

Le sexe des levures, le complexe $\beta\gamma$ des G-protéines et la phospholipase A_2

**Les nouvelles de ce numéro ont été préparées par :
Pascale Briand
Jean-Claude Dreyfus
Jean-Pierre Grünfeld
Axel Kahn
Marc Peschanski**

1. Logothetis DE, Kurachi Y, Galper J, Neer EJ, Clapham DE. The $\beta\gamma$ subunits of GTP-binding proteins activate the muscarinic K^+ channel. *Nature* 1987 ; 325 : 321-6.
2. Codina J, Yatani A, Grenet D, Brown AM, Birnbaumer L. The α subunit of the GTP binding protein G_i opens atrial potassium channels. *Science* 1987 ; 236 : 442-5.
3. Yatani A, Mattera R, Codina J, et al. The G-protein-gated atrial K^+ channel is stimulated by three distinct $G_i\alpha$ subunits. *Nature* 1988 ; 336 : 680-2.
4. Jelsema CL, Axelrod J. Stimulation of phosphokinase A_2 activity in bovine outer segments by the $\beta\gamma$ subunits of transducin and its inhibition by the α subunit. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 2623-7.
5. Kim D, Lewis DL, Graziadei L, Neer EJ, Bar-Sagi D, Clapham DE. G-protein $\beta\gamma$ subunits activate the cardiac muscarinic K^+ channel via phospholipase A_2 . *Nature* 1989 ; 337 : 557-60.
7. Kurachi Y, Ito H, Sugimoto T, Shimizu T, Miki I, Ui M. Arachidonic acid metabolites as intracellular modulators of the G-protein-gated cardiac K^+ channel. *Nature* 1989 ; 337 : 555-7.
8. Bourne HR. G-protein subunits : who carries what message? *Nature* 1989 ; 337 : 504-5.
9. Whiteway M, Hougan L, Dignard D, et al. The STE4 and STE18 genes of yeast encode potential β and γ subunits of the mating factor receptor-coupled G protein. *Cell* 1989 ; 56 : 467-77.
10. Blinder D, Bouvier S, Jenness DD. Constitutive mutants in the yeast pheromone response : ordered function of the gene products. *Cell* 1989 ; 56 : 479-86.

médecine/sciences s'est fait l'écho d'un rude débat scientifique entre deux équipes américaines concernant l'entité active de la G-protéine G_i dans le couplage de l'activation du récepteur muscarinique de l'acétylcholine avec l'ouverture des canaux potassiques de cœur [1, 2]. Logothetis *et al.*, du laboratoire de D.E. Clapham, à la « Mayo Fondation » (Rochester, MI, USA), rapportaient que l'élément actif était le complexe $\beta\gamma$ de la protéine G_i , dissocié de la protéine α_i après l'activation du récepteur : cette activation catalyse la transition $\alpha_i \text{ GDP}/\beta\gamma \rightarrow \alpha_i \text{ GTP} + \beta\gamma$ [1]. Le dogme étant que l'élément actif des G-protéines est la sous-unité α , ce résultat souleva beaucoup d'incrédulité et fut réfuté par le groupe de Birnbaumer et Brown [2], qui montrèrent sans ambiguïté que α_i , purifiée, produite par génie génétique, stimulait l'ouverture des canaux potassiques [2, 3]. Néanmoins, ces deux affirmations « α_i ou $\beta\gamma$ sont les activateurs des canaux » sont vraies. L'activation par α_i représente très probablement le mécanisme « normal » couplant le récepteur muscarinique aux canaux potassiques. Le complexe $\beta\gamma$, quant à lui, pourrait agir par une voie indirecte en stimulant la phospholipase A_2 et donc la production d'acide arachidonique et de ses dérivés [4, 5]. Les dérivés de l'acide arachidonique issus de l'action de la lipoxigénase (les leucotriènes) stimulent eux-mêmes les canaux potassiques [5, 6]. La stimulation par le complexe $\beta\gamma$ est inhibée par des anticorps antiphospholipase A_2 et par un inhibiteur de la lipoxigénase, l'acide nordihydroguaiarétique [6, 7]. Cet inhibiteur étant incapable de découpler les canaux potassiques du récepteur muscarinique, il est cependant clair que ce n'est pas par la voie de la phospholipase A_2 (et donc pas par l'intermédiaire du complexe $\beta\gamma$) que l'acétylcholine agit sur les canaux potassiques. La place exacte de l'activation du métabolisme de l'acide arachidonique dans le contrôle de la conductance des canaux potassiques reste donc mystérieuse à ce jour [8]. Il n'en reste pas moins que ces résultats sont importants à deux titres, au moins : ils décrivent l'un des mécanismes de l'activation de la phospholipase A_2 , activation qui pourrait bien être couplée à la stimulation d'un récepteur via la dissociation de la G-protéine $\alpha/\beta\gamma$. Ils confirment aussi que les sous-unités $\beta\gamma$ n'ont pas un rôle limité à l'« ancrage » à la membrane des protéines G. C'est à une semblable indication qu'aboutissent, dans un tout autre domaine, des résultats sur le système génétique contrôlant la « sexualité » de la levure. Des levures haploïdes de signes différents, α et a , peuvent se conjuguer pour donner des diploïdes a/α . La conjugaison est déclenchée quand des peptides α ou a libérés par les cellules haploïdes, les « phéromones », se fixent à un récepteur spécifique synthétisé par la cellule de signe opposé. Les récepteurs sont couplés aux systèmes intracellulaires par l'intermédiaire des produits des gènes SCG1, STE4 et STE18 qui sont respectivement les équivalents de sous-unités — α , β et γ — des G-protéines de mammifères. Les levures mutées dans le gène SCG1 (codant pour une

