



teurs. Nous utilisons actuellement différents modèles animaux afin d'apporter la preuve du concept que la reptine est effectivement une cible attractive. ♦

### A little less respite for hepatocellular carcinoma?

#### RÉFÉRENCES

- Blanc JF, Lalanne C, Plomion C, et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins in hepatocellular carcinoma developed in patients with chronic viral hepatitis C. *Proteomics* 2005; 5: 3778-89.
- Shen X, Mizuguchi G, Hamiche A, et al. A chromatin remodelling complex involved in transcription and DNA processing. *Nature* 2000; 406: 541-4.
- Ikura T, Ogryzko VV, Grigoriev M, et al. Involvement of the TIP60 histone acetylase complex in DNA repair and apoptosis. *Cell* 2000; 102: 463-73.
- Puri T, Wendl P, Sigala B, et al. Dodecameric structure and ATPase activity of the human TIP48/TIP49 complex. *J Mol Biol* 2007; 366: 179-92.
- Bauer A, Chauvet S, Huber O, et al. Pontin52 and reptin52 function as antagonistic regulators of beta-catenin signalling activity. *EMBO J* 2000; 19: 6121-30.
- Wood MA, McMahon SB, Cole MD. An ATPase/helicase complex is an essential cofactor for oncogenic transformation by c-Myc. *Mol Cell* 2000; 5: 321-30.
- Kim JH, Kim B, Cai L, et al. Transcriptional regulation of a metastasis suppressor gene by Tip60 and beta-catenin complexes. *Nature* 2005; 434: 921-6.
- Rousseau B, Ménard L, Haurie H, et al. Overexpression and role of the ATPase and putative DNA helicase RuvB-like 2 in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 46: 1108-18.
- Weiske J, Huber O. The histidine triad protein Hint1 interacts with Pontin and Reptin and inhibits TCF-beta-catenin-mediated transcription. *J Cell Sci* 2005; 118: 3117-29.
- Cho SG, Bhoumik A, Broday L, et al. TIP49b, a regulator of activating transcription factor 2 response to stress and DNA damage. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 8398-413.
- Talantov I, Mazumder A, Yu JX, et al. Novel genes associated with malignant melanoma but not benign melanocytic lesions. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7234-42.
- Graudens R, Boulanger V, Mollard C, et al. Deciphering cellular states of innate tumor drug responses. *Genome Biol* 2006; 7: R19.
- Sanchez-Carbayo C, Succi ND, Lozano J, et al. Defining molecular profiles of poor outcome in patients with invasive bladder cancer using oligonucleotide microarrays. *J Clin Oncol* 2006; 24: 778-89.

## NOUVELLE

### Nouveau dialogue entre récepteurs et protéines G trimériques « Une danse à corps enlacés »

Céline Galés, Michel Bouvier

Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) constituent la plus grande classe de récepteurs membranaires. Ils régulent un large éventail de processus physiologiques et représentent donc des cibles importantes pour le développement de médicaments. Les RCPG assurent la conversion de signaux extracellulaires en messages intracellulaires via des protéines G hétérotrimériques  $\alpha\beta\gamma$ . Selon le modèle « collisionnel » généralement accepté et déduit d'expériences réalisées dans des systèmes reconstitués, l'activation de la protéine G passe par son recrutement par le RCPG occupé par l'agoniste, suivi de sa dissociation en sous-unités  $\alpha$  et dimères  $\beta\gamma$  capables d'agir sur leurs effecteurs respectifs [1] (Figure 1A). Bien que différentes techniques biophysiques permettent d'appréhender les changements conformationnels du RCPG ou de la protéine G consécutifs à leur activation [2], la dynamique des réar-

rangements structuraux se produisant à l'interface des deux partenaires est à ce jour encore inconnue.

