

**Signal,  
hormones  
et métabolisme**

**La famille des RGS :  
enfin des GAP pour les protéines G  
hétérotrimériques**

Des fonctions très diverses de la cellule, comme l'organisation du cytosquelette, le trafic intracellulaire, les transports vésiculaires ou encore la transmission des signaux, notamment visuels (*m/s n° 4, vol. 13, p. 581*), sont réglées par des GTPases. Ces GTPases sont des commutateurs moléculaires qui oscillent entre deux conformations suivant la nature du nucléotide guanylique auquel elles sont associées (*figure 1*). Liées au GDP, elles sont dans une conformation inactive tandis qu'elles adoptent une conformation active quand elles se lient au GTP. Deux classes composent la superfamille des GTPases: les protéines G hétérotrimériques ( $\alpha\beta\gamma$ ), constituées de quatre sous-familles selon la nature de leurs sous-unités  $\alpha$  ( $G_s$ ,  $G_i$ ,  $G_q$  et  $G_{12}$ ), et les protéines G de faible poids moléculaire appelées petites protéines G ou, parfois, protéines G monomériques [1]. Le cycle d'activation des petites protéines G est réglé à plusieurs niveaux: les protéines de type GDI (*guanine dissociation inhibitors*) stabilisent la forme inactive en empêchant la dissociation du GDP, tandis que celles du type GDS (*GDP dissociation stimulators*) accélèrent (induisent) cette dissociation. Pour les petites protéines G, dont l'activité GTPasique intrinsèque est très faible, le passage de la forme activée liant le GTP à la forme inactive se fait grâce à des protéines GAP (*GTPase activating proteins*) qui stimulent l'hydrolyse du GTP. Les protéines G hétérotrimériques se distinguent des petites protéines G par le fait que la sous-unité  $\alpha$ , sous sa forme inactive (liée au GDP), se fixe à un dimère  $\beta\gamma$ . Leur activation entraîne la dissociation du complexe et les entités for-

mées,  $G\alpha$  et  $G\beta\gamma$  peuvent activer, séparément ou de concert, un ou plusieurs effecteurs comme l'adénylyl cyclase [2]. L'entrée dans le cycle d'activation des protéines G hétérotrimériques se fait par la stimulation des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) [1] qui peuvent être assimilés à des GDS. Le dimère  $G\beta\gamma$ , quant à lui, peut être considéré

comme jouant le rôle de GDI (*figure 1*).

L'activité GTPasique intrinsèque des formes  $\alpha$ -GTP est généralement supérieure à celle des petites protéines G; cependant, elle demeure insuffisante pour expliquer des réponses physiologiques très rapides comme la réponse visuelle. Il a été montré que l'interaction des formes

