

Carabine

INTRODUCTION

Au début des années 1900, la recherche sur les phénomènes d'agglutinations sanguines et les immunisations des animaux a conduit à une étude plus poussée [du sang et de divers sérums](#). Le retour vers ces travaux scientifiques anciens permet de retrouver la définition et donc la signification de nombreux acronymes utilisés en routine dans la recherche d'aujourd'hui. Progressivement une terminologie systématique est acquise dans les articles et par exemple de nombreux acronymes sont utilisés comme le sigle RBC (pour, [Red Blood Cells](#)). Puis se trouve associé à cette terminologie une information plus spécifique avec le terme RAS (pour, **RBC-Absorbed Sera**). Ce qui va permettre dès les années 90 de parler d'une nouvelle famille de protéines, [les protéines RAS](#)

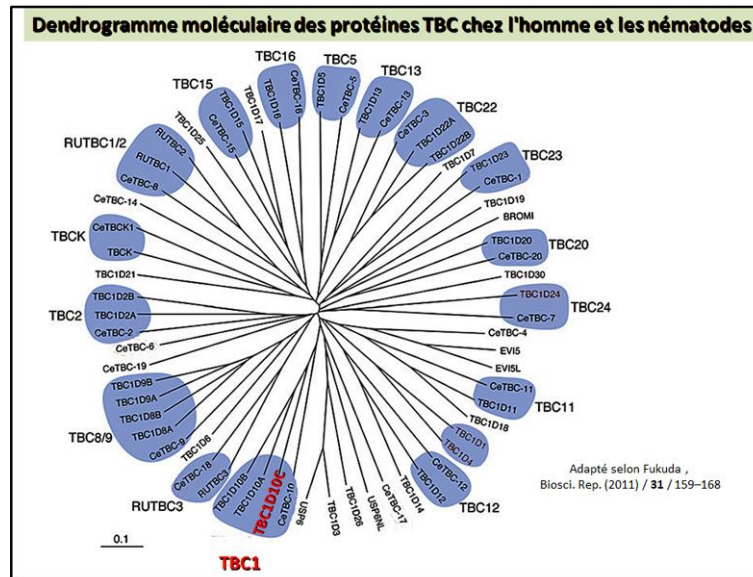
Ainsi les Gènes dits « RAS » sont membres d'un encodage de famille multigénique pour des protéines étroitement apparentées dont les séquences d'acides aminés sont hautement conservées dans l'évolution, ce qui suggère qu'ils ont des fonctions cellulaires essentielles. Les protéines RAS appartiennent à une famille de polypeptides apparentés qui sont présentes dans tous les organismes eucaryotes [depuis la levure jusqu'à l'homme](#). Leurs propriétés biochimiques comprennent la liaison et l'échange des nucléotides de guanine et de l'activité GTPase.

Progressivement on parle de La superfamille des **protéines RAS** avec généralement une faible liaison au GTP pour ces protéines. Cette Superfamille comprend les protéines RAS, RAL, RHO, RAP, YPT1, SEC4 et leur présence va donc avoir un impact important dans divers domaines de la biologie cellulaire. Ce sont donc toutes [des petites protéines susceptibles de lier le nucléotide GTP](#). Puis un rôle va leur être plus largement dédié dans le [transport vésiculaire](#) au sein de la cellule. Et c'est de toujours plus nombreuses protéines dont le poids moléculaires variant de 21 à 31 kDa qui furent identifiées comme des protéines dites « [RAB](#) » en relation avec le fait que de telles protéines furent découverte dans le cerveau « Brain » (Acronyme pour , **RA**s-related in **BR**ain) .

Durant les années 1990, on constate une présence accrue pour l'expression d'une famille de petites protéines susceptibles de lier le **nucléotide Guanosine triphosphate (GTP)**, les protéines dites « **RAB** », qui sont particulièrement découvertes au cours de [la différenciation induite des phagocytes](#). Il va alors paraître évident de considérer ces petites protéines comme [des marqueurs spécifiques d'un compartiment cellulaire](#) en relation avec un rôle clé dans la régulation de bourgeonnement et événements ciblage / de fusion lors du transport des protéines.