Nous avons récemment étudié les relations RCPG/protéine G et les mécanismes d'activation de celle-ci en tirant profit du principe biophysique de transfert d'énergie bioluminescente par résonance (BRET) [3]. Ce transfert d'énergie se produit entre une protéine donneuse d'énergie, la luciférase de *Renilla reniformis*, et une protéine acceptrice d'énergie, un variant de la protéine fluorescente verte, GFP [4] lorsque la distance entre partenaires est inférieure à 100Å. Il est très sensible à ce paramètre car son efficacité est fonction de la distance donneur/accepteur à la puissance 6, ce qui fait du BRET un outil de choix pour étudier les interactions protéine-protéine et les changements conformationnels. Ainsi, l'« étiquetage » de RCPG et de sous-unités des protéines G avec les partenaires BRET, nous a permis de

C. Galés : Inserm U858, Équipe 8 « Pharmacologie moléculaire et clinique du système nerveux autonome », I2MR, CHU Rangueil, BP84225, 31432 Toulouse Cedex 4, France. [celine.gales@toulouse.inserm.fr](mailto:celine.gales@toulouse.inserm.fr)

M. Bouvier : Groupe de recherche universitaire sur le médicament, Université de Montréal, 2900, boulevard Édouard-Montpetit, Montréal, Québec H3T 1J4, Canada. [michel.bouvier@umontreal.ca](mailto:michel.bouvier@umontreal.ca)

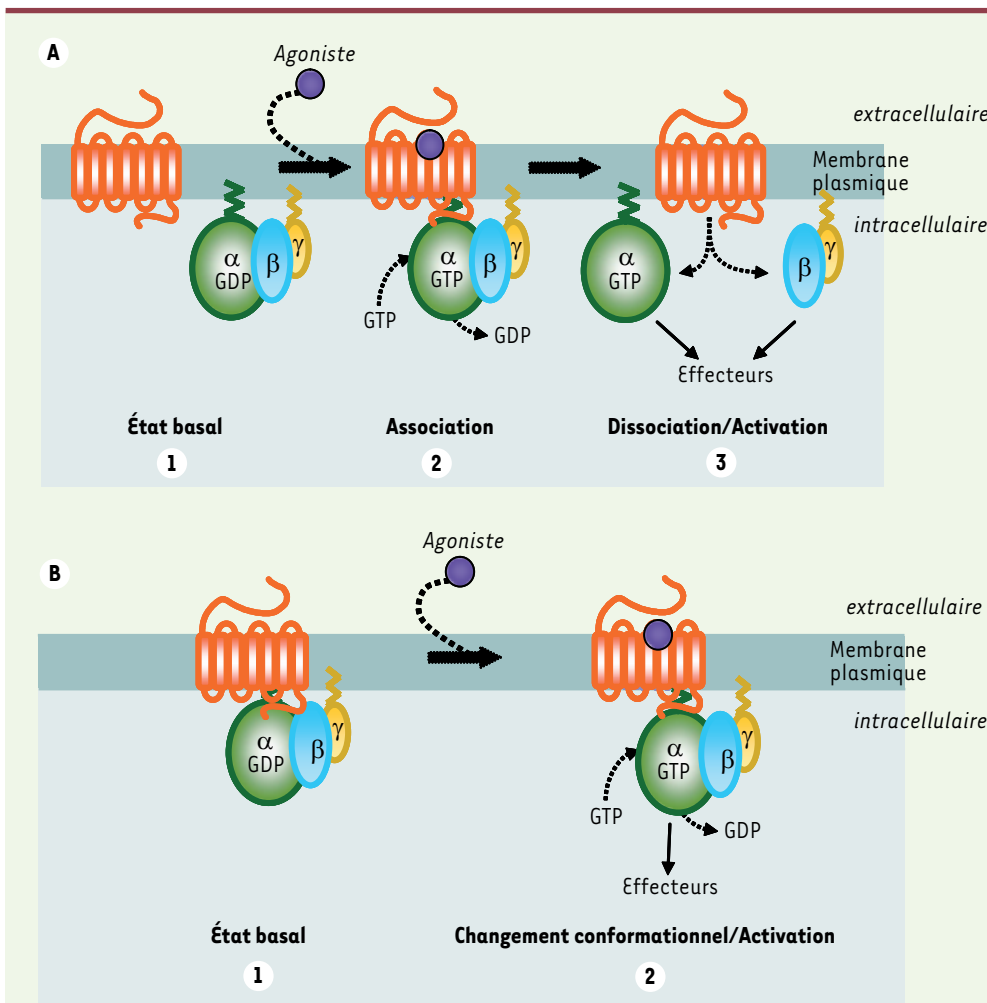
mesurer pour la première fois l'interaction et les mouvements entre un RCPG et les protéines G en temps réel dans des cellules vivantes [3]. Ce premier travail, réalisé en utilisant le récepteur  $\beta_2$  adrénergique et les sous-unités  $G\beta_1$  ou  $G\gamma_2$ , nous a permis de valider l'utilisation des biosenseurs décrits plus haut pour mesurer l'engagement de la protéine G consécutif à l'activation du RCPG. L'activation du RCPG entraîne une augmentation du signal BRET, suggérant un rapprochement entre le RCPG et la protéine G compatible avec le modèle « collisionnel ». Toutefois, en l'absence de stimulation l'observation d'un signal BRET basal spécifique n'excluait pas la possibilité que l'augmentation du BRET reflète un réarrangement moléculaire local au sein d'un complexe RCPG-