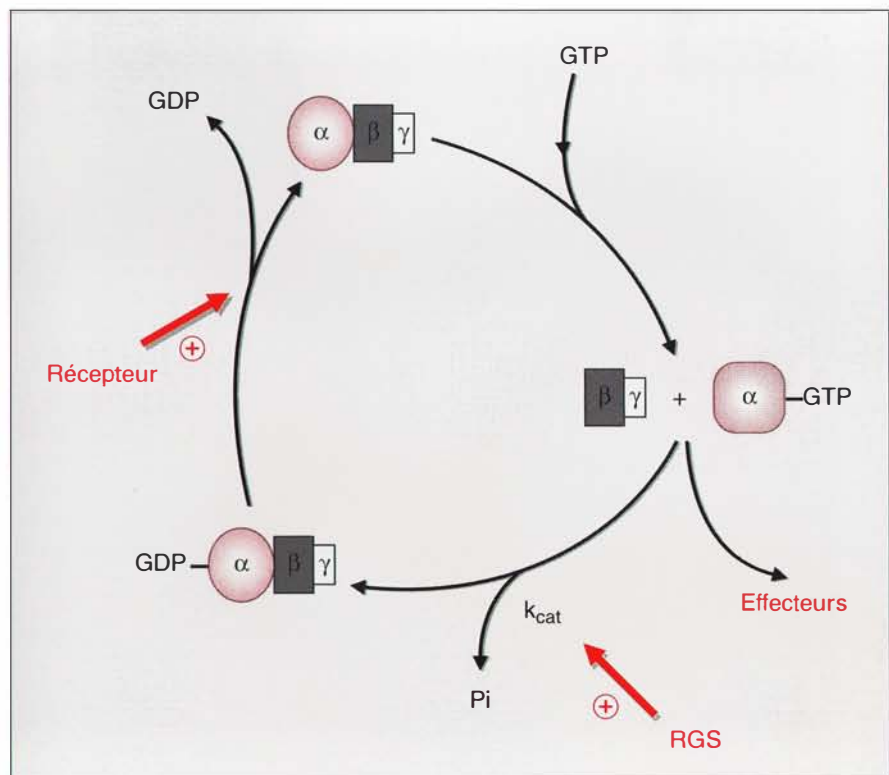


Figure 1. **Cycle GTPasique des protéines G hétérotrimériques.** Le récepteur active l'échange du GDP pour le GTP (stimulation de type GDS, guanine nucleotide dissociation stimulator). L'hétérotrimère se dissocie et  $G\alpha$  comme  $G\beta\gamma$  vont activer leurs effecteurs, seuls ou de concert. Les protéines RGS accélèrent la vitesse d'hydrolyse ( $k_{cat}$ ) par la GTPase et  $G\beta\gamma$  va se réassocier à  $G\alpha$ -GDP (stimulation de type GDI, guanine nucleotide dissociation inhibitor). Les protéines RGS activent donc la reconstitution de l'hétérotrimère inactif.

$\alpha$ -GTP avec leurs effecteurs pouvait augmenter cette activité GTPasique. C'est notamment le cas lorsque  $\alpha_q$  active la phospholipase  $C\beta_1$  [3]. Il y a peu de temps encore, aucune protéine de type GAP n'avait été décrite pour les autres sous-unités  $\alpha$  ( $\alpha_i$ ,  $\alpha_o$ ,  $\alpha_s$ , ou la transducine  $\alpha_t$ ...). L'identification récente d'une famille de protéines RGS (*regulator of G-protein signaling*) avec une activité GAP pour les membres de la famille  $G\alpha$ , nous oblige à reconsidérer le cycle d'activation des protéines G hétérotrimériques qui implique désormais quatre partenaires (*figure 1*). Dans cette revue nous décrirons les étapes qui ont permis la découverte de cette famille RGS dont le prototype est appelé GAIP (*G alpha interacting protein*) qui résout de manière acceptable le décalage qui existait entre les cinétiques des activités GTPasiques intrinsèques et les cinétiques de certaines réponses physiologiques.

### La protéine GAIP, la première des RGS humaines

La présence de sous-unités  $\alpha$  des protéines G hétérotrimériques au niveau de systèmes membranaires intracellulaires est connue depuis une dizaine d'années [4]. Cependant, leur fonction dans les organites intracellulaires demeure inconnue. C'est pour déterminer le rôle possible de  $G\alpha_{13}$  présent dans le Golgi, le réticulum endoplasmique, les endosomes ou les granules sécrétoires [5] que le laboratoire de Marilyn Farquhar a recherché, par la méthode du double hybride [6], de nouvelles protéines capables d'interagir avec  $G\alpha_{13}$ . Parmi plusieurs ADN complémentaires obtenus lors du criblage d'une banque d'ADNc de cellules HeLa humaines, l'un d'entre eux codait pour une protéine nommée GAIP. Sa séquence complète (217 acides aminés) figurait déjà dans les données disponibles du projet de séquençage du génome humain, et l'étude d'interaction *in vitro* entre GAIP et  $G\alpha_{13}$  a confirmé les résultats obtenus par la méthode du double hybride. Mis à part des sites potentiels de phosphorylation par la protéine kinase C et la caséine kinase 2, la séquence de GAIP ne permettait pas de déduire une éventuelle activité

enzymatique ou une autre fonction évidente [7]. Pourtant, une analogie de séquence de 125 acides aminés dans la partie carboxy-terminale a été trouvée entre GAIP et les produits de deux ADNc codant pour des protéines humaines de fonction alors inconnue, nommées aujourd'hui RGS1 et RGS2 (anciennement, et respectivement, 1R20/BL34 et GOS8). La protéine RGS1 a suscité un intérêt particulier lorsque son ARN messager a été trouvé en concentration élevée dans les lymphocytes d'un sujet atteint de leucémie lymphocytaire chronique [8]. De son côté, l'ADNc de RGS2 avait été cloné par criblage différentiel d'une banque d'ADNc de monocytes stimulés par l'agent mitogène concanavalline A [9].

Des analogies de séquence ont également été trouvées entre le gène codant pour GAIP et des gènes clonés dans d'autres espèces, comme le gène *flbA* du champignon *Aspergillus nidulans* et deux cadres de lecture ouverts sur le chromosome 3, *CO5B5.7* et *C29H12.3*, du nématode *Caenorhabditis elegans*. De plus, chez *C. elegans*, la protéine EGL-10 (EGL pour *egg laying*) a également une forte similitude avec un domaine de GAIP. L'étude des mutants de *C. elegans* a montré que EGL-10 et GOA-1, la sous-unité  $\alpha_o$  de la protéine hétérotrimérique  $G_o$  de *C. elegans*, contrôlent la fréquence de ponte de manière opposée : les mutations des protéines EGL-10 et GOA-1 entraînent, respectivement, une diminution et une augmentation de cette fréquence. L'observation qu'une mutation dans EGL-10 ne change rien à la fréquence de ponte lorsque GOA-1 est déjà mutée indique que la fonction normale d'EGL-10 est de diminuer l'activité de GOA-1 [10].

