

Junctine

Introduction

Des études sur le muscle cardiaque réalisées **chez le chien** en 1988, permirent de mettre en évidence outre la Calséquestrine une autre protéine qui lui était associée au sein du réticulum sarcoplasmique avec un [poids moléculaire apparent de 26 kDa](#).

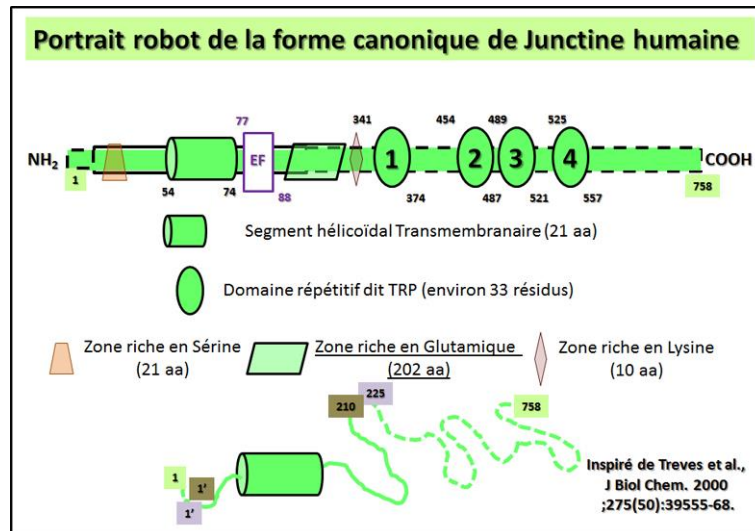
C'est en 1995 que l'on va bien isoler et purifier une protéine à partir du muscle cardiaque qui avait la particularité de se lier à la protéine Calséquestrine. La protéine isolée à partir de [muscle cardiaque chez le chien](#) se présente avec un poids moléculaire apparent de 26 kDa. En traitant le Réticulum Sarcoplasmique avec l'acide 4,4'-diisothiocyano-stilbene-2,2'-disulfonique (DIDS) une nouvelle protéine est également découverte comme associée à la Calséquestrine avec un poids moléculaire supérieur [d'environ 30 kDa dans le muscle cardiaque du lapin](#). Puis en 1998 cette même protéine avec un poids moléculaire apparent de [30 kDa est isolée et caractérisée chez le lapin](#). Ainsi au niveau [du muscle cardiaque humain et chez le jeune lapin au cours du développement](#) on clone des **protéines que l'on va baptiser du nom de « Junctine »**.

Plus **tard en 2000** des travaux chez la souris permettent de d'identifier une protéine sous le nom de [ASPH \(=ASPartyI- beta-Hydroxylase\)](#) qui se présente comme un produit issu d'un épissage alternatif d'un gène localisé sur le chromosome 8, mais qui ne possède pas le domaine catalytique que l'on avait identifié au niveau de la Junctine. On parle également de cette protéine comme de la BAH

La Junctine

Tableau récapitulatif des séquences de la Junctine			
Protéine	Taille	Gène	Site d'expression
ASPH	86 kDa	8q12.1	cytoplasme sous membranaire

La même année on va cloner le cDNA de la forme identifiée comme la [Junctine Cardiaque chez l'Homme](#). (Avec seulement 210 et/ou 225 résidus). Avec un poids moléculaire **de 33 kDa**, toujours chez l'homme on obtient des informations plus précises sur cette nouvelle protéine. On va ainsi différencier 2 types de protéines : un type de petite protéine au sein du Réticulum sarcoplasmique, **la Junctine** ([2 isoformes de 210 et 225 résidus](#)) et une protéine un peu plus grande spécifiquement en liaison à la membrane pour le calcium la « Junctate » ([avec environ 300 résidus pour un PM apparent de 33 kDa](#)). Toutes les données de séquences sont réunies dans le tableau suivant avec un lien Swissprot pour plus de détails : [Q12797](#)



Cette forme longue dite « canonique » de la **Junctine humaine** possède :

Une portion transmembranaire (longue hélice de 21 résidus)

Des Domaines répétitifs dits « TRP » au nombre de 4 codifié de 1 à 4.