Mais dans les années 1990 à 2000 des nouveaux membres de cette famille de protéines sont alors découverts avec une séquence similaire ce qui va entraîner de les codifier avec un nouvel acronyme (**TBC** pour avoir des similarités avec des domaines similaires trouvés dans les entités **Tre-2 / Bub2 / CDC16**), et comme on découvre rapidement des variations entre divers domaines TBC trouvés on ajoute [un chiffre pour les différencier](#) comme TBC1 et TBC3 par exemple, et même parfois **un chiffre et une lettre**. Puis dès 2001, des protéines contenant **des domaines-TBC** dans d'autres espèces vont être désignées sont le terme de **Rab-GAP**, [**GAP**, signifiant **GTPase Activating Proteins**], et on va définir la famille des « [Rab GTPases](#) », cela permet de dresser une première illustration des bases structurales du

rôle dans l'[activation et l'hydrolyse du GTP de ces protéines](#) et un arrangement spatial d'une séquence type figure dans l'article original en référence.



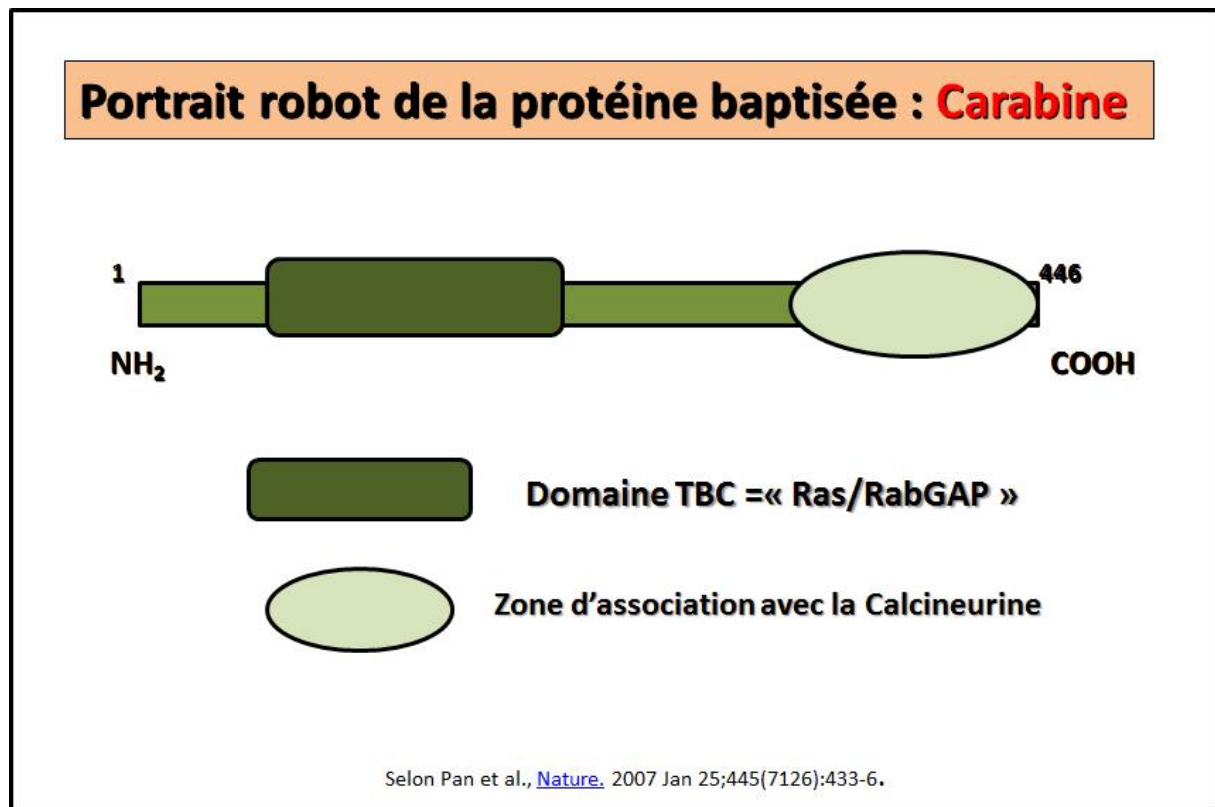
Ainsi dans la littérature aujourd'hui on va trouver une revue sur le domaine **TBC** (pour **Tr**-2 / **Bub**2 / **CDC**16). Ce domaine a été initialement identifié comme un domaine conservé parmi des oncogènes régulateurs produits durant le cycle cellulaire de la levure Bub2 et CDC16. Les premières études dans ce domaine concernèrent [la protéine Pollux](#), une nouvelle protéine impliquée dans le processus de l'adhésion cellulaire, découverte chez la Drosophile, mais que l'on identifie aussi chez les plantes, les levures, les nématodes et l'homme. Il est maintenant largement reconnu comme un motif conservé qui se compose d'environ **200 acides aminés** et que l'on va découvrir chez tous les eucaryotes. Un dendrogramme moléculaire permet d'illustrer tous les composants de cette large famille de protéines TBC, plus particulièrement chez l'homme et les nématodes et de positionner la sous famille des TBC1 avec en rouge l'information sur la protéine **TBC1D10C**.