Chez *Saccharomyces cerevisiae*, la voie de transmission du signal du facteur  $\alpha$  de la levure est semblable au modèle RCPG-protéine G des cellules de mammifères avec sous-unités  $G\alpha$  (GPA1 chez la levure) et  $G\beta\gamma$ . Le facteur  $\alpha$ , par l'intermédiaire d'un récepteur, provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 alors que la levure se prépare à la reproduction sexuée. Le gène *SST2* de la levure est impliqué dans la désensibilisation au facteur  $\alpha$  et les mutants *SST2* sont

capables de répondre à des concentrations de phéromones 100 fois inférieures à celles nécessaires au type normal ; elles sont incapables de surmonter le blocage en G1 du cycle cellulaire [11, 12]. Le fait que le gène *SST2* présente aussi une analogie avec le gène *GAIP* laisse donc supposer un effet des protéines homologues de la protéine GAIP dans les voies de transmission du signal contrôlées par les protéines G hétérotrimériques.

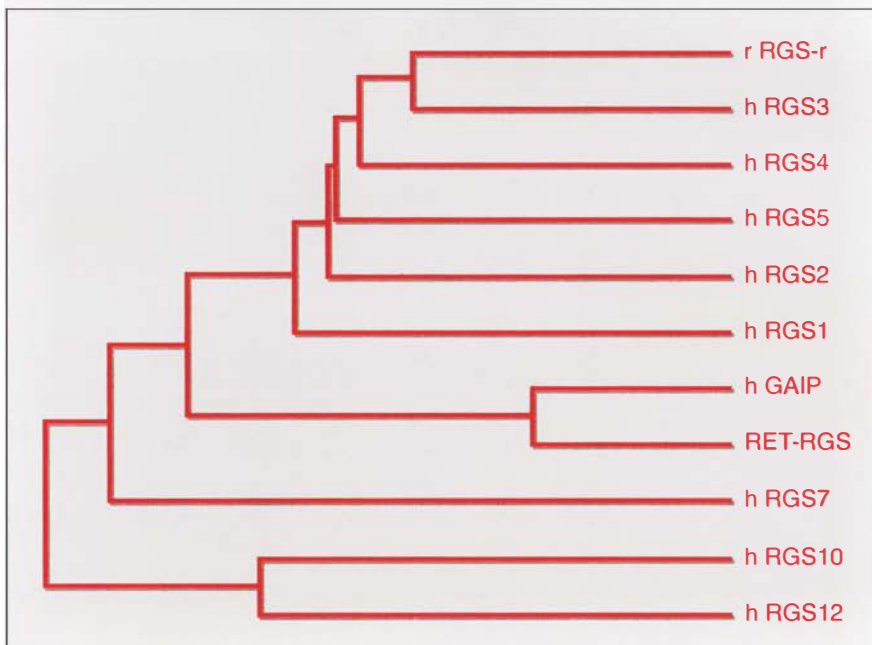
Les travaux réalisés par l'équipe de M. Farquhar ont donc permis, outre la caractérisation de GAIP, de définir un domaine de cette protéine conservé dans les extrémités carboxy-terminales de RGS1, RGS2 et Sst2 [7]. Ainsi, toute protéine contenant ce domaine appelé RGS pourrait être capable d'interagir avec des sous-unités  $G\alpha$ . Récemment, neuf autres domaines RGS ont été identifiés dans une banque d'ADNc de cerveau de rat par PCR (*polymerase chain reaction*) en utilisant des oligonucléotides dégénérés dans les séquences de plus forte analogie des domaines RGS [10]. Actuellement, la famille des protéines RGS compte déjà 15 membres chez les mammifères, parmi lesquels RGS10 (également identifiée par le système dit du double-hybride en utilisant  $G\alpha_{13}$ !), et RGS-r spécifique de la rétine [13, 14] ; cette famille pourrait encore s'agrandir (*figure 2*).

### L'activité GAP des RGS et les interactions protéine-protéine

Les premiers travaux de surexpression cellulaire des protéines RGS ont révélé leur pouvoir inhibiteur sur la transmission des signaux relayés par les RCPG. Ainsi, la surexpression de RGS1 dans un lymphome B humain inhibe la stimulation des MAP kinases normalement induite par le PAF (*platelet activating factor*) ; la surexpression de RGS1, 2, 3 et 4 donne le même résultat, après activation d'un autre récepteur couplé aux protéines G, le récepteur de l'interleukine 8 [15] ; récemment, on a montré que l'ajout de RGS4 et de GAIP à des préparations de membranes annule l'inhibition de l'adénylyl cyclase induite par la stimulation du récepteur opiacé  $\mu$  [16]. L'ensemble de ces résultats renforce donc l'idée