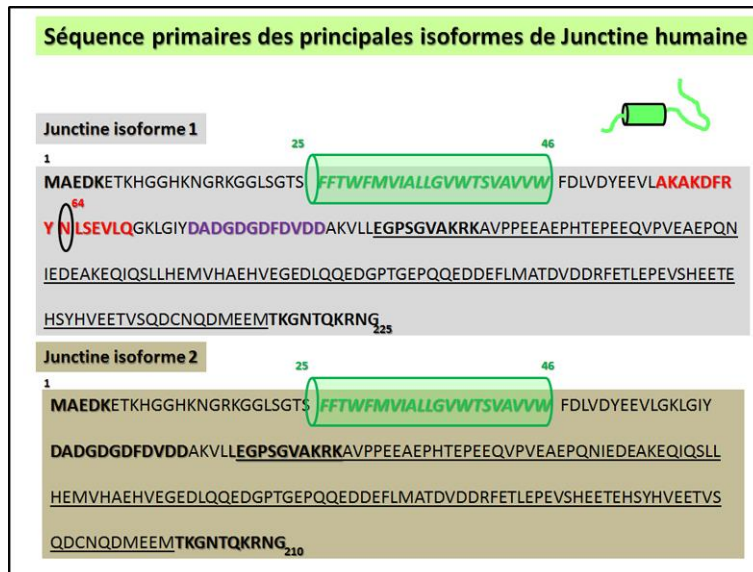
Diverses zones plus ou moins bien définies dont la nature, en zones riches pour des résidus particuliers, est également indiquée sur ce schéma.

Un portrait-robot schématise l'ensemble de ces données.

Tableau récapitulatif des isoformes de la Junctine

Protéine	taille	Site d'expression
Isoforme Junctin-1	25,5 kDa	cytoplasme sous-membranaire
Isoforme Junctin-2	23,8 kDa	cytoplasme sous-membranaire
Isoforme Junctate	33,8 kDa	cytoplasme sous-membranaire

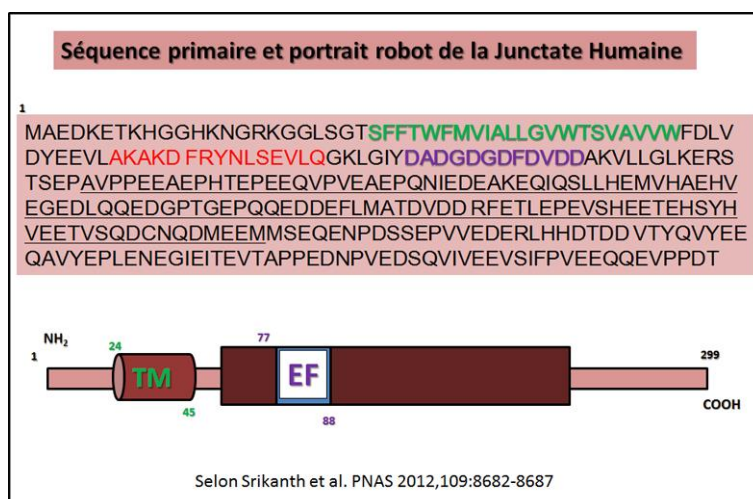
La **définition finale de la Junctine** indique que les formes les plus courtes existent bien comme cela va être rapporté dans le tableau suivant, ce qui permet d'identifier la zone commune (en trait plein) de ces isoformes courtes de la Junctine par rapport à la **forme « canonique » ASPH** illustrée plus haut. **On parle alors des formes courtes, Junctine de types 1 et 2, et Junctate** dont les données de séquences sont rapportées dans le tableau ci-contre avec les liens Swissprot suivant ; [Q12797-3](#) ; [Q12797-4](#) ; [Q12797-8](#). On notera ainsi la présence d'isoformes dites de « Junctate » chez la souris. Tandis que, **l'isoforme cardiaque** est définie comme correspondant à la **Junctine de type-1** et possède un résidu asparagine (Asn-64) susceptible de subir une glycosylation.



