

Contrôle de la localisation de la protéine kinase A, une propriété des AKAP partagée par une protéine précoce des adénovirus

Mériem Imarazène¹, Ouidad Aouragh¹, Karim Benihoud²

Processus d'activation de la PKA

La protéine kinase A (PKA) est une protéine cytoplasmique organisée en tétramères (holoenzyme), composée de deux sous-unités régulatrices et deux sous-unités catalytiques. La liaison de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) sur les sous-unités régulatrices (RI α et RII α) entraîne la libération des sous-unités catalytiques (C) qui vont pouvoir exercer leur activité sur différents substrats. Le modèle classique décrit donc une dissociation de l'holoenzyme dans le cytoplasme après fixation de l'AMPc puis une phosphorylation, par les sous-unités catalytiques, de différents substrats protéiques situés à la membrane plasmique, dans le cytosol ou dans le noyau. Cependant, il a été montré plus récemment que l'activation de l'holoenzyme pouvait également avoir lieu dans le noyau [1]. Les PKA sont impliquées dans de nombreuses fonctions cellulaires et, en particulier, dans la régulation du métabolisme. Leur activation dépend du taux d'AMPc qui, lui, est régulé par différentes adénylates cyclases et phosphodiesterases. Cette activation dépend également de protéines d'échafaudage (*scaffold protein*) appelées *A-kinase anchoring proteins* (AKAP) qui compartimentalisent la PKA dans des régions cellulaires précises. En interagissant avec les sous-unités régulatrices de la PKA, les AKAP permettent de localiser les sous-unités catalytiques au voisinage de leurs substrats [2].

Dans des travaux précédents, le groupe de J.S. Mymryk avait montré que les adénovirus (Ad) humains – une famille de virus à ADN – déclenchaient l'activation des PKA. Les auteurs s'étaient intéressés à une protéine précoce du cycle viral, la protéine E1A. Celle-ci était connue pour sa capacité à modifier les cellules infectées par différents mécanismes moléculaires de façon à les rendre aptes à la réplication virale. Les auteurs avaient révélé que cette protéine E1A possédait, au niveau de sa partie aminoterminal, un motif de type AKAP qui cible le domaine de dimérisation et d'ancrage (D/D pour *docking and dimerization*) des sous-unités régulatrices de la PKA [3]. Ce motif permet aux protéines E1A de l'Ad5 de relocaliser les sous-unités régulatrices RI α de la PKA du cytoplasme vers le noyau, conduisant à une augmentation de la transcription des gènes viraux précoces et à une augmentation de la production de virions. Plus récemment, King *et al* ont poursuivi leurs travaux en s'intéressant aux protéines E1A de différents sérotypes adénoviraux humains [4]. En particulier, les auteurs ont cherché à mieux comprendre les bases moléculaires de l'interaction entre les AKAP et les protéines E1A.

Ciblage des sous-unités régulatrices de la protéine kinase A par les protéines E1A de différents sérotypes d'adénovirus

Les auteurs ont tout d'abord réalisé des transfections de cellules avec des

¹M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France ;

²Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses, UMR 8203, CNRS, Université Paris-Sud, Institut Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, 94800 Villejuif, France.

imarazene.meriem@gmail.com

widedaouragh@gmail.com

karim.benihoud@u-psud.fr

vecteurs codant les sous-unités régulatrices (RI α et RII α) et catalytiques (C α) de la PKA, et des protéines E1A provenant de différents sérotypes d'Ad humains. Puis, par des techniques de co-immunoprécipitation, ils ont montré que les protéines E1A issues des sérotypes 3, 5, 9, 12 et 40 (mais pas des sérotypes 4 et 52) étaient capables d'interagir avec les sous-unités RI α et RII α . De plus, ils ont montré que, quand il y avait interaction, celle-ci se faisait via la liaison d'un motif d'une dizaine de résidus dans la partie amino-terminale des protéines E1A avec le domaine D/D des sous-unités régulatrices RI α et RII α .