h GAIP	SP-EEVQSA	QSPDKLMHSP	AQRSVFRAPL	RTFYSEENML	FWLACEELKA	49
RET-RGS	PTLEEASAMA	QSPDKLMLTP	AGRNAFRFL	RTEFSEENML	FWMACEELKK	50
h RGS1	LSAAEVMQWS	QSLEKLLANQ	TGQNVFGSFL	KSEFSEENIE	FWLACEDYKK	50
h RGS2	-----QWR	DSLDKLLQNN	YGLASFKSFL	KSEFSEENLE	FWLACEDYKK	43
h RGS2	SPAEAQL-WS	EAFDELLASK	YGLAAFRAFL	KSEFCEENIE	FWLACEDFKK	49
h RGS3	PTSEEAQKMG	ESLEKLLVHK	YGLAVFQAPL	RTEFSEENLE	FWLACEDFKK	50
r RGS-r	-FSEDLVGR	ESFOSLLNSK	NGVAAPHAFL	KTEFSEENLE	FWLACEFPKK	49
h RGS4	VSQBEVKMA	ESLENLISHE	OGLAAPKAFI	KSEYSEENID	FWISCEPYKK	50
h RGS7	PSQQRVKKMG	FGMDEALKDP	VGREQFLKFL	ESEFSEENLR	FWLAVEDLKK	50
h RGS10	K-----WA	ASLENLLEDP	EGVKRFREFL	KKEFSEENVL	FWLACEDFKK	43
h RGS12	R-ERRVASVA	VSPERLLQDP	VGV-RYFYFL	RKEFSEENIL	FWQACEYFNH	48
Consensus	...E.V..W.	.S...LL...	.G...F..FL	K..EFSEEN..	FWLACED..KK	50
h GAIP	EANQHV--VD	EKARL YEDY	VSILSPKEVS	LDSRVREGIN	KKMQEPSAHT	97
RET-RGS	EANKAT--IE	EKARI YEDY	ISILSPKVES	LDSRVRETIN	RSMAEPSNRI	98
h RGS1	TESDLL--PC	-KAEE YKAF	VHSDAAKQIN	IDFRTRESTM	KKIKAPTPTC	97
h RGS5	IKSPAK--MA	-KAKQ YEEF	IQTEAPKEVN	IDHFTKDLTM	KNLVEPSL--	88
h RGS2	TKSPQK--LS	SKARK YTDF	IEKEAPKEIN	IDFQTKTLIA	QNIQEATSGC	97
h RGS3	VKSQSK--MA	SKAKK FAEY	IAIQACKEVN	LDSYTREHTK	DLNQSVTRGC	98
r RGS-r	IRSATK--LA	SRAHH FDEY	IRSEAPKEVN	IDHETRELTK	TNLQAATPSC	97
h RGS4	IKSPSK--LS	PKAKK YNEF	ISVOATKEVN	LDSCTREETS	RNMLEPTITC	98
h RGS7	-RPIKE--VP	SRVQE WQEF	LAGPAPSAIN	LDSKSYDKTT	QNVKEPGRYT	97
h RGS10	MQDKTQMQ--	-KAKE YMTF	LSSKASSQVN	VEGQSR-LNE	KILEEPHP--	87
h RGS12	VPAHDKKELS	YRARE FSKF	LCSKATTPVN	IDSQAQ-LAD	DVLRAPHPDM	97
Consensus	...S..K-...	.KA...Y..F	I...APKEVN	.DS.TRE.T.	.N..EP....	100
h GAIP	FDDAQLQIYT	LMHRDSYPRF	LSSPTYRALL			127
RET-RGS	FDDAQLQIYT	LMHRDSYPRF	MNSALYKDLL			128
h RGS1	FDEAKVIYIT	LMEKDSYPRF	LKSHIYLNLL			127
h RGS5	FDMAKRIHA	LMEKDSLPRF	VRSEFYQEL-			117
h RGS2	FTTAKKRVYS	LMENNSYPRF	LESEFYQDLC			127
h RGS3	FDLAKRIFG	LMEKDSYPRF	LRSDLY--LD			126
r RGS-r	FDVAGKTRT	LMEKDSYPRF	LKSPAYRDLA			127
h RGS4	FDEAKKIFN	LMEKDSYRRF	LKSRFYLDL-			127
h RGS7	FEDAQEHYK	LMKSDSYPRF	IRSSAYQELL			127
h RGS10	FQKLDQIFN	LMKYDSYSRF	LKSDLFKHK			117
h RGS12	FKEQQLQIFN	LMKFDSTYRF	LKSPLYQECI			127
Consensus	ED.AQ...I..	LME.DSYPRF	L.S..Y..L.			130



que les protéines RGS peuvent désensibiliser ou inhiber les voies de transmission impliquant les protéines G hétérotrimériques.