Une illustration présente les séquences primaires des 2 plus courtes molécules de « Junctine » codifiées comme les isoformes de type 1 et 2 avec la même séquence trans membranaire hélicoïdale. Les séquences divergentes sont indiquées en gras tandis que la séquence additionnelle de l'isoforme de type 1 qui possède le résidu **asparagine (N) glycosylée est encerclé**. La zone riche en **résidus acide glutamique (E) est surlignée**.

En 1997, il apparait déjà que l'on peut identifier un complexe entre plusieurs protéines répertoriée comme la Triadine, la Calséquestrine, la Junctine et le récepteur à la Ryanodine (Ryr) au niveau du réticulum Sarcoplasmique dans le muscle cardiaque.

En 2010 la Junctate, protéine de 33 kDa intégralement présente au sein de la membrane du réticulum sarcoplasmique forme un complexe avec divers partenaires associés aux canaux calciques.

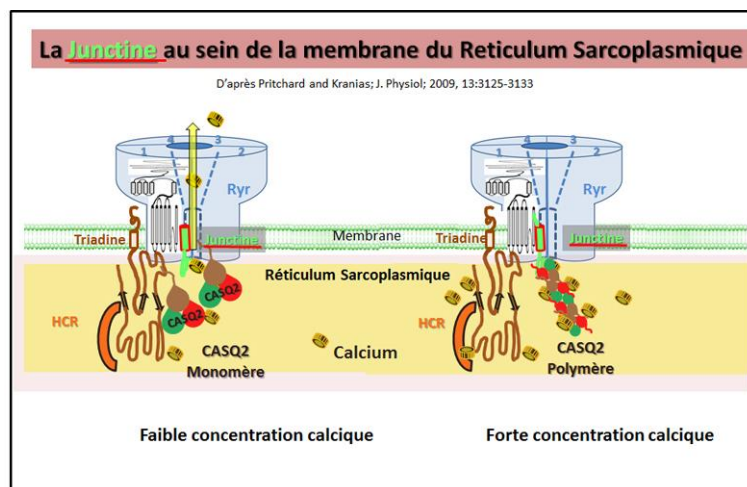


En 2012 la situation de la Junctate est encore mieux définie avec en particulier son portrait-robot et ses relations avec le couple ORAI/STIM (voir les fiches correspondantes). Un schéma représente avec les mêmes codes couleur que précédemment le portrait-robot et la séquence primaire de la Junctate Humaine.

Les Partenaires de la Junctine

En [2009, les informations sont plus précises](#) et seule la Junctine semblait impliquée dans une relation avec la Calséquestrine. Mais cependant la possibilité d'une liaison entre [la Triadine et la Calséquestrine ne semble pas totalement exclue](#) selon l'article en référence. En effet, il a bien été mis en évidence que de charges électrostatiques entre Calséquestrine et Triadine participaient à une [association possible entre ces 2 partenaires](#). La relation entre la Junctine et le récepteur Ryr (site 1) serait sensible à une concentration faible de calcium et serait alors susceptible de rentrer en contact avec la Calséquestrine (site 2), tandis qu'une forte concentration de calcium provoquerait un relargage de la Calséquestrine et libère alors le site 2 pour une association supplémentaire avec le récepteur Ryr ([voir illustration figure 8 de l'article en référence](#)).

Actuellement si la concentration en calcium joue indéniablement un grand rôle dans l'association du [complexe entre Calséquestrine, récepteur Ryr et Junctine](#). Il est proposé que dans un cas de forte concentration en calcium, celui-ci sature les Calséquestrines présentes, qui auront tendance à former des polymères de Calséquestrines, qui vont se brancher sur la Junctine qui restera accroché au récepteur Ryr. (Voir schéma du polymère de Calséquestrine en figure 8 de l'article en référence). Une régulation particulière pour la régulation du calcium au sein du Réticulum Sarcoplasmique semble indiquer la [participation conjointe de la Triadine et de la Junctine](#) avec la protéine liant le calcium dite riche en Histidine (**HRC**). Cette dernière protéine apparaît comme un [partenaire essentiellement nouveau pour la régulation du calcium au sein du RS](#).