La Carabine

Tableau récapitulatif des différentes séquences de la Carabine				
Protéine	PM	mRNA	Gène	Site d'expression
Carabine	49,7 kDa	1,77 kb	11q13.1	Membrane

C'est alors que chez l'homme la nouvelle entité de cette famille de protéine, baptisée **la Carabine**, que l'on va tout d'abord désigner parfois comme **TBC1D10C** mais alternativement comme **EPI64C** (acronyme pour : **EBP**50-**PDZ** Interactor of **64kD** avec **EBP**50 signifiant : **ERM**-**B**inding **P**hosphoprotein-of **50** kDa) sera identifiée avec son gène localisé sur [le chromosome 11](#). Le terme de **Carabine** est en fait le reflet de sa capacité pour lier (to **bind**) **Calcineurine** et **Ras**. Pour plus de détails le tableau suivant récapitule les données de séquence sur cette nouvelle protéine humaine. On peut consulter divers détails sur

la base de données suivante en relation avec la protéine maintenant référencée comme la **Carabine** [Q8IV04](#).



En fait, la recherche sur les potentielles protéines capable de s'associer avec la **Calcineurine** firent appel à la technique du double hybride et [2 protéines furent identifiées](#) sans relation entre elles : La **Cabine1** et La **Carabine**. La protéine, Carabine, contient un **domaine Ras / Rab GAP** putatif, également défini comme **domaine TBC**, dans son extrémité N-terminale (résidus 89-294) et un domaine C-terminal (résidus 406 à 446) qui assure son interaction avec la **Calcineurine**. Un portrait-robot de cette protéine Carabine permet d'identifier dans sa séquence ces 2 régions. Les domaines TBC sont bien sr d'une relative grande variété mais notons **cependant qu'en 2014** le profil spécial du domaine TBC de la protéine CrfRabGAP (=Chlamydomonas reinhardtii flagellar RabGAP) a fait l'objet d'une cristallisation et on peut consulter l'arrangement spatial **d'un tel domaine TBC dans la référence indiquée**, et qui correspond aux versions TBC1D3 et TBC1D26 que l'on retrouve chez l'homme .

Rôle de la Carabine

Une étude menée sur la levure *Saccharomyces cerevisiae* a mise en évidence [la première TBC / Rab-GAP](#) protéine identifiée comme GAP Ypt6 sous le terme de Gyp6. Progressivement fut mise au point une méthode pour [le dépistage rapide](#) des protéines de **type Rab-GAP** grâce à des tests sur la potentielle interaction entre une protéine Rab et une protéine **TBC**. Puis de nouvelles méthodes de dépistage permirent d'accélérer l'identification des cibles de protéines Rabs orphelines et diverses **entités TBC** pour [mieux définir les mécanismes de régulation](#) des petites structures dites **GTPase Rabs**.