En 1996, A. Gilman (qui a obtenu le prix Nobel en 1994 pour ses travaux sur les protéines G [17]) a étudié, *in vitro*, l'effet des protéines GAIP et

Figure 2. Alignement des séquences en acides aminés (A) et arbre phylogénétique (B) des domaines RGS des différentes protéines RGS de mammifères. Certains domaines n'ont pas été inclus car leur séquence n'est pas assez bien connue pour permettre un alignement correct; c'est le cas de RGS6, RGS13, RGS14, RGS15. L'arbre phylogénétique a été tracé à partir des données figurant en A. Abréviations: h: humain, r: rat. Code à une lettre des acides aminés: A: Ala; C: Cys; D: Asp; E: Glu; F: Phe; G: Gly; H: His; I: Ile; K: Lys; L: Leu; M: Met; N: Asn; P: Pro; Q: Gln; R: Arg; S: Ser; T: Thr; V: Val; W: Trp; Y: Tyr.

RGS4 recombinantes sur différentes sous-unités  $G\alpha$  [18]. Aucune d'entre elles n'affecte la liaison d'un analogue non hydrolysable du GTP, le GTP $\gamma$ S. Cela indique que ces protéines RGS n'influent pas sur la vitesse de dissociation du GDP (effet GDS). En revanche, en se plaçant dans des conditions favorables pour évaluer une activité GAP indépendante de la vitesse d'échange du GDP pour le GTP et en ne mesurant qu'un seul cycle d'hydrolyse du GTP, on a montré que les protéines GAIP, RGS4, RGS10 et RGS1 augmentent considérablement (de 20 à 40 fois) la vitesse d'hydrolyse du GTP par  $G\alpha_{i1}$ ,  $G\alpha_{i2}$ ,  $G\alpha_{i3}$ ,  $G\alpha_o$ ,  $G\alpha_z$  et par  $G\alpha_i$  [13, 19, 20]. Récemment, une activité GAP a été mise en évidence pour RGS4 et, dans des proportions moindres, pour GAIP après stimulation d'un récepteur muscarinique M1 reconstitué avec  $G\alpha_q$  dans des vésicules de phospholipides [16]. Les protéines RGS augmentant *in vitro* l'hydrolyse du GTP, il paraissait probable que cet effet fût rattaché à l'interaction directe des RGS avec la forme  $\alpha$  liant le GTP. Effectivement, dans le système du double-hybride, GAIP lie préférentiellement la forme mutée de  $G\alpha_{i3}$  (Q204L), qui stabilise la forme  $G\alpha_{i3}$ -GTP en bloquant l'activité GTPasique par rapport à la forme normale, majoritairement sous la forme  $G\alpha_{i3}$ -GDP [21]. Le même résultat a été obtenu avec RGS10 et  $G\alpha_{i3}$ (Q204L) et  $G\alpha_z$ (Q204L) [13]. En outre, il a été montré que GAIP avait la même affinité pour des produits de

traduction *in vitro* de  $G\alpha_{i3}$  sous forme  $G\alpha_{i3}$ -GTP $\gamma$ S que sous la forme  $G\alpha_{i3}$ -GDP-AIF4 (une forme réversible mimant  $G\alpha$ -GTP) et quasiment pas d'affinité en présence de GDP et en l'absence de fluorure de Na et de chlorure d'aluminium [21]. Par ailleurs, RGS1, RGS4, GAIP et RGS-r forment avec les sous-unités  $\alpha$  des complexes stables (isolement sur billes d'agarose ou sur colonne de filtration sur gel) uniquement lorsque celles-ci sont sous la forme GDP-AIF4 [13, 14, 19]. Tous ces résultats indiquent que les protéines RGS interagissent préférentiellement avec la forme activée des  $G\alpha$ , notamment avec la forme  $G\alpha$ -GDP-AIF4. On a mis en évidence une compétition entre RGS4 et la PLC $\beta$ 1 pour  $G\alpha_q$ , suggérant un rôle « bouclier » de RGS4 vis-à-vis de  $G\alpha_q$  [16]. Enfin, l'activité GAP induite par une protéine RGS dépend de sa capacité d'interaction avec la sous-unité  $G\alpha$ . Inversement, l'absence d'activité GAP des différentes RGS connues actuellement pour  $G\alpha_s$ , s'explique par l'absence d'interaction entre les deux protéines.

### Spécificité et biologie cellulaire des protéines RGS

Le grand nombre de RGS déjà trouvés (15) en relation avec les 17 sous-unités  $G\alpha$  connues laissait espérer que chaque  $G\alpha$  aurait sa propre protéine RGS. En fait, il est apparu très vite que des RGS très différentes pouvaient agir sur une même famille de  $G\alpha$  (Tableau I). Le manque relatif de spécificité des RGS, sauf pour  $\alpha_s$ , s'explique peut-être par le fait que la mesure *in vitro* de l'activité GAP peut masquer des différences existant au niveau de la cellule. Ces différences se situent, en partie, dans la compartimentalisation des RGS, leur modification post-traductionnelle, l'inductibilité de leurs gènes et la spécificité de leur distribution tissulaire.