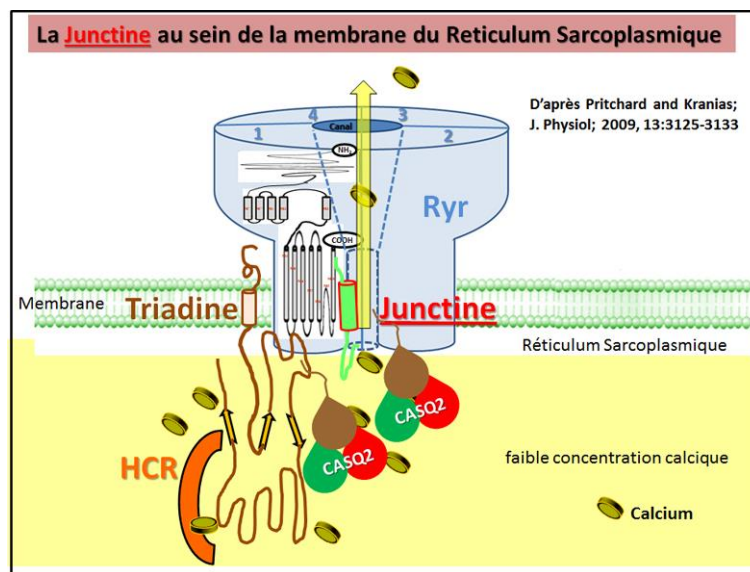
L'ensemble de ces données sont réunies dans un schéma où la lumière du réticulum sarcoplasmique est chargée en Calcium (disques jaunes) avec la Junctine et la Triadine qui figurent dans la membrane du RS en association avec le récepteur Ryr. Selon la concentration en calcium (faible ou forte) on a ainsi un assemblage avec une ou plusieurs Calséquestrines formant des polymères et un canal Ryr actif qui laisse passer le calcium ou pas.

Rôle de la Junctine

On va impliquer la Junctine dans la [régulation du processus de l'homéostasie calcique](#). Puis on identifia progressivement la Junctine dans un [complexe macromoléculaire autour du récepteur de la Ryanodine](#) (Ryr). La Junctine est alors présentée comme un [régulateur important de la contraction](#) au niveau des myocytes cardiaques. Une [mise au point de son](#)

[point rôle](#) au sein du muscle cardiaque est réalisé en 2007. Mais la situation doit [aussi tenir compte du fait de la présence de diverses versions de cette protéine](#) sous forme d'isoformes, soit 1 longue et plusieurs courtes de la Junctine proprement dite, et de la présence de versions similaires nommées « Junctate ». Des travaux sur le sujet autour des protéines de type Junctine/« Junctate », décrivent [des conditions de stimulations particulières](#) et présentent [divers niveaux de contrôle de l'expression](#) de ces protéines.

Cela conduit à conférer un rôle de régulateur à la Junctine au niveau de la fonction du myocarde. ([Voir schémas dans l'article en référence](#)). Ce rôle est déduit des informations enregistrées dans le cas où la Junctine est absente chez une souris mutée pour la Junctine et alors il y a arythmie cardiaque. Au niveau du muscle squelettique on observe qu'une [phosphorylation de la Calséquestrine](#) va favoriser la capacité de cette dernière à lier le calcium ce qui va au final favoriser son association avec la Junctine.