Relocalisation nucléaire des sous-unités régulatrices de la PKA par les protéines E1A de certains sérotypes adénoviraux

Pour étudier l'impact de l'interaction des protéines E1A sur la localisation intracellulaire des sous-unités RI α et RII α , les auteurs ont ensuite utilisé des techniques d'immunofluorescence et d'imagerie cellulaire. L'analyse des cellules HeLa exprimant différentes protéines E1A (à la suite de la transfection par des plasmides ou l'infection par différents adénovirus) a permis de répartir les protéines E1A en 3 groupes : des protéines E1A (Ad4, Ad40 et Ad52) incapables de relocaliser les sous-unités régulatrices du cytoplasme vers le noyau, des protéines E1A capables de reloca-



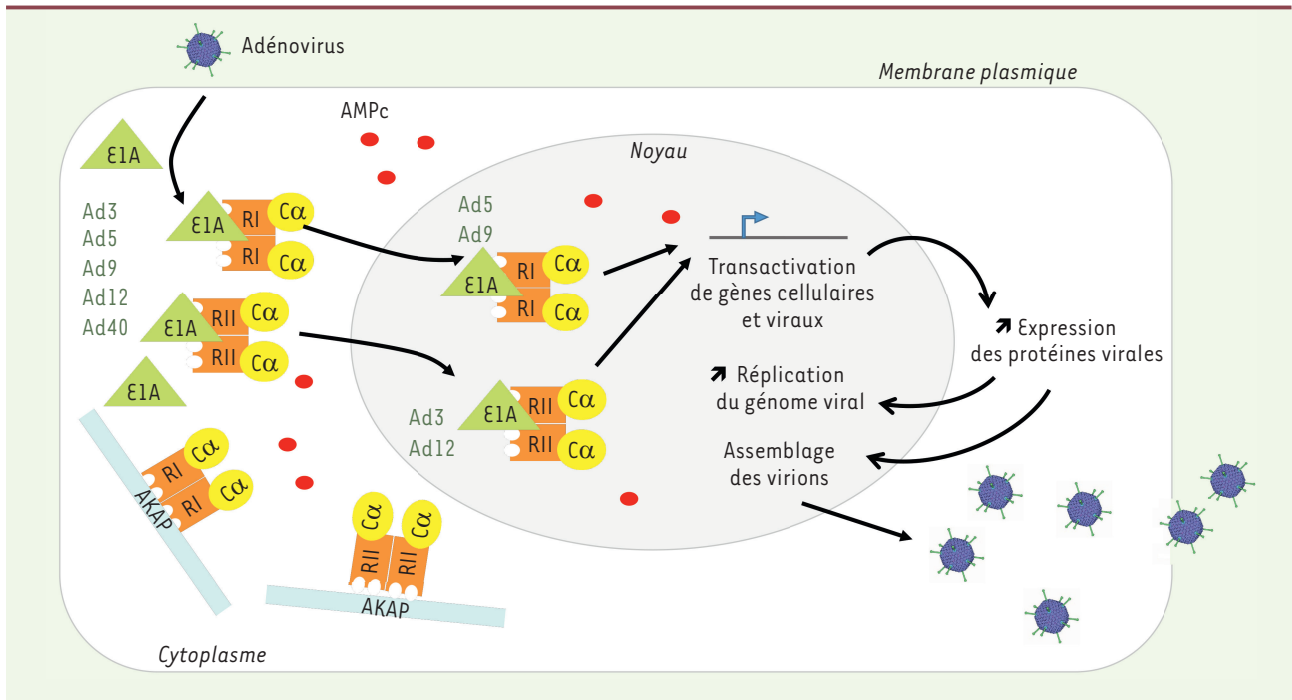


Figure 1. Mimétisme moléculaire par les protéines E1A des adénovirus des protéines AKAP. Les protéines E1A sont les premières protéines de l'adénovirus exprimées après l'infection des cellules. Les protéines E1A de nombreux sérotypes viraux (sérotypes 3, 5, 9, 12 et 40) sont capables de mimer les fonctions d'une AKAP cellulaire en interagissant avec les sous-unités régulatrices de la PKA. Les protéines E1A des Ad5 et Ad9 interagissent avec la sous-unité catalytique RI, tandis que les protéines E1A des sérotypes 3 et 12 interagissent préférentiellement avec les sous-unités catalytiques RII. Il en résulte un import nucléaire de la PKA qui conduit à une transactivation par cette protéine des gènes cellulaires et viraux, à une augmentation de la synthèse des protéines virales et de la réplication du génome viral permettant une meilleure production virale. AMPc : adénosine monophosphate cyclique. Le pictogramme de l'Ad est issu de <https://pdb101.rcsb.org/motm/132>