On a montré par immunocytochimie la co-localisation de Gpa1 (une protéine G hétérotrimérique de la levure) et de Sst2 au niveau de la membrane plasmique et, plus faiblement, au niveau de la membrane des corps golgiens [12]. Curieusement, en ne considérant que la séquence en acides aminés de Sst2, on ne dis-

tingue pas de segments transmembranaires ni de sites consensus de modifications lipidiques (myristoylation ou isoprénylation) qui pourraient être responsables d'une telle distribution. A l'inverse, une séquence riche en résidus cystéinyl palmitoylables est présente dans la partie amino-terminale de GAIP et deux formes de la protéine ont été détectées: la forme membranaire dont la palmitoylation lui confère un comportement de protéine intégrale membranaire [21], et la forme cytosolique qui serait dépalmitoylée. Les

réactions de palmitoylation et de dépalmitoylation étant des réactions rapidement réversibles qui affectent la fonction d'autres protéines de transmission du signal, dont certains RCPG [22] et certaines  $G\alpha$  [22], on peut imaginer que cette modification post-traductionnelle puisse régler l'activité de GAIP sur un temps court. La synthèse des protéines Sst2 [24] et RGS1 [8] est fortement augmentée après activation par le facteur  $\alpha$  chez la levure, et par des agents inflammatoires comme *Staphylococcus aureus* ou le PAF (*platelet activating factor*) dans

RGS	Distribution tissulaire	Interaction physique avec: (technique)		Activité GAP avec:
GAIP	placenta poumon (cœur, foie)	$\alpha_i/\alpha_o$	billes d'agarose  double hybride	$\alpha_{i1}$ $\alpha_{i2}$ $\alpha_{i3}$ $\alpha_o$ $\alpha_t$ ( $\alpha_q$ )
		$\alpha_{i1}$ $\alpha_{i3}$ $\alpha_o$ ( $\alpha_{i2}, \alpha_z$ )		
RGS1		$\alpha_i/\alpha_o$	billes d'agarose	$\alpha_{i1}$ $\alpha_{i2}$ $\alpha_{i3}$ $\alpha_o$ $\alpha_t$
RGS3	cœur, muscle squelettique (poumon, foie, rein)			
RGS4	cerveau	$\alpha_{i1}$	filtration sur gel	$\alpha_{i1}$ $\alpha_{i2}$ $\alpha_{i3}$ $\alpha_o$
		$\alpha_i/\alpha_o$	billes d'agarose	$\alpha_z$ $\alpha_t$ $\alpha_q$
RGS10		$\alpha_{i3}$ (Q204L) $\alpha_z$ (Q204L)	immunoprécipitation	$\alpha_{i3}$ $\alpha_o$
RGS-r	rétine (foie)	$\alpha_t$	filtration sur gel billes d'agarose	$\alpha_t$
RET-RGS	rétine			$\alpha_t$

Les interactions RGS- $G\alpha$  ont été confirmées par la méthode du double hybride ou par identification du complexe par filtration sur gel, liaison sur des billes d'agarose ayant lié les RGS auparavant ou par immunoprécipitation en utilisant des anticorps antiépitope contre Myc-RGS. La mesure de l'activité GAP est décrite dans la référence [18].



des lignées de lymphocytes B. Cette régulation activatrice au niveau transcriptionnel ayant un effet négatif sur les voies de transmission passant par les RCPG peut être considérée comme une désensibilisation à long terme. Enfin la co-distribution de G $\alpha$  et de «sa» RGS est observée surtout dans la rétine où l'on met en évidence, par les techniques de *Northern blot* et d'hybridation *in situ*, à la fois la synthèse exclusive de RGS-r [14], d'une autre RGS RET-RGS [25] et de la transducine. Par ailleurs, la présence de ces deux protéines, et surtout de RET-RGS qui porte également une modification lipidique, explique l'activité GTPasique, indépendante de la phosphodiesterase  $\gamma$  [26], des préparations membranaires de rétine. On observe également une spécificité tissulaire de certaines RGS (Tableau 1) notamment pour RGS4 qui se distingue des autres RGS, plus ubiquitaires, par sa localisation principale dans la substantia nigra du cerveau [15].

## Perspectives

A l'instar de ce que l'on connaissait sur les petites protéines G, les résultats actuels montrent l'existence d'une famille de protéines RGS capables d'augmenter, par simple interaction, l'activité GTPasique des protéines G hétérotrimériques. Cette famille de protéines interfère au niveau des voies de transmission relayées par les RCPG. Ainsi, leur fonction s'ajoute aux mécanismes connus de désensibilisation des récepteurs (internalisation, phosphorylation des récepteurs couplés aux protéines G par les GRK). Ce concept permet de comprendre le paradoxe de la réponse électrique des cellules visuelles: la réponse aux photons dans les cellules photoréceptrices se termine très rapidement après la disparition de la lumière alors que la vitesse d'hydrolyse du GTP par la transducine mesurée *in vitro* est incompatible avec la rapidité de cette réponse physiologique (*m/s n° 4, vol. 13, p. 581*). Cependant, les expériences décrites de surexpression de RGS inhibant les réponses des récepteurs du PAF ou de l'IL-8 sont encore à prendre avec précau-