En utilisant une méthode de [sur-expression de la Junctine et de la Calséquestrine](#) dans le muscle cardiaque, il est possible d'investir plus précisément le rôle de Junctine et les voies de synthèse et d'adressage pour ces deux protéines. **En 2009** un bilan plus précis donne la [nature fonctionnelle du complexe incluant Junctine avec Triadine et Calséquestrine](#). Un schéma récapitulatif englobe la totalité des données présentées plus haut

Junctine et Pathologies

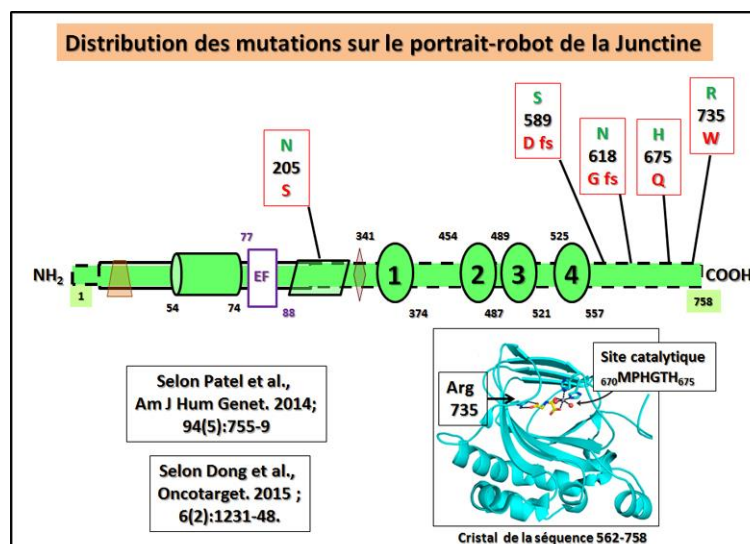
Ainsi, un **déficit en Junctine**, s'accompagne d'une surcharge en calcium au niveau du Réticulum sarcoplasmique, et [améliore la contractilité cardiaque](#), mais augmente l'automatisme ventriculaire. La [déficience, concernant soit la Junctine soit la Triadine](#), compromet une reprise contractile post-ischémique du cœur, ce qui semble être principalement attribuable à l'augmentation du stress et à l'activation de la Calpaïne. Mais dans d'autres muscles que le cœur, dans les myotubes squelettiques **déficients en Triadine et en Junctine**, on observe [une altération dans la libération du calcium stocké](#).

Pour autant, une baisse partielle de la présence de la Junctine améliore d'une part le flux calcium au sein du cœur de la souris sans d'autre part susciter des arythmies ventriculaires. En opposition, une **surexpression de Junctine s'accompagne d'une altération structurale** du relargage du calcium au niveau du cœur. Cette **sur-expression de la Junctine** chez un **modèle animal transgénique va s'accompagner d'un remodelage du Cœur** avec fibrillation auriculaire. En fait, **une telle sur-expression est corrélée généralement** avec un changement dans la signalisation calcique des myocytes. On va par ailleurs, observer **des altérations de la relaxation** chez une souris transgénique sur exprimant la Junctine. Puis on va également constater que **la sur-expression du récepteur bêta-1 adrénergique** au niveau du cœur de la souris va s'accompagner **d'une altération de l'expression de la Junctine** avec une perturbation des flux calciques.

Toujours chez la souris, dans le cas d'une **régulation négative partielle de l'expression de la Junctine**, l'augmentation des flux calciques, au niveau du Cœur, sans susciter des arythmies ventriculaires. Il est proposé **l'existence de rôles potentiels dans l'insuffisance cardiaque** et dans les phases d'arythmies pour **d'une part la Junctine** et d'autre part **la protéine de liaison au calcium riche en Histidine, (HRC)**. Par ailleurs, une observation d'une biopsie musculaire humaine rapporte **la présence de structures cristalloïdes identiques aux amas hexagonaux réticulés** qui sont trouvés **positifs à la Cavéoline 3** dans les cas décrits chez les patients atteints de **myopathies bénignes dites : « hexagonally cross-linked tubular arrays myopathy »**. Ce constat indique que **ces inclusions étaient positives pour Calséquestrine et pour la Junctine** ainsi que pour la Cavéoline 3. Toutefois, les gènes codant pour ces protéines n'ont pas été trouvés mutés.

On note par ailleurs que la **sur-expression de la Junctate au niveau du Cœur induit une hypertrophie cardiaque** accompagnée d'une arythmie.