liser spécifiquement la sous-unité RI α (Ad5 et Ad9) ou la sous-unité RII α (Ad12 et Ad3). Dans le cas particulier de l'Ad5, les expériences ont révélé que cette relocalisation nécessitait le site de localisation nucléaire présent dans la région carboxy-terminale de la protéine E1A. Enfin, l'étude de protéines E1A chimères entre la protéine E1A de l'Ad5, capable de fixer RI α mais pas RII α , et la protéine E1A de l'Ad4, incapable de fixer RI α mais fixant RII α , a démontré que le domaine amino-terminal des protéines E1A dictait la spécificité d'interaction avec les sous-unités régulatrices et, par voie de conséquence, la localisation de ces sous-unités. Il suffit de muter quelques résidus de cette région amino-terminale des protéines E1A pour perdre l'interaction avec les sous-unités régulatrices.

L'interaction des protéines E1A avec la PKA, une étape indispensable à la production de différents sérotypes adénoviraux

Les chercheurs ont ensuite voulu comprendre l'intérêt fonctionnel de l'interaction entre les protéines E1A et les sous-unités régulatrices de la PKA. Ils ont tout d'abord montré que l'expression d'un gène rapporteur sous le contrôle d'un promoteur répondant à l'AMPc était induite dans des cellules exprimant les protéines E1A de différents sérotypes, mais pas lorsqu'on exprimait des protéines E1A mutées pour le domaine d'interaction avec les sous-unités régulatrices de la PKA. Ceci démontrait l'importance de l'interaction entre E1A et les sous-unités régulatrices pour le déclenchement de l'activité transactivatrice de la PKA sur les promoteurs qu'elle contrôle. De plus, l'inhibition des

sous-unités régulatrices ou/et catalytiques de la PKA par interférence ARN dans les cellules infectées par différents sérotypes adénoviraux conduit à une diminution de la réplication du génome viral et de la production des virions. Ces résultats soulignent l'importance de l'activité PKA et donc de l'interaction entre E1A et la sous-unité régulatrice dans le cycle infectieux des adénovirus humains. Ils sont en accord avec l'étude précédente du même groupe montrant, dans le cas de l'Ad5, que l'interaction E1A-PKA était nécessaire à la transcription des gènes viraux précoces [3]. Il faut noter cependant que, dans la nouvelle étude, l'inhibition des sous-unités catalytiques réduit la réplication virale de tous les sérotypes adénoviraux testés, y compris l'Ad4 dont la protéine E1A n'interagit pas avec les sous-unités régulatrices de la PKA. Ceci suggère qu'à



côté d'une activité PKA mobilisée de manière dépendante de la protéine E1A, il existe une activité PKA mobilisée indépendamment des protéines E1A.

Les données de cette étude [4], combinées aux travaux précédents de la même équipe [3], démontrent que l'interaction des protéines E1A de l'adénovirus avec la PKA est une caractéristique commune à de nombreux sérotypes adénoviraux. Les résultats obtenus ont révélé un mécanisme moléculaire original fondé sur l'interaction des protéines E1A avec le domaine D/D des sous-unités régulatrices de la PKA via un motif similaire à celui des AKAP cellulaires. Ainsi, ces travaux démontrent pour la première fois l'existence d'AKAP viraux et ajoutent une nouvelle fonction à celles déjà identifiées

pour les protéines E1A comme l'interaction avec la protéine Rb (rétinoblastome) [5] ou la modulation du programme épigénétique [6] de la cellule hôte. De manière plus générale, l'étude de la façon dont les protéines viraux s'intègrent dans les réseaux de signalisation des cellules hôtes permet de mieux comprendre comment les virus prennent le contrôle de ces cellules pour créer un environnement propice à leur réplication. ♦