tions; la surexpression peut, en effet, surmonter la compartimentalisation naturelle dans la cellule. Néanmoins, les avancées récentes obtenues à l'aide de préparations membranaires et de systèmes reconstitués *in vitro* montrent la réalité d'une régulation des voies de transmission par les protéines RGS. Même si leur fonction au niveau des protéines G hétérotrimériques intracellulaires reste énigmatique, on peut d'ores et déjà considérer ces protéines RGS comme une cible pharmacologique potentielle, notamment grâce à la distribution et à l'inductibilité des RGS à spécificité tissulaire ■

## Remerciements

Thierry Fischer a été financé par la Fondation pour la Recherche Médicale puis par l'association pour la recherche sur le cancer.

## Thierry Fischer Luc De Vries

*Chercheurs post-doctoraux, University of California San Diego, Division of cellular and molecular medicine, 9500 Gilman Drive, La Jolla, California, 92093-0651, États-Unis.*

## Bruno Rouot

*Directeur de recherche, Inserm U. 431, Université Montpellier II, 5, place Eugène-Bataillon, 34095 Montpellier, France.*

## TIRÉS À PART

T. Fischer.

## RÉFÉRENCES

1. Bockaert J. Les récepteurs à sept domaines transmembranaires: physiologie et pathologie de la transduction. *Med Sci* 1995; 11: 382-94.
2. Neer EJ. Heterotrimeric G proteins: organizers of transmembrane signals. *Cell* 1995; 80: 249-57.
3. Berstein G, Blank JL, Jhon DY, Exton JH, Rhee SG, Ross EM. Phospholipase C-beta 1 is a GTPase-activating protein for Gq/11, its physiologic regulator. *Cell* 1992; 70: 411-8.

4. Toutant M, Aunis D, Bockaert J, Homburger V, Rouot B. Presence of three pertussis toxin substrates and G $\alpha$  immunoreactivity in both plasma and granule membranes of chromaffin cells. *FEBS Lett* 1987; 215: 339-44.

5. Helms JB. Role of heterotrimeric GTP binding proteins in vesicular protein transport: indications for both classical and alternative G protein cycles. *FEBS Lett* 1995; 369: 84-8.

6. Chien CT, Bartel PL, Sternglanz R, Fields S. The two-hybrid system: a method to identify and clone genes for proteins that interact with a protein of interest. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9578-82.

7. DeVries L, Mousli M, Wurmser A, Farquhar MG. GAIP, a protein that specifically interacts with the trimeric G protein G $\alpha_{13}$ , is a member of a protein family with a highly conserved core domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11916-20.

8. Hong JX, Wilson GL, Fox CH, Kehrl JH. Isolation and characterization of a novel B cell activation gene. *J Immunol* 1993; 150: 3895-904.

9. Siderovski DP, Heximer SP, Forsdyke DR. A human gene encoding a putative basic helix-loop-helix phosphoprotein whose mRNA increases rapidly in cycloheximide-treated blood mononuclear cells. *DNA Cell Biol* 1994; 13: 125-47.

10. Koelle MR, Horvitz HR. EGL-10 regulates G protein signaling in the *C. elegans* nervous system and shares a conserved domain with many mammalian proteins. *Cell* 1996; 84: 115-25.

11. Dohlman HG, Apaniesk D, Chen Y, Song J, Nusskern D. Inhibition of G-protein signaling by dominant gain-of-function mutations in Sst2P, a pheromone desensitization factor in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 3635-43.

12. Dohlman HG, Song J, Ma D, Courchesne WE, Thorner J. Sst2, a negative regulator of pheromone signaling in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: expression, localization, and genetic interaction and physical association with G $\alpha$ 1 (the G-protein alpha subunit). *Mol Cell Biol* 1996; 16: 5194-209.

13. Hunt TW, Fields TA, Casey PJ, Peralta EG. RGS10 is a selective activator of G $\alpha$ i GTPase activity. *Nature* 1996; 383: 175-7.

14. Chen CK, Wieland T, Simon MI. RGS-r, a retinal specific RGS protein, binds an intermediate conformation of transducin and enhances recycling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 12885-9.

15. Druey KM, Blumer KJ, Kang VH, Kehrl JH. Inhibition of G-protein-mediated MAP kinase activation by a new mammalian gene family. *Nature* 1996; 379: 742-6.

16. Hepler J, Berman D, Gilman A, Kozasa T. RGS4 and GAIP are GTPase-activating proteins for G $\alpha$ q and block activation of phospholipase C $\beta$  by  $\gamma$ -thio-GTP-G $\alpha$ q. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 428-32.