Une construction exprimée dans des cellules d'insecte, via le baculovirus et le gène de la Carabine a permis d'obtenir la protéine recombinante correspondante. La **Carabine** ainsi

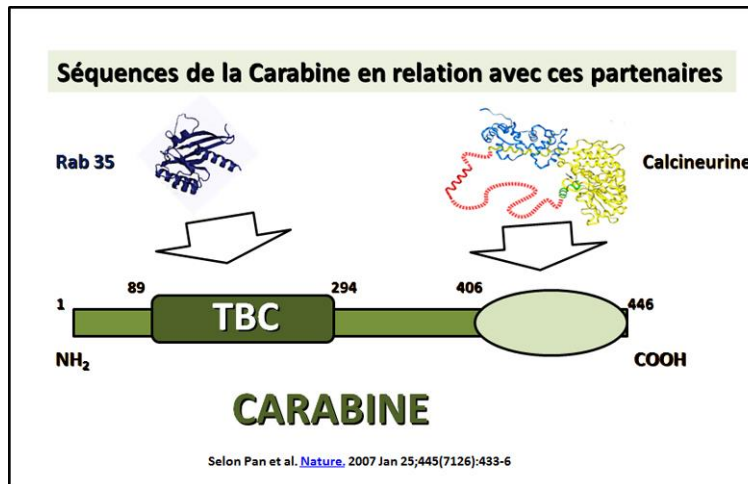
obtenue en grande quantité se montre capable d'inhiber l'activité phosphatase de la **Calcineurine** avec une performance comparable à celle d'une autre protéine inhibitrice [la Calcipressine](#). L'expression ectopique de la *Carabine* permet d'inhiber à la déphosphorylation de **NFATc2** de manière similaire à l'action de la **Cyclosporine (CsA)** et son effet inhibiteur sur la Calcineurine.

Les études menées alors avec la protéine dite **Carabine (TBC1D10C)**, indique clairement que cette protéine est un inhibiteur rétroactif de la **voie de signalisation Calcineurine-NFAT**, mais par ailleurs **est capable de bloquer la voie Ras**, associant ainsi la voie de **signalisation calcique** avec la **répression de la protéine Ras**. Les 2 processus impliquant soit la Calcineurine et /ou la voie Ras sont largement distribués dans divers systèmes biologiques intervenant dans la prolifération et la différenciation cellulaire, il apparait fort probable que [la Carabine va y jouer également](#) un rôle important.

En 2008, une étude par spectrométrie de masse détermine une forte concentration de Carabine au sein des cellules T du sang humain et en général cette forte expression se retrouve dans les cellules hématopoïétiques. Les [méthodes de dépistage récemment appliquées](#) sur les protéines TBC, permirent d'identifier des interactions avec des petites GTPases de type Rab et plus particulièrement de mettre en évidence que la récente **entité Rab35**, découverte pour son [rôle dans la cytokinèse](#), était impliqué **avec la Carabine** au niveau des cellules T dans [la régulation du recyclage des récepteurs et la formation de la synapse](#) immunologique.

En 2010 une nouvelle étude confirme les effets de la famille des protéines Rab sur leur capacité à accélérer l'hydrolyse du GTP, ceci en particulier en analysant en détails et de manière comparative les trois membres de la famille de **TBC1D10A-C (dont la Carabine)** qui ont une activité GAP spécifique forte et la relation avec **Rab35**. On rapporte donc la présence de la Carabine et de la protéine Rab 35 au sein **des cellules hématopoïétiques** avec en cas de surexpression la **formation de vacuoles**, mais également la présence de ce couple de protéines dans [les cellules de types HEK et HMEC-1](#), ceci impliquant une meilleure compréhension pour le type de mécanisme par lequel le canal KCa2.3 est maintenu dans la membrane plasmique de la cellule.

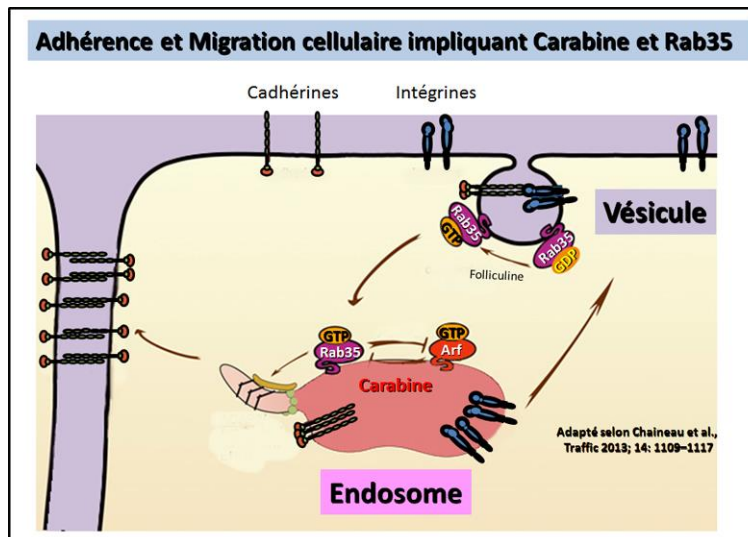
Ce dernier point [une démonstration est actuellement faite](#) pour la présence du canal KCa2.3 qui est localisée à un domaine riche en **Cavéoline** à l'intérieur de la membrane plasmique et est susceptible d'une endocytose sous la double dépendance de la **Dynamine** et de la **protéine Rab5** avant d'entrer dans le compartiment de recyclage géré par le couple **Rab35 / Carabine** pour un retour à la membrane plasmique.



