines piézo s'assemblent en un trimère qui chevauche la membrane plasmique (voir « Capteurs de pression »).

De ce pore central s'enroulent trois bras en spirale, tels les pales d'une hélice. Ils se courbent vers le haut et l'extérieur, creusant une profonde cavité à la surface de la cellule.

Patapoutian et Xiao pensent que lorsqu'une force s'exerce sur la membrane, les lames déplacent des « faisceaux » protéiques à l'intérieur du canal, ce qui, d'une manière ou d'une autre, ouvre le pore. Pour MacKinnon, la façon inhabituelle dont les lames des Piezos plissent la membrane suggère un mécanisme différent : si une poussée ou une traction augmente la tension de la membrane, le canal incurvé

pourrait s'aplatir, ouvrant ainsi le pore.

Ces hypothèses ne peuvent pas encore être testées, car les chercheurs n'ont pu étudier que des protéines Piezo isolées, séparées de leur membrane et dans leur conformation fermée.

Photographier un piézoélectrique dans une membrane ouverte devrait aider les scientifiques à percer ses secrets. « Nous voulons l'observer dans son environnement naturel. » « ciment », dit Patapoutian.

Plusieurs laboratoires tentent d'imager une protéine Piezo ouverte. L'équipe de Patapoutian utilise un composé activateur de Piezo1, baptisé Yoda1 en référence au petit maître Jedi vert et sensible à la Force de Star Wars. Patapoutian espère que la présence de Yoda1 permettra à Piezo1 de s'ouvrir et d'être visualisée. Il s'intéresse également à l'insertion de protéines Piezo dans des membranes artificielles appelées nanodisques, ce qui pourrait contribuer à stabiliser la conformation ouverte. De son côté, Xiao travaille avec la cryo-tomographie électronique, qui consiste à imager l'échantillon sous différents angles d'inclinaison, et qui pourrait permettre de clarifier la structure au sein d'une membrane native ou artificielle.

Point sensible :

Parallèlement aux études structurales, les scientifiques découvrent que les protéines Piezo jouent des rôles divers dans l'organisme.

En 2014, le neuroscientifique Alex Chesler venait de rejoindre le Centre national pour la santé complémentaire et intégrative à Bethesda. Inspiré par la découverte de Coste, il créait des souris dépourvues du gène Piezo2 afin d'étudier le rôle de ce canal dans la perception tactile. Un jour, il reçut un courriel de Bönnemann, qui travaillait dans le même bâtiment, au sujet de souris femelles dépourvues de proprioception.

Chesler monta directement à l'étage, dans le bureau de Bönnemann. Essoufflé, il annonça : « Vous n'imaginez pas ce que vous avez. » Chesler ne pouvait pas demander directement aux souris dépourvues de Piezo2 ce qu'elles ressentaient, ou plutôt ne ressentaient pas, mais il pouvait le demander aux humains. Lui et Bönnemann invitèrent les filles à Bethesda pour un examen plus approfondi de leur état. Toutes deux compensaient remarquablement bien leur handicap, utilisant leur vision pour marcher en ligne droite ou atteindre une cible.

Mais, les yeux bandés, ils peinaient. De même, ils pouvaient sentir la vibration d'un diapason contre leur peau car ils pouvaient l'entendre. Avec des écouteurs à réduction de bruit, ils n'ont absolument pas ressenti les vibrations¹.

Patapoutian a observé le même phénomène chez la souris : dépourvues de Piezo2 dans les nerfs innervant les muscles et les tendons, elles souffraient d'un manque de proprioception et d'une incoordination motrice . Son équipe a également mis en évidence le rôle de Piezo2 dans les neurones sensoriels de la douleur impliqués dans l'allodynie, une sensation douloureuse particulière où même une légère caresse est perçue comme une piqûre d'aiguille. Certaines personnes souffrant de douleurs neuropathiques ressentent cette hypersensibilité en permanence.

Les souris présentent normalement une allodynie lorsqu'on leur injecte de la capsaïcine — la molécule épicée présente dans les piments forts — ou après une lésion nerveuse, mais pas si elles sont dépourvues du gène Piezo2² .

Chesler et Bönnemann ont rapporté des changements similaires dans la perception de la douleur chez les personnes présentant des mutations PIEZO28 .

« La douleur chronique a un effet tellement invalidant », déclare Swetha Murthy, qui a dirigé l'une des études sur l'allodynie lorsqu'elle était postdoctorante auprès de Patapoutian . « Je pense que nous pouvons commencer à étudier les cibles thérapeutiques de Piezo2 pour ces neuropathies. » Patapoutian et Chesler sont tous deux à la recherche de composés capables de bloquer l'activité de Piezo2 au niveau d'un site douloureux, sans interférer avec les autres rôles de la protéine dans tout le corps.

« Le potentiel de la découverte de médicaments par canaux piézoélectriques est énorme », déclare Xiao.

Il n'y a pas que les neurones qui ont besoin de percevoir le toucher ; presque toutes les cellules sont soumises à une forme de force. Prenons l'exemple des globules rouges, qui se déforment pour se faufiler dans les capillaires. Les mutations qui hyperactivent le gène Piezo1 entraînent un rétrécissement des globules rouges , ce qui peut provoquer une anémie chez les personnes atteintes d'une maladie rare appelée stomatocytose héréditaire déshydratée.

Ces globules rouges comprimés rappelaient à Patapoutian l'anémie falciforme.

