

Equipes: Hervé DANIEL (UMR CNRS 8619 – Université Paris-sud 11) coordinateur
Pierre Le MARECHAL (UMR CNRS 8619 – Université Paris-sud 11)
Fabrice ANGO (INSERM 661- Montpellier)
Francine ACHER (UMR CNRS 8601 – Université Paris Descartes)



BIOLOGIE & SANTÉ 2011

Récepteur présynaptique métabotropique du glutamate de type 4 (mGluR4) : fonctions synaptiques, mécanismes et ciblage présynaptique dans le cervelet Biologie & santé 2011

CONTEXTE

Le glutamate, neurotransmetteur principal du cerveau mammifère, active les récepteurs glutamatergiques ionotropiques et métabotropiques (mGluR1-8). Les récepteurs mGluRs pré et post-synaptiques modulent la transmission excitatrice rapide. Les circonstances physiopathologiques impliquant les mGluRs commencent à être découvertes, aussi ces récepteurs représentent maintenant une cible exceptionnelle pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques. Le projet presymGluR4 visait à révéler les mécanismes moléculaires sous-tendant le contrôle inhibiteur exercé par les mGluR4 présynaptiques sur la transmission glutamatergique dans le cortex cérébelleux de rongeur.

OBJECTIFS

Identifier (i) les mécanismes par lesquels les mGluR4 modulent la transmission synaptique glutamatergique, (ii) de nouveaux outils pharmacologiques spécifiques des mGluR4, (iii) les partenaires protéiques des mGluR4 et (iv) leurs rôles fonctionnels dans le fonctionnement de ces récepteurs. A cette fin, nous avons combiné des enregistrements de patch-clamp sur cellules entières et des mesures dynamiques des variations de calcium présynaptique avec des approches pharmacologiques, associées à des méthodes de protéomique fonctionnelle mettant en jeu la spectrométrie de masse.

RESULTATS

1/ Identification des mécanismes d'action et rôle physiologique des mGluR4 présynaptiques des fibres parallèles du cortex cérébelleux

-Démonstration que parmi les mGluRs du group III, seul mGluR4 est responsable chez les rongeurs, de l'inhibition de la transmission synaptique glutamatergique aux synapses fibres parallèles –cellules de Purkinje (**a/ Abitbol et al., 2008**).

-Découverte d'une nouvelle voie de transduction (phospholipase C / protéine kinase C) des mGluR4 présynaptiques dans le cortex cérébelleux de rongeur (**b/ Abitbol et al., soumis**).

- Mise en évidence de la présence de récepteurs fonctionnels mGluR4s aux synapses fibres parallèles –interneurones de la couche moléculaire du cortex cérébelleux.

- Démonstration de l'absence d'interactions fonctionnelles entre les récepteurs présynaptique mGluR4, CB1 (récepteur cannabinoïde de type 1) et récepteur à l'adénosine de type 1 (A1) aux synapses fibres parallèles –cellules de Purkinje.

2/ Découverte et étude fonctionnelle de nouveaux agonistes orthostériques de mGluR4: LSP1-2111 (c/ Selvam et al., en preparation) and LSP4-2022 (d/ Vilar et al. en preparation) à l'aide d'enregistrements électrophysiologiques et optiques réalisés sur des préparations *ex-vivo* (tranches de cervelet).

3/ Identification par spectrométrie de masse de partenaires des mGluR4s natifs à l'aide d'approches protéomiques complémentaires mises en œuvre avec des extraits protéiques de cervelet de rat : 1) co-immunoprécipitation avec des anticorps dirigés contre le récepteur mGluR4, 2) chromatographie d'affinité avec des peptides synthétiques correspondants à la 2^{ème} boucle intracellulaire et à la queue C-terminale du récepteur. 185 protéines ont été identifiées par spectrométrie de masse et certaines validées par Western-blot. Plusieurs sont impliquées dans l'exocytose: synapsin-1 et 2, synaptogamin 2, synaptic vesicle glycoprotein 2A; NSF (N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein), Rab-3A, munc 18-1; syntaxin-1B, SNAP-25 (**e/ Ramos et al., en préparation**). Des protéines associées aux voies de signalisation de type PLC-PKC confortent les résultats obtenus avec les outils pharmacologiques: Guanine nucleotide-binding protein (*G(q) sous-unités alpha, beta-1, beta-2*), PI-PLC X domain, RACK1 (*ancrage de la PKC activée au cytosquelette*), MARCKS, (*substrat PKC*), superfamille des protéines Ras (*small GTP binding proteins: Rab, Rho, Ras...*).

4/ Rôles des protéines partenaires de mGluR4 nouvellement identifiées

Démonstration que l'activation pharmacologique des mGluR4s présynaptiques, en plus de la modulation des concentrations intracellulaires de calcium dans les axones, diminue directement la probabilité de libération du glutamate, en interférant avec les acteurs moléculaires de la machinerie d'exocytose, aux synapses fibres parallèles –interneurones de la couche moléculaire du cortex cérébelleux

CONCLUSIONS - PERSPECTIVES

Poursuivre l'étude des rôles des partenaires protéiques dans l'implication fonctionnelle des mGluR4 dans le contrôle de la transmission synaptique glutamatergique, et l'adressage de ces récepteurs vers une localisation présynaptique,

PUBLICATIONS

a/ Depression of excitatory transmission at PF-PC synapse by group III metabotropic glutamate receptors is provided exclusively by mGluR4 in the rodent cerebellar cortex. *Journal of Neurochemistry*, 2008; 2009-2079. K. Abitbol, F. Acher and H. Daniel. (*multi-partners*)
b/ A new signalling pathway for parallel fibre presynaptic type 4 metabotropic glutamate receptor (mGluR4) in the rat cerebellar cortex. (*submitted*) K. Abitbol, H. McLean, T. Bessiron and H. Daniel.
c/ A new series of potent group-III metabotropic glutamate receptors agonists (in preparation) C. Selvam, N. Oueslati, I. Lemasson, I. Brabet, D. Rigault, T. Courtiol, S. Cesàri, T. Bessiron, H. McLean, H. Daniel, L. Moyn, H.-O. Bertrand, C. Goudet, J.-P. Pin and F. Acher. (*multi-partners*)
d/ A new selective metabotropic glutamate receptor type 4 orthosteric agonist opens new ways to develop subtype selective ligands with potential therapeutic effects (in preparation) B. Vilar, T. Courtiol, T. Delteil, T. Bessiron, I. Brabet, N. Oueslati, D. Rigault, H.O. Bertrand, H. McLean, H. Daniel, M. Amalric, C. Goudet, F. Acher and J.P. Pin. (*multi-partners*)
e/ Native presynaptic metabotropic glutamate receptor type 4 (mGluR4) interacts with exocytosis proteins in rat cerebellum (in preparation) C. Ramos, S. Chardonnet, A. Mesneau, C. Marchand, P. Decottignies, C. Berrier, H. Daniel and P. Le Maréchal. (*multi-partners*)

CONTACT :

herve.daniel@u-psud.fr