L'organisation spatiale de la [protéine Rab 35](#) est bien connue comme celui de la **Calcineurine**, et un schéma récapitulatif illustre sur le portrait-robot de la Carabine la proximité de ces 2 cibles.

L'association entre la protéine [Rab35 et le domaine TBC de la Carabine](#) semble capable de réaliser un contact similaire à celui rapporté par la revue indiquée en référence pour les complexes variés entre divers effecteurs et les **protéines Arf et RabGTPases**.

Notons que la [protéine Rab35](#) est une protéine de la famille Rab qui est à la fois la membrane plasmique et possède **une localisation endosomale**. Cette protéine Rab35 a été impliquée dans divers processus du trafic vésiculaire, en particulier dans le recyclage qui comprennent celui des récepteurs des cellules T, celui de la protéine du jaune de l'ovocyte et en général la cytokinèse. La **protéine Rab35** est aussi capable de réguler la croissance des neurites.



Une autre étude montre que la **protéine Rab35** actif est susceptible d'être recrutée dans le cytoplasme de la cellule au début par les endosomes où il contrôle le recyclage de Cadherine / Intégrine et permet d'équilibrer l'adhérence cellule-cellule et la migration cellulaire. Dans ce contexte La famille de protéine de type [TBC1D10](#) **hydrolyse alors le GTP pour finalement inactiver Rab35** . Ce processus est illustré dans l'image ci-contre. Cette

illustration résume le contrôle des voies de recyclage pour augmenter l'adhérence des cellules et réduire la migration des cellules via le **couple Carabine et Rb35 en présence de GTP**.

Signalons de plus que la protéine Rab35 est connue pour réguler d'une part [la formation des jonctions dites adhérentes](#) impliquant les Cadhérines et d'autre part la fusion des **myoblastes**.

Notons cependant par ailleurs, que même si il existe une relativement faible conservation de séquence entre [EPI64A / B et la séquence de EPI64C \(Carabine\)](#) dans leur domaine catalytique TBC, il apparaît que les formes EPI64A et B, parmi les membres de la sous-famille EPI64, qui sont exprimés de façon ubiquitaire, sont aussi capable d'inactiver certains Rabs à la périphérie des cellules.

Plus récemment dans une étude centrée sur [l'hypertrophie cardiaque un rôle protecteur de la Carabine](#) est rapporté par sa capacité à bloquer l'action de la Calcineurine sur la voie de signalisation protéine kinase de type II impliquant le calcium et la Calmoduline

Carabine et Pathologies

Il a été proposé que les **inhibiteurs de la Calcineurine (CNI)** puissent être utilisés pour traiter les patients transplantés et à ce **titre la Carabine** serait un inhibiteur qui pourrait jouer un rôle crucial dans la progression rapide du cancer du rein selon un processus similaire à celui développé dans [l'article indiqué en référence](#)

Les mécanismes à l'origine de l'évolution des maladies auto-immunes humaines en général, et du lupus systémique, en particulier, semblent impliquer la participation de la Carabine comme cela est analysé [en détail dans l'article en référence](#).

En 2016, il est rétabli que la [Carabine qui est un Inhibiteur endogène de la calcineurine](#), se comporte comme une cible potentielle de diagnostic et de thérapeutique de l'hypertrophie cardiaque dans le cas d'une insuffisance cardiaque.

