

# NEURABINE

## INTRODUCTION

**En 1997**, une nouvelle protéine est décrite dans cette analyse et l'on parle de la Neurabine. [C'est une nouvelle protéine de liaison aux filaments d'actine spécifique des tissus neuronaux qui semble impliquée dans la formation des neurites](#) Il a ainsi été purifié à partir de cerveaux de rats une nouvelle protéine de liaison aux filaments d'actine (F-actine) d'environ 180 kD (p180), qui était spécifiquement exprimée dans les tissus neuronaux. Elle fut nommée p180 puis baptisée Neurabine (**neural** tissue-specific F-actin- **binding** protein). Il a en outre été cloné l'ADNc de la neurabine à partir d'une bibliothèque d'ADNc de cerveau de rat et caractérisé les protéines natives et recombinantes. La neurabine était une protéine de 1 095 acides aminés avec une masse moléculaire calculée de 122 729 daltons. La Neurabine possédait un domaine de liaison à la F-actine dans la région NH<sub>2</sub>-terminale, un domaine de type PSD-95, DlgA, ZO-1 dans la région médiane, un domaine connu pour interagir avec des protéines transmembranaires, et des domaines prédits pour former des structures enroulées en bobine dans la région COOH-terminale. La Neurabine se lie le long des côtés de la F-actine et a montré une activité de réticulation de la F-actine. Une analyse microscopique par immunofluorescence a révélé que la neurabine était fortement concentrée dans la synapse des neurones développés. **La Neurabine était également concentrée dans les lamellipodes du cône de croissance pendant le développement des neurones.** De plus, une étude sur la suppression de la neurabine endogène dans des cultures primaires de neurones hippocampiques de rat par traitement avec un oligonucléotide antisens a montré que la neurabine était impliquée dans la formation des neurites. La Neurabine est un candidat pour les molécules clés dans la formation et la fonction des synapses.

**La même année** une autre [protéine baptisée Spinophiline se trouve également être une nouvelle protéine de liaison à la protéine phosphatase 1 localisée aux épines dendritiques](#). Les épines dendritiques reçoivent la grande majorité des contacts synaptiques excitateurs dans le cerveau des mammifères et on suppose qu'elles contiennent des mécanismes pour l'intégration de diverses voies de transduction du signal. La protéine phosphatase 1 (PP1) est fortement enrichie dans les épines dendritiques et a été impliquée dans la régulation des conductances ioniques et la plasticité synaptique à long terme. Le mécanisme moléculaire par lequel la PP1 est localisée dans les épines est inconnu. Il a maintenant été caractérisé cette nouvelle protéine qui forme un complexe avec la sous-unité catalytique de PP1 et qui est un modulateur puissant de l'activité enzymatique de PP1 in vitro. Dans le cerveau, cette protéine présente une localisation remarquablement distincte aux têtes des épines dendritiques et a donc été nommée spinophiline. **La spinophiline a les propriétés attendues d'une protéine d'échafaudage localisée à la membrane cellulaire et contient une seule séquence consensus en PSD95/DLG/zo-1, ce qui implique la réticulation de la PP1 à des complexes protéiques transmembranaires.** Il est alors proposé que la spinophiline représente une nouvelle sous-unité de ciblage pour la PP1, qui dirige l'enzyme vers les substrats dans le compartiment de l'épine dendritique, par exemple, les récepteurs de neurotransmetteurs, qui médient la régulation de la fonction synaptique par la PP1.