protéine G préexistant. Pour tester cette possibilité, nous avons multiplié « les yeux » de la protéine G en créant une série de sondes susceptibles de mieux rendre compte des changements moléculaires, procurant ainsi un plus grand nombre de « points de vue » [5]. Différents senseurs BRET ont été fusionnés aux sous-unités  $G\alpha_{i1}$ ,  $G\beta_1$  et  $G\gamma_2$  permettant ainsi non seulement de mesurer l'interaction du RCPG avec les trois sous-unités de la protéine G, mais aussi les interactions entre  $G\alpha$  et

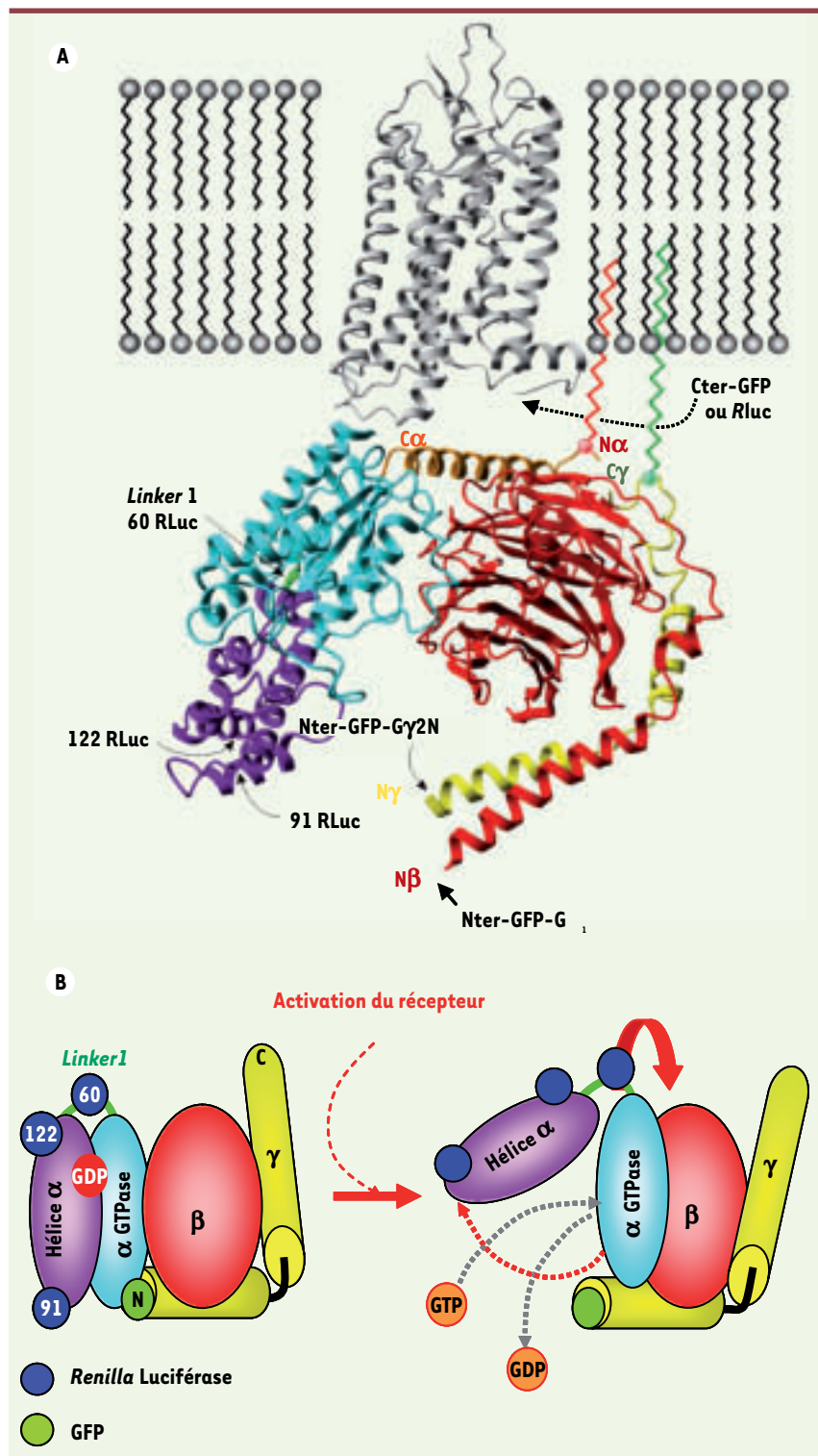
$G\beta\gamma$  (Figure 2A). Des sondes ont également été introduites dans trois positions de la sous-unité  $G\alpha_{i1}$  rendant ainsi perceptibles les mouvements à partir de plusieurs points de référence dans la même protéine. Cette stratégie de multi-positionnement a permis d'observer des augmentations ou des diminutions du signal BRET en fonction de la position des sondes, et donc d'indiquer que les modulations du signal BRET induites par l'agoniste reflètent des changements confor-

