



Contents lists available at ScienceDirect

Comptes Rendus Biologies

www.sciencedirect.com



Biologie moléculaire/Molecular biology

Méthodes d'étude du traductome régulé par les récepteurs couplés aux protéines G

Investigation methods to explore G protein-coupled receptor-regulated translome

Aurélien Tréfier^{a,c,d,e}, Florian Guillou^{b,c,d,e}, Pascale Crépieux^{a,c,d,e,*}

^a Groupe Biologie et bioinformatique des systèmes de signalisation, Inra, UMR 85, unité Physiologie de la reproduction et des comportements, 37380 Nouzilly, France

^b Plasticité génomique et expression phénotypique, Inra, UMR 85, unité Physiologie de la reproduction et des comportements, 37380 Nouzilly, France

^c CNRS, UMR 7247, 37380 Nouzilly, France

^d Université François-Rabelais, 37041 Tours, France

^e IFCE, 37380 Nouzilly, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 26 octobre 2017

Accepté après révision le 8 décembre 2017

Disponible sur internet le xxx

Mots clés :

Traductome

Récepteurs couplés aux protéine G

Profilage ribosomique

Profilage polysomique

Purification par affinité de ribosomes en cours de traduction

Keywords:

Translatome

G protein-coupled receptor

Ribosome profiling

Polysome profiling

Translating ribosome affinity purification

R É S U M É

Depuis l'avènement des méthodes de séquençage à haut débit, l'identification du traductome, qui comprend l'ensemble des ARNm associés aux ribosomes, ouvre de nouvelles perspectives pour définir le répertoire des protéines réellement exprimées dans une cellule, contrairement au séquençage du transcriptome correspondant. De plus, l'impact que les signaux extracellulaires tels que des modulations hormonales peuvent avoir sur le traductome reste méconnu. En particulier, la régulation du traductome par les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) est un domaine encore peu exploré, alors que de nombreux récepteurs de cette famille jouent un rôle trophique très important dans leur cellule cible. L'objectif de cette revue est de présenter les méthodes les plus utilisées pour étudier le traductome, en les appliquant aux RCPG.

© 2017 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

A B S T R A C T

With the advent of next-generation sequencing technologies, identifying the translome, which includes genome-wide ribosome-associated mRNAs, provides new opportunities to define faithfully the protein repertoire of a cell, as opposed to transcriptomic approaches. In addition, the role that extracellular signals such as hormonal modulations could play on the translome remains to be deciphered. In particular, the regulation of the translome by G protein-coupled receptors (GPCR) is still poorly described, albeit the trophic role that many receptors of this family play in their target cells. Here, we provide an overview of the current methods that are used to study the translome, applied to the GPCR receptor family.

© 2017 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

* Auteur correspondant. Unité Physiologie de la reproduction et des comportements, Centre INRA Val de Loire, Université François-Rabelais, 37380 Nouzilly, France.

Adresse e-mail : Pascale.Crepieux@inra.fr (P. Crépieux).

<https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.12.002>

1631-0691/© 2017 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

1. Introduction

L'association d'un ligand à son récepteur membranaire déclenche en quelques secondes l'activation d'un réseau de signalisation complexe qui, en modulant l'expression des gènes, dicte le phénotype cellulaire. Les gènes immédiats/précoces sont transcrits en moins d'une heure, tandis que la transcription des gènes dont la régulation nécessite la synthèse de nouvelles protéines et/ou des remodelages notables de la chromatine se déroule sur plusieurs heures. À la suite de ces événements, les ARNm nouvellement transcrits subissent un processus de maturation, puis ils sont exportés dans le cytoplasme à travers les nucléopores pour être transportés dans différents compartiments subcellulaires. Jusqu'à présent, la plupart des études ont échoué à établir une stricte corrélation entre la transcription des ARNm par analyse transcriptomique à l'échelle du génome, et le répertoire cellulaire en protéines [1–5]. Ceci s'explique en partie par le fait que l'expression des gènes dépend aussi de la traduction de populations d'ARNm déjà transcrits, au moment de la perception d'un signal extracellulaire, comme cela a été initialement démontré au cours de l'embryogenèse précoce [6]. Or, l'une des caractéristiques importantes de la traduction des ARNm est la rapidité avec laquelle elle procède, suite à l'action d'un stimulus extracellulaire, puisque la machinerie de traduction est branchée de façon dynamique sur le réseau de signalisation induit par l'activation d'un récepteur. C'est pourquoi des variations subtiles de l'environnement telles que des modifications de la concentration en différents facteurs de croissance ou hormones, en régulant l'expression des gènes au niveau traductionnel, aboutissent à une modification très précoce du contenu cellulaire en protéines [7,8].