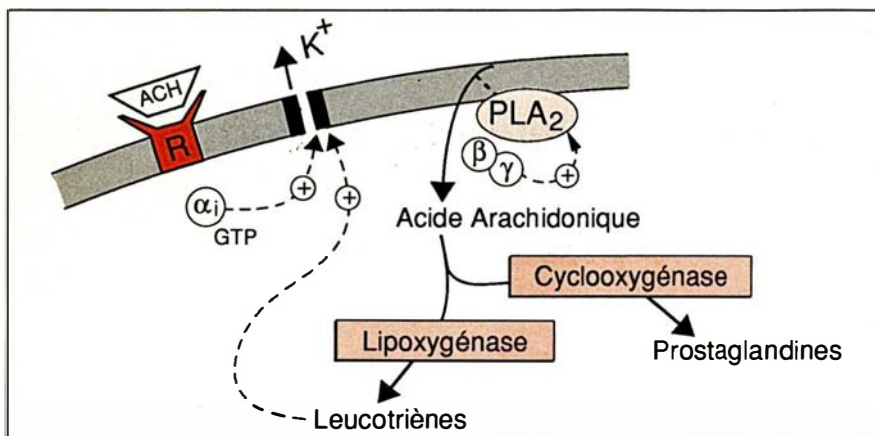


Figure 1. **Action des sous-unités α_i et $\beta\gamma$ sur le canal potassique du tissu cardiaque.** R = Récepteur ; ACH = acétylcholine ; K^+ = potassium, sortant par un canal potassique ; PL A_2 = phospholipase A_2 . En pointillés : influences activateuses. En traits continus : voies métaboliques. La stimulation du récepteur par le ligand active la sous-unité α_i de la G-protéine G_i qui remplace son GDP par du GTP et se dissocie des sous-unités $\beta\gamma$. α_i GTP va activer, directement, le canal potassique. Le complexe $\beta\gamma$ va activer la phospholipase A_2 qui, à partir de phospholipides de la membrane, va produire de l'acide arachidonique dont les métabolites par la voie de la lipoxygénase sont des activateurs du canal potassique.

sous-unité de type α) ont un phénotype d'hyperconjugaison indépendante des phéromones... alors que les mutations de STE4 ou de STE18 (supprimant l'expression des sous-unités β et γ) entraînent une totale absence de conjugaison, insensible là aussi aux phéromones. La mutation de l'un de ces gènes, STE4 ou STE18, bloque également l'activation permanente du programme de conjugaison des mutants de SCG1 [9, 10]. Ces résultats semblent indiquer que la liaison des phéromones à leur récepteur provoque la dissociation d'une G-protéine $\alpha/\beta\gamma$ en ses constituants. La transduction du signal, déclenchant l'exécution du programme de conjugaison, serait assurée par les sous-unités $\beta\gamma$. En l'absence de sous-unité α (mutants SCG1), la présence permanente de complexe $\beta\gamma$ libre conduit à une activation constitutive de ce programme.

A.K.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■ La protéine trans-activatrice du virus HIV est-elle un facteur de croissance du virus ? Cherchant à développer des techniques permettant d'introduire facilement la protéine régulatrice Tat du virus HIV dans des cellules en culture, Frankel *et al.* [1] firent l'observation surprenante que la protéine Tat purifiée pénètre spontanément dans les cellules Hela. Elle est capable d'y transactiver le promoteur viral HIV-1 préalablement transféré dans la lignée utilisée et se trouve principalement localisée dans le noyau. Ces observations mettent en relief un nouveau type d'action éventuel de la protéine Tat qui, libérée dans le sérum par la lyse de cellules infectées, pourrait être captée par d'autres cellules, provoquant la transactivation du promoteur de virus HIV présents à l'état latent ou l'altération de l'expression de gènes cellulaires. Pour explorer le mécanisme de pénétration de la protéine Tat dans les cellules, les auteurs examinèrent l'effet

de divers agents interagissant avec les mécanismes de pénétration dépendant des lysosomes. La chloroquine, par exemple, ajoutée au milieu d'incubation des cellules, augmente la transactivation du promoteur viral intracellulaire lorsque Tat est présent dans le milieu, alors qu'il est sans effet en l'absence de Tat ou lorsque Tat est produit à l'intérieur de la cellule. Il est possible que ce rôle de la chloroquine, utilisée fréquemment dans le traitement de la malaria, puisse expliquer l'évolution rapide des SIDA dans les régions tropicales où une forte incidence de cette maladie est observée.

[1. Frankel AD, Pabo CO, *Cell* 1988 ; 55 : 1189-93.]

■■■ Les premiers poulets transgéniques obtenus par micro-injection de virus défectifs pour la réplication viennent d'être obtenus [1]. La difficulté de manipuler les embryons précoces et de les faire se développer *in*

vitro explique qu'à ce jour seules des infections à l'aide de virus non défectifs aient permis d'obtenir des poulets transgéniques limitant aussi bien les études fondamentales (marquage de lignées cellulaires en particulier) que les applications agro-alimentaires. La micro-injection est ici réalisée dans l'embryon de poulet fraîchement pondue, avant incubation. A ce stade, les cellules germinales primitives résident dans l'épiblaste, à la surface externe du blastoderme. C'est à ce niveau qu'après ouverture d'une fenêtre dans la coquille de l'œuf, le virus défectif est injecté. Après fermeture de l'orifice, l'œuf est placé en incubateur. 38 % des œufs injectés parviennent à éclore dont 50 % possèdent l'ADN injecté, intégré dans la lignée germinale. Cette méthode simple et efficace fournit, tant aux chercheurs qu'aux éleveurs, la possibilité de réaliser aisément des manipulations génétiques chez le poulet. [1. Bosselman RA, *et al. Science* 1989 ; 243 : 533-5.]