mationnels d'un complexe RCPG-protéine G préformé à l'état de base. La cinétique rapide des changements de BRET ( $t_{1/2} \sim 250$  ms) est compatible avec cette hypothèse. Par ailleurs, la stabilité du signal durant les premières minutes d'activation est aussi difficilement conciliable avec le modèle « collisionnel » qui propose une dissociation rapide du complexe. En effet, une séparation du RCPG et des sous-unités  $G\alpha$  et  $G\beta\gamma$  devrait conduire à une perte rapide du signal

BRET, ce qui n'a pas été observé même en utilisant une protéine  $G\alpha_{i1}$  mutante déficiente en activité GTPasique qui, selon le modèle classique, devrait favoriser la dissociation. Ces données suggèrent donc que l'activation des protéines G résulte d'un réarrangement conformationnel d'un complexe RCPG- $G\alpha\beta\gamma$  préformé sans dissociation rapide de ses composantes (Figure 1B). Au-delà d'un nouveau modèle opérationnel pour les RCPG, l'application de la stratégie de « multi-sondes BRET » au sein du complexe  $G\alpha\beta\gamma$  nous a permis de proposer un modèle structural d'activation du trimère  $G\alpha\beta\gamma$  compatible avec les données de cristallographie et de modélisation moléculaire [2, 6, 7]. Selon ce modèle (Figure 2B), l'activation de la protéine G par le récepteur induit un réarrangement relatif de la sous-unité  $G\alpha$  et du dimère  $G\beta\gamma$  qui se traduit par une ouverture du domaine hélicale de



**Figure 1. Modèles d'activation des protéines G hétérotrimériques par les RCPG. A. Modèle « collisionnel ».** À l'état basal, la protéine G se trouve sous forme d'un hétérotrimère composé des sous-unités  $G\alpha\beta\gamma$  fortement associées entre elles et physiquement dissocié du récepteur (1). L'activation du récepteur par le ligand agoniste entraîne le recrutement de la protéine  $G\alpha\beta\gamma$  au récepteur avec pour conséquence, un échange GDP/GTP au niveau de la sous-unité  $G\alpha$  (2). Cet échange entraîne la dissociation du récepteur et des sous-unités  $G\alpha$  et  $G\beta\gamma$  libres capables d'activer leurs effecteurs (3). **B. Modèle « conformationnel ».** À l'état basal, la protéine G hétérotrimérique est déjà associée au récepteur (1). La liaison d'un ligand agoniste induit un changement conformationnel du récepteur au sein du complexe préexistant entraînant l'activation de la protéine G (2).