Mimicry of cellular A kinase anchoring proteins, a conserved function of E1A early proteins shared by several human adenovirus species

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Sample V, DiPilato LM, Yang JH, et al. Regulation of nuclear PKA revealed by spatiotemporal manipulation of cyclic AMP. *Nat Chem Biol* 2012 ; 8 : 375-82.
2. Torres-Quesada O, Mayrhofer JE, Stefan E. The many faces of compartmentalized PKA signalosomes. *Cell Signal* 2017 ; 37 : 1-11.
3. King CR, Cohen MJ, Fonseca GJ, et al. Functional and structural mimicry of cellular protein kinase A anchoring proteins by a viral oncoprotein. *PLoS Pathog* 2016 ; 12 : e1005621.
4. King CR, Gameiro SF, Tessier TM, et al. Mimicry of cellular A kinase-anchoring proteins is a conserved and critical function of E1A across various human adenovirus species. *J Virol* 2018 ; 92 : e01902-17.
5. Whyte P, Buchkovich KJ, Horowitz JM, et al. Association between an oncogene and an anti-oncogene: the adenovirus E1A proteins bind to the retinoblastoma gene product. *Nature* 1988 ; 334 : 124-9.
6. Horwitz GA, Zhang K, McBrien MA, et al. Adenovirus small e1a alters global patterns of histone modification. *Science* 2008 ; 321 : 1084-5.

www.myobase.org

Catalogue en ligne disponible gratuitement sur Internet publié par l'AFM-Téléthon.
Retrouvez facilement toutes les références bibliographiques sur les maladies neuromusculaires, les situations de handicap qu'elles génèrent et leurs aspects psychologiques.

Myobase donne un accès libre à 75 % du fonds documentaire collecté depuis 1990, représentant plus de 40 000 références spécifiques du domaine des maladies neuromusculaires.

UN OUTIL ERGONOMIQUE, UNE INTERFACE BILINGUE

- Laissez-vous guider par les **tutoriels**
- Lancez une **recherche** et affinez votre sélection grâce aux filtres

UN ACCÈS facile et simple

Rechercher avec des opérateurs :

- guillemets pour une expression "**maladie de pompe**"
- + pour signifier **ET**, et retrouver tous les documents contenant les deux mots "**fauteuil +électrique**"
- - pour signifier **NON** et enlever le mot de la recherche : "**autonomie -établissement**"

> **articles** de la littérature biomédicale et psycho-sociale

> **livres, thèses**

> **guides** d'associations et **rapports** institutionnels d'agences internationales

> **brèves en français**, synthèses des articles médico-scientifiques internationaux les plus pertinents

> **publications AFM-Téléthon** destinées aux professionnels de santé ou aux personnes atteintes de maladie neuromusculaire et à leur entourage

TOUT MYOBASE

Rechercher... Ok

Recherche avancée

Histo **FILTRES**

Type de document

Article [3443]

Publication AFM [176]

Thèse/Mémoire [107]

Brève [102]

▶ PUBLICATIONS AFM-Téléthon

▶ BRÈVES

▶ DOCUMENTS DE SYNTHÈSE

▶ INSTITUT DES BIOTHÉRAPIES PUBLICATIONS

• **Partagez** les résultats de votre recherche

Fils RSS

Les Fils RSS vous permettent de suivre quotidiennement les nouveautés de Myobase, mais aussi ...

Alertes Myobase

Les Alertes rassemblent une sélection des dernières acquisitions de Myobase et paraissent deux fois...

Veille Neuromusculaire

Publiée tous les 15 jours par le Service de documentation de l'AFM-Téléthon, La "V..."

- Cliquez sur l'**onglet thématique** qui vous convient (haut de la page d'accueil)
- Créez vos alertes personnalisées en ouvrant un **compte personnel**
- Téléchargez la **Veille Neuromusculaire**
- Abonnez-vous aux **flux RSS**