

# La famille des protéine-kinases désensibilisatrices s'agrandit

Souvent, l'action cellulaire des hormones ou neurotransmetteurs s'atténue au cours du temps en dépit du maintien de leur fixation sur leurs récepteurs spécifiques. Lorsque cette désensibilisation ne concerne que la seule réponse physiologique du récepteur sans que celle des autres récepteurs de la cellule soit altérée, on parle dans ce cas de désensibilisation homologue, on s'aperçoit que le récepteur a fait l'objet d'une phosphorylation. Le phénomène peut être rapide et se manifester dès les premières minutes qui suivent la liaison du ligand. De nombreux récepteurs couplés aux protéines G sont ainsi phosphorylés par des sérine/thréonine kinases, les GRK (pour *G protein-coupled receptor kinase*). A l'heure actuelle on dénombre jusqu'à six GRK identifiées dans les cellules de mammifères, qui sont impliquées dans la reconnaissance du récepteur ou dans le processus de translocation membranaire, selon la nature de leurs domaines carboxy- ou aminoterminaux. Ces kinases ont des distributions tissulaires très diverses. Certaines sont spécifiques d'un type cellulaire ou d'un tissu, comme GRK1 qui est spécifique des cellules photoréceptrices et qui participe à la désensibilisation de la rhodopsine photoexcitée, ou GRK4 qui est spécifique du testicule. En revanche, les autres GRK peuvent être retrouvées dans plusieurs types de tissus. Une équipe du CEA-Saclay vient d'ajouter de nouveaux membres à cette liste, en détectant chez le rat un variant de GRK6. Le clonage du gène *GRK6*, effectué à partir de tissu rénal, avait produit deux clones très voisins, mais qui semblaient différer par deux paires de bases (AG), les nucléotides 1678 et 1679 de la forme longue. Cette insertion crée un décalage de phase de lecture; les deux isoformes sont identiques jusqu'au codon 558, puis diffèrent par leurs extrémités carboxyterminales. La forme courte,

GRK6a, code pour une protéine de 576 résidus et la forme longue pour une protéine de 589 résidus. Le doublet AG, présent dans le message GRK6b et absent dans le message GRK6a représente la séquence... en principe invariante du site accepteur d'épissage 3' d'un intron (loi GT...AG, *m/s n° 3, vol. 1, p. 158*). Cette forme longue semble donc être engendrée par un épissage alternatif extrêmement hétérodoxe puisque le site accepteur d'épissage est, dans ce cas, immédiatement en aval du doublet CC (*figure 1*). Les auteurs ont ensuite étudié l'abondance des messages GRK6a et 6b par RT-PCR (PCR sur l'ADNc synthétisé par la transcriptase inverse), approche qu'ils ont appelée PRAVDA (*polymerase reaction amplification vouching for deletion analysis*, le premier signataire est de nationalité russe...). Des amorces, dont l'une (oligonucléotide 5', sens) est radiomarquée, sont choisies de part et d'autre du doublet AG variant, les fragments sont clivés à un site *pstI* situé 19 pb après cette position variante, et les fragments radiomarqués, de 122 ou 124 bases, sont analysés après dénaturation sur un gel de séquence nucléotidique. Les ARNm de GRK6b sont plus largement distribués dans les tissus péri-

phériques que ne le sont les GRK6a et y sont, de surcroît, plus fortement exprimés, sauf dans le système nerveux central où GRK6a prédomine. Des études fonctionnelles réalisées sur des extraits cytosoliques de cellules ovariennes transfectées de hamster chinois montrent que les deux variants phosphorylent la rhodopsine photo-excitée, ainsi qu'un peptide substrat de la GRK6 humaine, sans qu'une différence d'activité kinasique puisse être prouvée. Cependant, la nature acide de l'extrémité carboxy-terminale de GRK6a, comparée à celle de GRK6b qui est basique, permet de suggérer que ces deux isoformes pourraient différer dans leur localisation à la membrane, d'autant plus que 3 cystéines palmitoylées décrites chez l'homme sont présentes dans l'isoforme a et absentes de l'isoforme b. Cette étude souligne aussi le fait que l'analyse de variants peut exiger des méthodes dont la résolution soit capable, comme ici, d'atteindre la paire de bases afin de pouvoir exclure un éventuel artefact de clonage et établir la distribution relative des isoformes dans les différents tissus.

C.D.R.

1. Firsov D, Elalouf JM. Molecular cloning of two rat GRK6 splice variants. *Am J Physiol* 1997; 273: C 953-61.

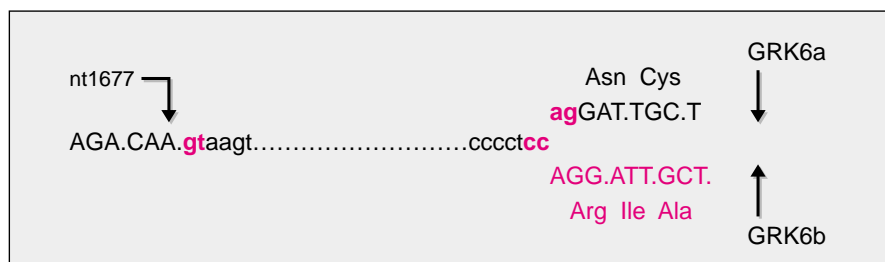


Figure 1. **Épissage alternatif engendrant les messagers GRK6a et 6b.** Après le nucléotide 1677 commence un intron dont les bornes sont gt...AG pour le message 6a, selon le consensus habituel (*m/s n°3, vol. 1, p. 158*). En revanche, la forme 6b est engendrée par un épissage non canonique, le site accepteur étant clivé entre les doublets cc et GG, ce qui entraîne un décalage du cadre de lecture.