$G\alpha$  requise pour l'échange GDP/GTP. Dans le même temps, une réorganisation de l'interface entre le domaine GTPasique de  $G\alpha$  et  $G\beta\gamma$  permettrait l'engagement sélectif de leurs effecteurs propres.

### En conclusion

Notre travail suggère qu'une fraction importante des RCPG existe sous forme pré-complexée avec  $G\alpha\beta\gamma$  et que l'activation de la protéine G par le RCPG relève d'un réarrangement structural de ce complexe. D'un point de vue conceptuel, l'existence d'un tel complexe pourrait permettre une modulation spatio-temporelle sélective des effecteurs régulés par un couple RCPG/protéine G donné. La description récente de complexes constitutifs entre RCPG et effecteurs [8] ou entre protéine G et effecteurs [9, 10] renforce cette notion de complexes de signalisation pré-assemblés. D'un point de vue technique, notre travail suggère que des bio-senseurs BRET multiplexés RCPG/protéine G seront utiles pour identifier les voies de signalisation spécifiques engagées par un RCPG donné, en particulier par les récepteurs orphelins. Ils permettront aussi d'apprécier des conformations distinctes des complexes RCPG/protéine G stabilisées par des ligands ayant des propriétés pharmacologiques différentes.  $\diamond$

**New talk between receptor and trimeric G proteins: "an intertwined body dance"**

### RÉFÉRENCES

1. Gilman AG. G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 615-49.
2. Cabrera-Vera TM, Vanhauwe J, Thomas TO, et al. Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev* 2003; 24: 765-81.

**Figure 2. A. Sites d'insertion des bio-senseurs de BRET.** Illustration de la structure tridimensionnelle du complexe  $G\alpha i1\beta1\gamma2$  et de la rhodopsine au niveau de la membrane plasmique. Les positions des diverses sondes de BRET (*Renilla* luciférase, RLuc et protéine fluorescente verte, GFP) dans la structure du complexe sont indiquées par des flèches. Les insertions en position amino- et carboxy-terminale sont identifiées par Nter et Cter tandis que les insertions au cœur de la séquence sont identifiées par le numéro de l'acide aminé précédant le site d'insertion. **B. Modèle structural d'activation des protéines G hétérotrimériques.** Représentation des changements conformationnels accompagnant l'activation des protéines G hétérotrimériques tel que proposé par Cherfils et al. [6] et soutenus par les changements de BRET perçus par les diverses sondes de BRET représentées sur le schéma.

3. Galés C, Rebois RV, Hogue M, *et al.* Real-time monitoring of receptor and G-protein interactions in living cells. *Nat Methods* 2005 ; 2 : 177-84.
4. Pflieger KD, Eidne KA. Illuminating insights into protein-protein interactions using bioluminescence resonance energy transfer (BRET). *Nat Methods* 2006 ; 3 : 165-74.
5. Galés C, Van Durm JJ, Schaak S, *et al.* Probing the activation-promoted structural rearrangements in preassembled receptor-G protein complexes. *Nat Struct Mol Biol* 2006 ; 13 : 778-86.
6. Cherfils J, Chabre M. Activation of G-protein Galpha subunits by receptors through Galpha-Gbeta and Galpha-Ggamma interactions. *Trends Biochem Sci* 2003 ; 28 : 13-7.
7. Bourne HR. How receptors talk to trimeric G proteins. *Curr Opin Cell Biol* 1997 ; 9 : 134-42.
8. Lavine N, Éthier N, Oak JN, *et al.* G protein-coupled receptors form stable complexes with inwardly rectifying potassium channels and adenylyl cyclase. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 46010-9.
9. Riven I, Iwanir S, Reuveny E. GIRK channel activation involves a local rearrangement of a preformed G protein channel complex. *Neuron* 2006 ; 51 : 561-73.
10. Rebois RV, Robitaille M, Galés C, *et al.* Heterotrimeric G proteins form stable complexes with adenylyl cyclase and Kir3.1 channels in living cells. *J Cell Sci* 2006 ; 119 : 2807-18.

