

DÉTECTION *IN VIVO* DU RECRUTEMENT ET DE L'ACTIVATION D'AP-1 PAR ARF1

Etiene Sauvageau, Peter J. McCormick and Stephane Lefrançois

Des perturbations dans le transport des protéines entre le réseau *trans*-Golgien, les endosomes et les lysosomes sont à l'origine de plusieurs maladies humaines. Une meilleure compréhension des mécanismes de transport des protéines entre ces différentes organelles pourraient donc mener au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Le complexe adaptateur protéique 1 (AP-1) permet la formation des vésicules tapissées de clathrine responsables du transport des protéines entre le TGN et les endosomes. Une fois associé à la membrane, AP-1 interagit avec la queue cytoplasmique de protéines cargo transmembranaires et recrute simultanément les molécules de clathrine afin d'initier la formation des vésicules de transport. La structure cristalline d'AP-1 avec la petite GTPase Arf1, qui recrute AP-1 au niveau du TGN, suggère différentes interfaces d'interactions impliquées dans le recrutement et l'activation allostérique d'AP-1 par Arf1. Pour l'instant, le modèle d'activation d'AP-1 repose principalement sur des expériences effectuées *in vitro* avec des protéines tronquées purifiées. Nous proposons d'utiliser la technique de transfert d'énergie par résonance de bioluminescence (BRET) afin d'étudier l'interaction AP-1/Arf1, la structure oligomérique d'AP-1 et les changements conformationnels associés à l'activation d'AP-1 dans des cellules vivantes. Des courbes de titration de BRET révèlent l'interaction entre AP-1 et Arf1 dans les cellules et des mutations dans des résidus suggérés par la structure cristalline inhibent cette interaction. De plus, AP-1 semble exister principalement sous forme monomérique dans le cytoplasme et adopte une structure oligomérique après son recrutement à la membrane et son activation par Arf1. Finalement le BRET peut détecter le changement conformationnel associé à l'activation d'AP-1 et le rôle d'Arf1 dans ce processus.