Avancées depuis 2013



La **Junctine** est parmi les protéines musculaires un des partenaires qui joue un rôle essentiel **dans la structure nommée la Dyade** du **muscle cardiaque**. C'est seulement **en 2014**, que des **mutations dans la séquence primaire** de l' ASPH (junctine) sont rapportées comme

provoquant une dysmorphie faciale, une luxation du cristallin, des anomalies du segment antérieur, et des bulles de filtration spontanées, symptôme que l'on associe généralement avec le syndrome de Traboulsi. En 2015, on observe un [phénotype cellulaire pancréatique maligne](#), que l'on va associer avec une altération de la Junctine. L'ensemble des informations sur des résidus mutés sont réunies sur le portrait-robot de la Junctine et la distribution des mutations jusqu'ici publiées sont présentées dans un même schéma.

Une nouvelle [interaction cytoplasmique entre la Junctine et RyrR1](#) (les canaux permettant la libération du calcium via les récepteur de la Ryanodine). C'est le domaine C-terminal de la Junctine qui va se lier avec le RyrR1 dans sa portion SI-S2 tandis que l'extrémité N-terminale de la Junctine entre en contact avec les résidus 1078-2156 du récepteur RyrR1. Par ailleurs une nouvelle analyse exhaustive de la séquence totale de la Junctine est faites par le biais de synthèse de peptides chevauchants correspondant à 9 résidus consécutifs de cette protéine (correspondants à des 9-mers). On va alors tester l'immunogénicité de chaque peptide dans des cultures de PBMC humaines. On utilise alors la technique dite IFN-ELISpot qui permet de déterminer les peptides qui sont hautement immunogènes chez les patients atteints de carcinome hépatocellulaire (HCC), et cela indique que [certains épitopes de la Junctine sont susceptible d'induire des réponses spécifiques des cellules T](#) chez ces patients.

En 2020, dans ce travail il est confirmé que la calséquestrine, est une [protéine qui joue un rôle clé dans la santé et la maladie des muscles striés](#). Cette revue indique que La calséquestrine (CASQ) est la protéine de liaison au Ca (2+) la plus abondante localisée dans le réticulum sarcoplasmique (SR) du muscle squelettique et du muscle cardiaque. ... Cette revue mettra en évidence les développements récents dans la compréhension des formes CASQ1 et CASQ2 dans la santé et au cours du développement des maladies de ces 2 types de muscles striés. Les 2 formes de calséquestrine , CASQ1 et CASQ2 sont capables d'activer et d'inhiber les canaux de libération de calcium des récepteurs de la ryanodine (RyR), probablement grâce à leurs interactions **avec la junctine** et la triadine. ... Cette revue mettra en évidence les développements récents dans la compréhension de CASQ1 et CASQ2 dans la santé et les maladies.

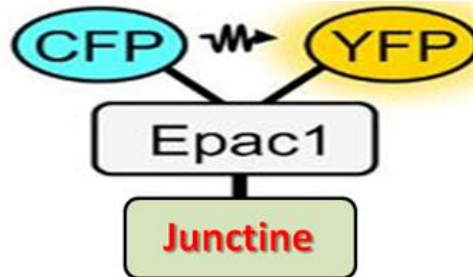
En 2022, ce rapport indique [l'existence des régions multiples au sein de la junctine qui déterminent son interaction avec la calsequestrine-1 et sa localisation dans les triades du muscle squelettique](#). La junctine est une protéine transmembranaire des muscles striés, située au niveau du réticulum sarcoplasmique (RS) jonctionnel. Elle se caractérise par une queue luminaire C-terminale, par laquelle elle interagit fonctionnellement avec la calsequestrine et le récepteur de la ryanodine (RyR). L'interaction avec la calsequestrine a été attribuée à la présence de segments d'acides aminés chargés (aa). Cependant, les régions capables de lier la calsequestrine n'ont pas été définies en détail. Il est présenté ici que, dans les cellules non musculaires, que la junctine et la calsequestrine s'assemblent en longues régions linéaires dans le réticulum endoplasmique, reflétant la formation des polymères de calsequestrine. Dans les myotubes en cours de différenciation, les deux protéines se colocalisent au niveau des triades, où elles s'assemblent avec d'autres protéines du SR jonctionnel. En effectuant des essais de pull-down GST avec des régions distinctes de la queue de la junctine, nous avons identifié deux motifs KEKE qui peuvent lier la calsequestrine. **En outre, des tronçons d'aa chargés en aval de ces motifs se sont avérés lier également la calsequestrine et le RyR.** La suppression d'une seule de ces régions a réduit la capacité de la junctine à se localiser au niveau de la SR jonctionnelle, ce qui suggère que l'interaction avec d'autres protéines à cet endroit représente un élément clé dans le ciblage de la junctine.