En 2018, il est présenté que [la prolyl 4-hydroxylase 2 favorise la progression du lymphome à cellules B via l'hydroxylation de la carabine](#). Les lymphomes à cellules B sont des troubles sanguins hétérogènes dont les options thérapeutiques sont limitées, en grande partie à cause de leur propension à rechuter et à devenir réfractaires aux traitements. Carabine, un suppresseur clé de la signalisation et de la prolifération des récepteurs des cellules B, est inactivé dans les lymphomes à cellules B par des mécanismes inconnus. Il est identifié ici la prolyl 4-hydroxylase 2 (P4HA2) comme une proline hydroxylase spécifique de Carabin. L'hydroxylation de Carabin entraîne sa dégradation protéasomique, activant ainsi la voie Ras/signal extracellulaire régulé kinase et augmentant la prolifération des lymphomes à cellules B. La P4HA2 est indétectable dans les lymphomes à cellules B, mais elle n'est pas détectée dans les lymphomes. **P4HA2 est indétectable dans les cellules B normales mais est régulé à la hausse dans le lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL), entraînant l'inactivation de Carabine et la prolifération du lymphome**. Ces résultats indiquent que P4HA2 est un marqueur de pronostic potentiel pour le DLBCL et une cible pharmacologique prometteuse pour le développement du traitement des lymphomes à cellules B stratifiés sur le plan moléculaire.

En 2022, ce nouveau travail [démontre que la déficience en Carabine aggrave les lésions d'ischémie-reperfusion hépatiques en favorisant le trafic des neutrophiles par l'intermédiaire de la signalisation Ras et Calcineurine](#). L'infiltration de neutrophiles joue un rôle important dans la phase initiale de l'ischémie hépatique et des lésions de reperfusion (HIRI). Malgré les nombreuses molécules clés qui ont été signalées comme jouant un rôle dans le trafic des neutrophiles dans les lésions d'ischémie et de reperfusion hépatiques, le mécanisme de ce processus n'a pas encore été entièrement élucidé. Dans cette étude, il est constaté que la carence en Carabin dans les cellules myéloïdes (LysMCre : Carabinfl/fl) aggravait les lésions hépatiques et l'apoptose induites par l'IRI en augmentant l'infiltration de neutrophiles CD11b+Ly6G+. ImmGen Datasets a en outre révélé que Carabine était exprimé dans les neutrophiles de la moelle osseuse (GM.BM) mais qu'il était significativement régulé à la baisse dans les neutrophiles périphériques induits par la thio (GN.Thio.PC), ce qui a été vérifié de manière cohérente en comparant les neutrophiles GM.BM et les neutrophiles infiltrant le foie induits par l'IRI. Mécaniquement, la régulation à la hausse de Carabin dans la GM.BM in vitro a réduit les niveaux d'expression de la P-sélectine, de la E-sélectine et de l'intégrine $\alpha\beta3$ par l'inhibition de la signalisation Ras-ERK et Calcineurine-NFAT. En outre, le blocage de la P-sélectine, de la E-sélectine et de l'intégrine $\alpha\beta3$ chez les souris LysMCre : Carabinfl/fl a diminué la fréquence et le nombre de neutrophiles CD11b+Ly6G+ et a inversé les dommages causés par l'ischémie-reperfusion hépatique. En conclusion, **ces résultats permettent de mieux comprendre Carabine, qui est exprimé et fonctionne non seulement dans les cellules immunitaires adaptatives (cellules T et B), mais aussi dans les cellules immunitaires innées (neutrophiles), contribuant ainsi à la migration des neutrophiles**. Ces résultats constituent de nouvelles cibles thérapeutiques prometteuses pour la prévention de l'IRH au cours d'une transplantation hépatique ou d'une chirurgie hépatique.

En conclusion

Pour suivre l'évolution des connaissances sur la **Carabine** il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

- A) La **Carabine** avec son lot de références historiques.
- B) Les principales maladies actuellement connues qui résultent d'une mutation ou d'un défaut dans la protéine considérée (avec des références associées).
 - **Protéine** : TBC1 DOMAIN FAMILY, MEMBER 10C; TBC1D10C; [CARABINE](#)
 - **Pathologies associées**: pas de mutation trouvée actuellement