## RÉFÉRENCES

17. Hanoune J. Prix Nobel de Médecine 1994: Alfred G. Gilman, Martin Rodbell. Les protéines G un relais de transmission du signal entre récepteur et second messager cellulaire. *Med Sci* 1994; 10: 1183-4.
18. Berman DM, Wilkie TM, Gilman AG. GAIP and RGS4 are GTPase-activating proteins for the Gi subfamily of G protein  $\alpha$  subunits. *Cell* 1996; 86: 445-52.
19. Berman DM, Kozasa T, Gilman AG. The GTPase-activating protein RGS4 stabilizes the transition state for nucleotide hydrolysis. *J Biol Chem* 1996; 271: 27209-12.
20. Watson N, Linder ME, Druey KM, Kehrl JH, Blumer KJ. RGS family members: GTPase-activating proteins for heterotrimeric G-protein  $\alpha$ -subunits. *Nature* 1996; 383: 172-5.
21. DeVries L, Elenko E, Hubler L, Jones TLZ, Farquhar MG. GAIP is membrane-anchored by palmitoylation and interacts with the activated (GTP-bound) form of G $\alpha$ i subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15203-8.
22. Bouvier M, Nantel F, Valiquette M, Mofett S, Mouillac B. Le récepteur  $\beta$ 2-adrénérique. Un modèle d'étude des mécanismes moléculaires de la désensibilisation. *Med Sci* 1995; 11: 819-21.
23. Milligan G, Parenti M, Magee AI. The dynamic role of palmitoylation in signal transduction. *Trends Biochem Sci* 1995; 20: 181-6.
24. Dietzel C, Kurjan J. Pheromonal regulation and sequence of the *Saccharomyces cerevisiae* SST2 gene: a model for desensitization to pheromone. *Mol Cell Biol* 1987; 7: 4169-77.
25. Faurobert E, Hurley JB. The core domain of a retina specific RGS protein stimulates the GTPase activity of transducin *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 2945-50.
26. Otto-Bruc A, Antony B, Vuong TM. Modulation of the GTPase activity of transducin. Kinetic studies of reconstituted systems. *Biochemistry* 1994; 33: 15215-22.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Régulations négatives des signaux de cytokines empruntant la voie Jak/STAT.** La plupart des cytokines se fixant à leurs récepteurs induisent la transmission dans la cellule d'un signal dont les principales étapes sont l'activation de protéine tyrosine kinases Jak (*Janus kinase*) et la phosphorylation de facteurs de transcription STAT (*signal transducer and activator of transcription*) qui sont alors transférés dans le noyau où ils participent à la formation d'un complexe d'activation transcriptionnelle [1]. Tout processus biologique est contrôlé positivement et négativement. Trois articles parus récemment dans *Nature* insistent sur l'un des mécanismes de ce contrôle négatif de la cascade Jak/STAT [2-4]. Une équipe australienne a recherché des ADNc capable d'inhiber la différenciation macrophagique de cellules monocytaires leucémiques murines M1 sous

l'action de l'interleukine 6 (IL-6) [2]. Une équipe japonaise a cloné par la technique du double hybride dans la levure des ADNc codant pour des partenaires de la kinase Jak2 [3]. Enfin, une équipe japonaise différente s'est intéressée à l'identification de nouvelles molécules de type STAT à l'aide d'une banque d'expression et d'un anticorps reconnaissant un motif conservé présent dans le domaine SH2 de la kinase STAT3 [4]. L'équipe australienne a identifié une famille de protéines dénommée SOCS (*suppressor of cytokine signalling*). La première équipe japonaise a isolé un ADNc codant pour un membre de cette famille, et l'a dénommé JAB (*Jak-binding protein*) alors que la seconde équipe parvenant au même type de résultat a baptisé « sa » protéine SSI-1 (*STAT-induced STAT inhibitor-1*). Ces molécules, de même que la molé-

cule CIS (*cytokine induced SH2-containing protein*) précédemment décrite [5], semblent inhiber la transmission du signal des cytokines en interagissant avec les récepteurs de cytokine phosphorylés et (ou) les kinases Jak, inhibant leur activité de tyrosine kinase. Les gènes codant pour ces molécules étant eux-mêmes stimulés par les cytokines, le système décrit semble impliqué dans une boucle de rétro-contrôle classique de l'activation par les cytokines.

[1. Kahn A. *Med Sci* 1994; 10: 202-5.]

[2. Starr R, et al. *Nature* 1997; 387: 917-21.]

[3. Endo TA, et al. *Nature* 1997; 387: 921-4.]

[4. Naka T, et al. *Nature* 1997; 387: 924-9.]

[5. Yoshimura A, et al. *EMBO J* 1995; 14: 2816-26.]



**RETROUVEZ LES REVUES MASSON SUR INTERNET**

**<http://www.masson.fr>**  
**e-mail : [revues@masson.fr](mailto:revues@masson.fr)**