Biocapteur FRET Epac1-JNC transgénique ciblant la junctine

Augmentation de cAMP

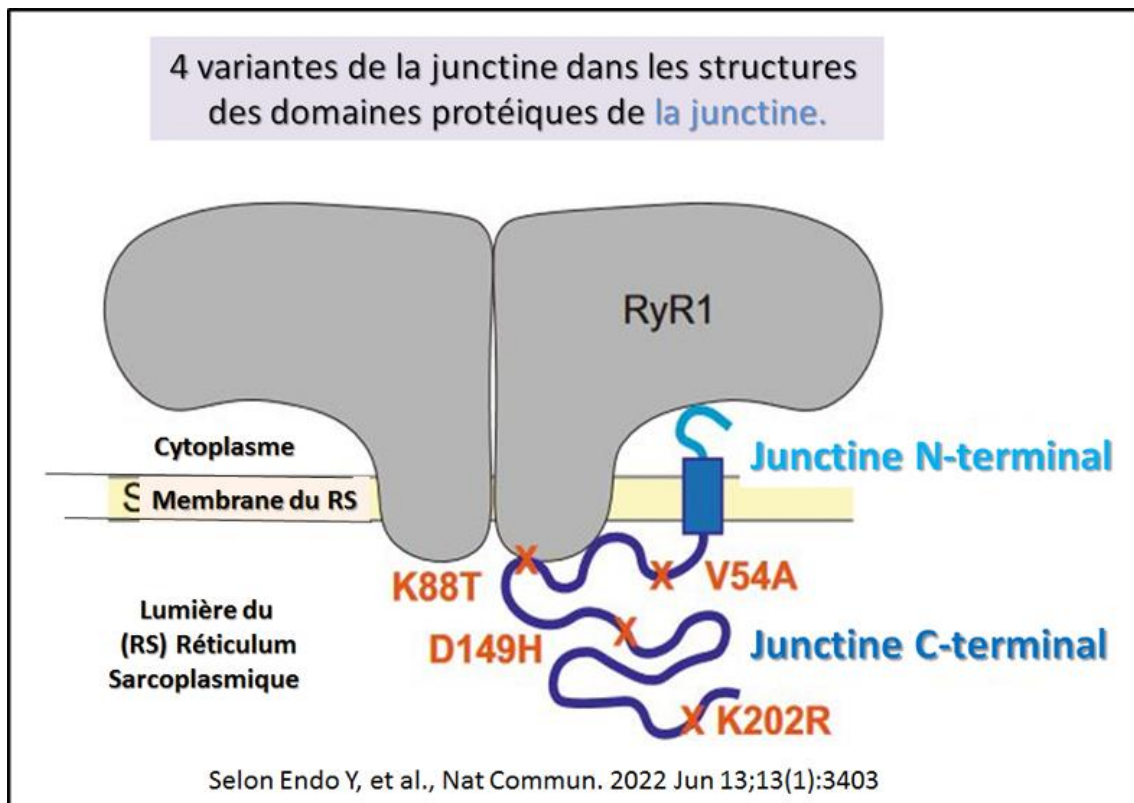


Diminution du FRET



Selon Brandenburg S, J Mol Cell Cardiol. 2022 Apr;165:141-157

Par ailleurs cet article [montre un compartiment d'AMPc jonctionnel qui permet de réguler la signalisation rapide du Ca²⁺ dans les myocytes auriculaires](#). Il est intéressant de noter qu'un nouveau biocapteur d'AMPc FRET transgénique ciblant la junctine était exclusivement regroupé dans le compartiment jonctionnel et permettait donc de surveiller sélectivement l'AMPc à proximité des canaux RyR2 jonctionnels. Pour disséquer les niveaux locaux d'AMPc aux jonctions des tubules axiaux par rapport aux sites de libération de Ca²⁺ sous la surface, il a été développé une technique d'imagerie confocale FRET pour les myocytes auriculaires vivants. Une activité adénylyl cyclase constitutivement élevée a permis d'augmenter les niveaux locaux d'AMPc aux jonctions tubulaires axiales, tandis que la stimulation β -adrénergique a surmonté cette compartimentation de l'AMPc, entraînant une phosphorylation supplémentaire des clusters RyR2 non fonctionnels. L'inhibition de l'adénylyl cyclase, cependant, a aboli la phosphorylation jonctionnelle des RyR2 et a diminué les courants des canaux Ca²⁺ de type L, tandis que l'imagerie FRET a montré une diminution rapide de l'AMPc. **En conclusion, l'imagerie par biocapteur FRET a identifié des niveaux d'AMPc compartimentés et constitutivement augmentés dans les dyades jonctionnelles, entraînant à la fois une augmentation locale de la phosphorylation des grappes de RyR2 et une plus grande densité de courant Ca²⁺ de type L dans les myocytes auriculaires.** Ce nanodomaine d'AMPc spécifique à la cellule est maintenu par une activité adénylyl cyclase accrue de manière constitutive, contribuant à la libération rapide de Ca²⁺ induite par la jonction, tandis que la stimulation β -adrénergique surmonte la compartimentation de l'AMPc jonctionnelle par l'activation à l'échelle de la cellule des grappes de RyR2 non fonctionnelles. Issu de l'article en référence un dessin illustre le biocapteur FRET Epac1-JNC transgénique ciblant la junctine. L'augmentation des niveaux d'AMPc diminue le rapport FRET. (B-C) Traces FRET représentatives de l'imagerie par épifluorescence dans les AM transgéniques Epac1-JNC



