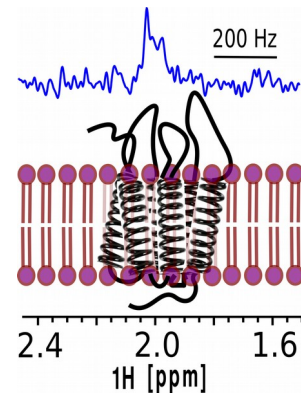


Etude du paysage énergétique des récepteurs couplés aux protéines G dans des disques lipidiques



Laboratoires d'accueil :

. Laboratoire de Biologie & Physico-Chimie des Protéines Membranaires, IBPC, Paris

http://www.ibpc.fr/UMR7099/systemes/Theme2/study_of_signal_transduction.html

. Equipe Biologie et Chimie Structurales, Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN), Gif-sur-Yvette

<https://icsn.cnrs.fr/en>

Responsables de stage : Laurent Catoire (IBPC ; laurent.catoire@ibpc.fr) & Ewen Lescop (ICSN ; ewen.lescop@cnrs.fr)

Mots-clefs : Paysage Energétique, RCPG, Allostérie, Nanodisques de Lipides, NMR

Résumé : ce stage de M2 vise à explorer le paysage énergétique de Récepteurs Couplés à des Protéines G (RCPGs), grande famille de protéines présentes dans la plupart des membranes des cellules eucaryotes, connues pour se comporter comme des machines allostériques complexes. Ce programme de recherche est axé sur l'étude des bases moléculaires, structurales et dynamiques de l'activation des récepteurs afin de mieux comprendre les processus fonctionnels majeurs tels que la liaison des ligands, le couplage aux partenaires de signalisation, la signalisation et la modulation allostérique. Concrètement Le programme de ce stage est axé sur la production et la purification de RCPGs suivies de leur incorporation dans des bicouches lipidiques nanométriques afin de les étudier par des techniques de biophysiques (dont RMN et microscopie électronique).

Contexte scientifique: la majorité des hormones et des neurotransmetteurs communiquent des informations aux cellules via des récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs). Le grand nombre de fonctions biologiques qu'ils contrôlent fait de ces récepteurs membranaires l'une des familles les plus importantes de cibles pharmacologiques en biomédecine (environ un tiers des médicaments actuellement sur le marché). Les RCPGs présentent des comportements de signalisation complexes, car un seul récepteur peut activer plus d'un sous-type de protéine G ainsi que des voies de signalisation indépendantes de la protéine G. En conséquence, un médicament donné peut posséder des efficacités intrinsèques distinctes vis-à-vis de ces différentes voies, un concept qui se fonde sur la notion de ligands biaisés. L'allostérie augmente encore la complexité du fonctionnement du RCPG. En effet, de nombreuses substances peuvent agir comme modulateurs allostériques de la signalisation RCPG. Ceux-ci incluent des ligands synthétiques, des protéines de signalisation, des lipides ou des partenaires de dimérisation. De nombreuses études suggèrent que la remarquable polyvalence fonctionnelle des RCPGs soit associée à leurs propriétés dynamiques intrinsèques. Dans ce modèle, les RCPGs sont considérés comme des protéines flexibles pouvant visiter plusieurs états conformationnels liés à des résultats fonctionnels distincts. La modulation de signalisation peut alors être vue comme une modification de l'équilibre entre ces états, la quantité relative des différentes populations étant modulée par couplage à des ligands orthostériques ou allostériques, à des partenaires protéiques intracellulaires, par oligomérisation des récepteurs ou par altération de la composition membranaire. Bien que des progrès majeurs aient été réalisés en biologie structurale des RCPGs grâce à de nombreuses structures cristallines, nous commençons néanmoins seulement à apprécier le rôle de ces dynamiques dans la signalisation RCPG. Par conséquent, pour répondre à la question de savoir comment la dynamique des RCPGs peut contrôler leurs voies de signalisation en aval, il faut encore recourir à diverses méthodes biophysiques de pointe. Dans ce contexte, nous proposons d'éclairer la manière dont la dynamique régit la signalisation par une analyse intégrée et multidisciplinaire combinant des outils innovants en biochimie et des méthodes expérimentales (RMN & microscopie électronique). Deux RCPGs différents, les récepteurs de la ghréline (GHSR) et du leucotriène B4 (BLT2), seront considérés. En plus d'être des RCPGs prototypes de classe A, les deux sont des cibles pharmacologiques importantes. La GHSR et la ghréline sont impliquées, entre autres, dans le contrôle de la sécrétion d'hormone de croissance, de la prise alimentaire et des comportements liés à l'abus d'alcool et de drogues. BLT2 est impliqué dans les voies pro- et anti-inflammatoires. Le programme proposé fournira donc des informations sans précédent sur le rôle de la dynamique dans les principaux processus fonctionnels tels que la liaison des ligands, l'activation des récepteurs, le couplage aux partenaires de signalisation en aval, la signalisation polarisée et la modulation allostérique. Cela présente un intérêt plus que académique puisque la stabilisation de différents états au sein de ces récepteurs est probablement la clé de la modulation de la fonction des RCPGs dans la conception de médicaments.

Lieux: la préparation des échantillons s'effectuera à l'IBPC (institut situé près de Panthéon à Paris) sous l'encadrement de Laurent Catoire avec la possibilité de caractériser les échantillons par microscopie électronique à l'institut Curie. L'utilisation de la RMN à très haut champ s'effectuera à l'ICSN sous la direction de Ewen Lescop. Le candidat au cours de ce stage pourra ainsi suivre une formation approfondie en biochimie des protéines membranaires et des lipides ainsi qu'en spectroscopie RMN et microscopie électronique.

Bibliographie :

Casiraghi et al. Functional Modulation of a G Protein-Coupled Receptor Conformational Landscape in a Lipid Bilayer. (2016) *J. Am. Chem. Soc.*, **138**:11170-5.

Casiraghi M. (2016) Ph. D. Thesis, Sorbonne Paris Cité. ED MTCl. <http://www.sudoc.fr/221470484>.

Casiraghi et al. (2017) NMR Spectroscopy for the Characterization of GPCR Energy Landscapes. In *Topics in Medicinal Chemistry*. Ed. G. Lebon, I., Springer, Berlin, Heidelberg, pp 1-26.

Casiraghi et al. (2018) Illuminating the Energy Landscape of GPCRs: The Key Contribution of Solution-State NMR Associated with *Escherichia coli* as an Expression Host. *Biochemistry*, **57**:2297-307.

Casiraghi et al. (2019) NMR analysis of GPCR conformational landscapes and dynamics. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **484**, 69–77.