## NOUVELLE

### PGC-1 $\alpha$ régule la jonction neuromusculaire et améliore la dystrophie musculaire de Duchenne

Anne-Sophie Arnold

Physiology Institute, Université de Zürich,  
Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich, Suisse.  
[a.arnold@access.uzh.ch](mailto:a.arnold@access.uzh.ch)

> Le coactivateur 1 $\alpha$  du récepteur  $\gamma$  activé par le proliférateur du peroxydase (PPAR $\gamma$ ), ou PGC-1 $\alpha$ , identifié par l'équipe de Christoph Handschin et Bruce Spiegelman, confère une spécificité transcriptionnelle à PPAR $\gamma$  [1]. Ce facteur est en fait une plateforme protéique qui relie les facteurs de transcription au complexe d'initiation de la transcription et participe au traitement de l'ARN messager cible.

La fonction principale de PGC-1 $\alpha$  est de stimuler l'augmentation du nombre de mitochondries ainsi que le métabolisme oxydatif. Ce facteur est en effet très exprimé dans les tissus caractérisés par un métabolisme oxydatif intense, comme le cœur, le rein, le cerveau, le tissu adipeux brun, et le muscle squelettique [2]. C'est en particulier au niveau de ce dernier tissu que PGC-1 $\alpha$  semble jouer un rôle très important. La concentration en PGC-1 $\alpha$  est plus forte dans les muscles riches en fibres de type I et II a, comme le muscle soléaire [3], et l'expression de PGC-1 $\alpha$  est favorisée par l'exercice, à la fois chronique et aigu [4]. Il a été suggéré que ce facteur pourrait être le médiateur des effets anti-apoptotiques qu'exerce l'activité nerveuse sur la masse musculaire.

#### PGC-1 $\alpha$ et la jonction neuro-musculaire

Ainsi, PGC-1 $\alpha$  semble être un régulateur important dans le programme de la jonction neuromusculaire (JNM). La taille et la morphologie de la JNM évoluent pendant le développement, mais également selon le degré d'activité physique ainsi que la distribution des différents types de fibres musculaires présents. D'après Handschin *et al.*, PGC-1 $\alpha$  est très important dans le cadre de l'adaptation du muscle aux changements d'activité (exercice, modifications physiologiques), mais il n'a qu'un rôle modéré dans la régulation des fonctions musculaires de base. Les niveaux d'expression de PGC-1 $\alpha$  sont également importants pour la formation des agrégats de récepteurs à l'acétylcholine dans les fibres musculaires isolées, une des étapes précoces de l'installation de la JNM.

Les voies de signalisation de l'agraine et de la neuréguline 1 (NRG-1), deux acteurs essentiels dans la formation et la plasticité de la JNM, convergent toutes les deux vers le facteur de transcription *GA binding protein* (GABP), dont l'activité est régulée par PGC-1 $\alpha$  [5, 6]. Pour la première fois, il est

montré que PGC-1 $\alpha$  établit une réelle liaison physique avec GABP et la coactive. En fait, PGC-1 $\alpha$  est nécessaire pour que la phosphorylation de GABP activée par NRG-1 (et par conséquent l'augmentation d'expression des gènes de la JNM) ait lieu. Cette interaction entre PGC-1 $\alpha$  et GABP dépend étroitement de leur état de phosphorylation respectif. Les auteurs suggèrent que les modifications post-traductionnelles de GABP sont responsables du recrutement de PGC-1 $\alpha$  par GABP.

#### Action bénéfique de PGC-1 $\alpha$ dans les myopathies

Les auteurs de cette étude ont fait des observations très intéressantes chez des souris *mdx* (le modèle animal classique pour la myopathie musculaire de Duchenne ou DMD) transgéniques pour l'expression ciblée de PGC-1 $\alpha$  uniquement dans le muscle. Il en résulte une amélioration nette du phénotype de ces souris qui se traduit par des niveaux plus bas de créatine kinase, une réduction du nombre de lésions nécrotiques, une moindre altération des fibres musculaires, et une amélioration des fonctions musculaires