De plus il est [présenté ici des données sur les variantes de l'ASPH provoquent une maladie de la chaleur à l'effort et sont associées à une susceptibilité à l'hyperthermie maligne](#). La maladie de la chaleur à l'effort (EHI) et l'hyperthermie maligne (MH) sont des affections potentiellement mortelles associées à une dégradation musculaire sous l'effet de facteurs déclenchants tels que les anesthésiques volatils, l'exercice physique et une température environnementale élevée. Afin d'identifier de nouvelles variantes génétiques qui prédisposent à l'EHI et/ou à l'HM, nous avons effectué un séquençage génomique sur une cohorte présentant un EHI/MH et/ou un test de contracture anormal à la caféine et à l'halothane. Chez cinq individus, nous avons identifié des variants hétérozygotes rares et pathogènes dans l'ASPH, un gène codant pour la junctine, un régulateur du couplage excitation-contraction. Nous avons validé la pathogénicité de ces variants en utilisant des modèles précliniques orthogonaux, des myotubes C2C12 modifiés par CRISPR et des poissons zèbres transgéniques. Au total, nous démontrons que les variants ASPH représentent une nouvelle cause de susceptibilité à l'EHI et à l'HM. Ce schéma résume les positions **des quatre variantes de la junctine** sont indiquées dans les structures des domaines protéiques de la junctine. Les sites de liaison pour RyR1 sont également représentés.

En conclusion

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

- A) **La Junctine** 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 : ASPARTATE BETA-HYDROXYLASE; [ASPH](#) (En fait la Junctine est aussi connue comme une « **calsequestrin-binding protein** » courte)

Pathologies associées: FACIAL DYSMORPHISM, LENS DISLOCATION, ANTERIOR SEGMENT ABNORMALITIES, AND SPONTANEOUS FILTERING BLEBS; [FDLAB](#)

** Voir également le rôle de la Junctine dans [les atteintes cardiaques](#).