Des signaux extracellulaires de nature chimique très diversifiée, telles que des hormones, des neurotransmetteurs, des lipides, des aminoacides, des ions, ciblent les récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (RCPG). À ce jour, plus de 800 RCPG ont été identifiés dans le génome humain [9]. Ces récepteurs ont une structure tridimensionnelle flexible, qui oscille d'une façon dynamique entre des conformations inactives et actives, stabilisées par le ligand spécifique et par le couplage aux protéines de transduction du signal [10]. Les modifications conformationnelles du récepteur sont directement perçues par les protéines G et par les β -arrestines. Ce mode d'activation est une caractéristique unique aux RCPG qui assure la transmission du signal au réseau de signalisation *ad hoc* en quelques secondes. Au sein de ce réseau, les protéines G et les β -arrestines transduisent un signal qui peut contrôler la traduction des ARNm, soit en ciblant directement le complexe d'initiation de la traduction, et/ou en stimulant les voies de signalisation qui régulent l'assemblage de la machinerie traductionnelle [11,12].

L'impact de la signalisation des RCPG s'exerce principalement dans des cellules hautement spécialisées, telles que des neurones, des bâtonnets rétiniens, des cellules de Sertoli des gonades, des cellules immunocompétentes, des cellules endothéliales, dans lesquelles ces récepteurs peuvent jouer un rôle trophique. Par exemple, le récepteur de la FSH (RFSH) induit la néosynthèse de facteurs

paracrines essentiels aux différents stades de la spermatogenèse dans la cellule de Sertoli, cellule nourricière de la lignée germinale dans le testicule [13]. De la même façon, le récepteur de l'endothéline 1 ET_1R stimule l'hypertrophie des cardiomyocytes lors d'une accommodation à l'effort ou en conditions pathologiques *via* la régulation de la traduction des ARNm [14]. D'autres RCPG exercent un rôle trophique sur leurs cellules-cibles : c'est le cas des récepteurs de l'adénosine et des récepteurs purinergiques P2Y dans les cellules endothéliales, au cours de l'angiogenèse [15], ou des récepteurs de neurotransmetteurs de type muscarinique ou $GABA_B$ pendant la maturation du cerveau [16,17]. Dans les cellules différenciées, l'activation d'un RCPG par son ligand peut induire la traduction sélective de certains ARNm, avec un impact mineur mais néanmoins détectable sur les néosynthèses protéiques globales. Par exemple, l'activation du RFSH par la FSH induit la traduction sélective des ARNm *vegfa* et *c-fos* en quelques minutes, en absence d'effet sensible sur la transcription [18]. Bien que depuis le début des années 2000, plus de 160 publications de transcriptomes induits par un RCPG sont apparues, les traductomes de RCPG publiés n'excèdent pas la dizaine. Cette revue présentera brièvement ces traductomes, ainsi que les approches méthodologiques qui ont permis de les identifier.

2. Régulation du traductome par les RCPG

2.1. Récepteur de l'endothéline 1

Le premier traductome induit par un RCPG publié est celui du récepteur de l'endothéline (ET-1) dans les cardiomyocytes [19]. Ce récepteur est impliqué dans la prolifération des cellules en division et dans l'hypertrophie des cardiomyocytes. Les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans l'hypertrophie des cardiomyocytes sont bien connues, cependant leur implication dans l'expression de ce phénotype spécifique demande à être précisée. Pour déterminer si les réponses transcriptionnelles précoces des cardiomyopathies à l'ET-1 sont sujettes à une régulation traductionnelle, Cullingford *et al.* ont comparé les profils d'expression des ARN totaux à ceux qui sont associés aux polysomes issus de cardiomyocytes exposés à l'ET-1 et de cellules non stimulées, par profilage polysomique et identification sur microarray Affymetrix. Ils ont démontré que plus de 80 % des ARNm induits précocement par ET-1 étaient aussi recrutés aux polysomes.

2.2. Récepteur de la GnRH

Plus récemment, la réponse au mis-repliement des protéines (UPR pour *unfolded protein response*), un mécanisme de contrôle qualité des protéines dans les cellules sécrétoires, a été explorée dans la lignée gonadotrope L β T2 dérivée de l'anté-hypophyse. Par profilage polysomique et identification sur microarray Affymetrix, cette étude a révélé que la GnRH induit une augmentation de la traduction de certains ARNm, tel que *Dusp1*, qui code une phosphatase participant au décodage de la pulsativité du signal GnRH au niveau hypophysaire [20]. Simultané-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8625409>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8625409>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)