« Le potentiel de la découverte de médicaments par canaux piézoélectriques est énorme. »

La mutation du gène de la drépanocytose persiste chez de nombreuses personnes d'origine africaine car elle les protège contre le paludisme, et Patapoutian s'est demandé si les mutations du gène PIEZO1 pouvaient avoir le même effet.

Si tel est le cas, on devrait observer un taux relativement élevé de telles mutations chez les personnes d'origine africaine. Les recherches dans les bases de données ont révélé que Patapoutian avait raison : en fait, une variante particulière de PIEZO1 est apparue chez un tiers des personnes de la base de données ayant des ancêtres africains. Une autre équipe a signalé que les porteurs de cette mutation PIEZO1 sont résistants au paludisme grave¹⁰.

D'après les travaux du laboratoire de Xiao, Piezo1 joue également un rôle dans la formation et le maintien des os. Lorsque son équipe a désactivé le gène Piezo1

Chez les ostéoblastes de souris (cellules responsables de la formation osseuse), les animaux étaient plus petits et plus maigres que la normale. Leurs os longs, qui supportent le poids du corps, étaient plus légers, plus fins et plus fragiles que chez les souris témoins.

De plus, les souris de type sauvage qui sont partiellement suspendues dans l'air — de sorte qu'elles n'ont pas à supporter tout leur poids corporel — ont des niveaux d'expression de Piezo1 et de masse osseuse inférieurs¹¹.

« C'est un phénomène très similaire à ce qui se produit chez les personnes atteintes d'ostéoporose, celles qui sont alitées et les astronautes et cosmonautes à bord de la Station spatiale internationale », explique Xiao.

Points de pression

« La découverte de Piezos a constitué un énorme pas en avant pour tout le domaine », déclare Kate Poole, biologiste à l'Université de Nouvelle-Galles du Sud.

à Sydney, en Australie, mais « il est également clair que l'histoire ne se limite pas à Piezos ».

Les scientifiques intéressés par l'audition recherchent le canal pertinent depuis quatre décennies.

« Il y a eu beaucoup de fausses pistes en cours de route », explique Jeffrey Holt, neuroscientifique à l'hôpital pour enfants de Boston, dans le Massachusetts.

« Maintenant, nous pensons avoir une bonne maîtrise de la situation. »

La protéine clé du canal est appelée TMC1. Lorsque Holt a modifié les acides aminés de TMC1, la procédure a altéré la capacité des cellules de l'oreille interne à convertir les signaux mécaniques en signaux électriques¹². Une autre étude a montré que TMC1 purifié est capable de créer un canal ionique mécanosensible dans des bulles membranaires artificielles¹³. La structure de TMC1 demeure cependant un mystère, car la protéine s'est avérée difficile à purifier en quantité suffisante pour obtenir des images de cryo-microscopie électronique de bonne qualité.

L'équipe de Patapoutian, quant à elle, recherche des familles de canaux entièrement nouvelles. En 2018, Patapoutian, Murthy et Andrew Ward, biologiste structural à Scripps, ont décrit ce qu'ils pensent être le plus grand groupe de canaux mécano-activés . Ils connaissaient une famille de protéines qui aide les plantes à percevoir la pression osmotique — les protéines OSCA — et ont supposé qu'elles pourraient percevoir la force de manière plus générale. Dans les cellules rénales humaines , les protéines OSCA ont effectivement réagi à l'étirement de la membrane cellulaire induit par Murthy¹⁴ .

Les chercheurs savaient également, grâce à des études antérieures, que les protéines OSCA étaient étroitement apparentées à une autre famille de protéines chez les mammifères, les protéines TMEM63. Les canaux TMEM63 de souris, d'humains et même de drosophiles réagissaient également à l'étirement dans les tests de Murthy ; ainsi, les protéines OSCA et TMEM63 constituent une vaste famille de capteurs de force commune à de nombreux êtres vivants.

Les canaux découverts jusqu'à présent ne peuvent pas « Cela explique tous les cas de mécanosensibilité cellulaire » , affirme Murthy, aujourd'hui biophysicien et neuroscientifique à l'Oregon Health & Science University de Portland. « Il doit exister d'autres mécanorécepteurs . »

Et ces capteurs ont probablement plus de fonctions qu'on ne le pense aujourd'hui, affirme Patapoutian.

« Nous avons à peine effleuré le problème. »

Amber Dance est une rédactrice indépendante basée à Los Angeles, en Californie.

- Chesler, AT et al. N. Engl. J.Méd. 375, 1355-1364 (2016).
- Coste, B. et coll. Sciences 330, 55-60 (2010).
- Ranade, SS et al. Nature 516, 121–125 (2014).
- Ge, J. et coll. Nature 527, 64-69 (2015).
- Wang, L. et coll. Nature 573, 225-229 (2019).
- Woo, SH et al. Nature Neurosci. 18, 1756–1762 (2015).
- Murthy, SE et al. Sci. Transl. Med. 10, eaat9897 (2018).
- Szczot, M. et al. Sci. Transl. Med. 10, eaat9892 (2018).
- Ma, S. et al. Cell 173, 443–455 (2018).
- Nguetse, CN et al. Prépublication sur bioRxiv https://doi.org/10.1101/691253 (2019).
- Sun, W. et coll. eLife 8, e47454 (2019).
- Pan, B. et coll. Neuron 99, 736-753 (2018).
- Jia, Y. et coll. Neuron https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.10.017 (2019).
- Murthy, SE et coll. eLife 7, e41844 (2018).