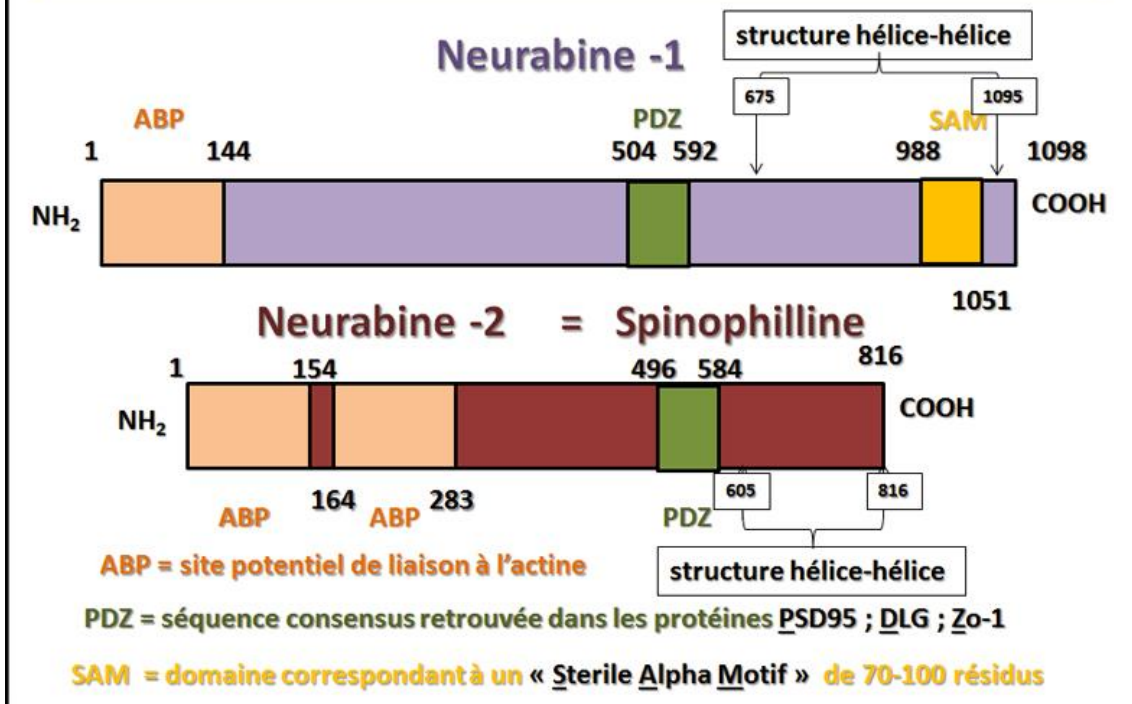
**En 1998**, dans cette étude il est finalement fait [un rapprochement entre Neurabine-II et Spinophiline](#). Protéines de liaison aux filaments d'actine avec un domaine pdz localisé aux sites d'adhésion cellulaire à base de cadhérine. La neurabine originale, renommée neurabine-I, avait 1095 acides aminés et un Mr calculé de 122 729, alors que la neurabine-II avait 817 acides aminés et un Mr calculé de 89 642. La neurabine-I et la neurabine-II possédaient toutes deux un domaine de liaison à la F-actine dans la région N-terminale, un domaine PDZ dans la région médiane, un domaine connu pour interagir avec les protéines transmembranaires, et des domaines prédits pour former des structures en spirale dans la région C-terminale. **Les neurabines-I et -II se sont toutes deux liées aux côtés de la F-actine et ont montré une activité de réticulation de la F-actine.** Avec ces résultats il est possible désormais d'établir le tableau des séquences en relation avec les séquences humaines des Neurabines comparées à celle de la Spinophiline.

### Tableau récapitulatif des différentes séquences des Neurabines / Spinophiline

Protéine	PM	Locus gène	Distribution
PPPR9A Neurabine-1	123 kDa	7p11.23	Muscles et non Musculaire
PPPR9B Neurabine-2 Spinophiline	89kDa	17q21.33	Muscle cardiaque

L'analyse de la distribution subcellulaire a indiqué que la neurabine-II était enrichie dans la fraction de densité postsynaptique du cerveau de rat et dans la fraction de jonction d'adhérence du foie de rat. L'analyse microscopique par immunofluorescence a révélé que la neurabine-II était fortement concentrée au niveau de la synapse dans les neurones hippocampiques de rat en culture primaire et au niveau des sites d'adhésion cellulaire à base de cadhérine dans les cellules rénales canines Madin-Darby. **La neurabine-II s'est avérée être la même qu'une protéine de liaison à la phosphatase 1 récemment signalée, appelée Spinophiline.** Ces résultats suggèrent que la neurabine-II/spinophiline joue un rôle important dans la liaison du cytosquelette d'actine à la membrane plasmique. Avec ces résultats il est possible désormais d'établir le tableau des séquences en relation avec les Neurabines et la Spinophiline (versions humaine). Une comparaison des portrait –robot est alors possible comme schématisé ci-contre

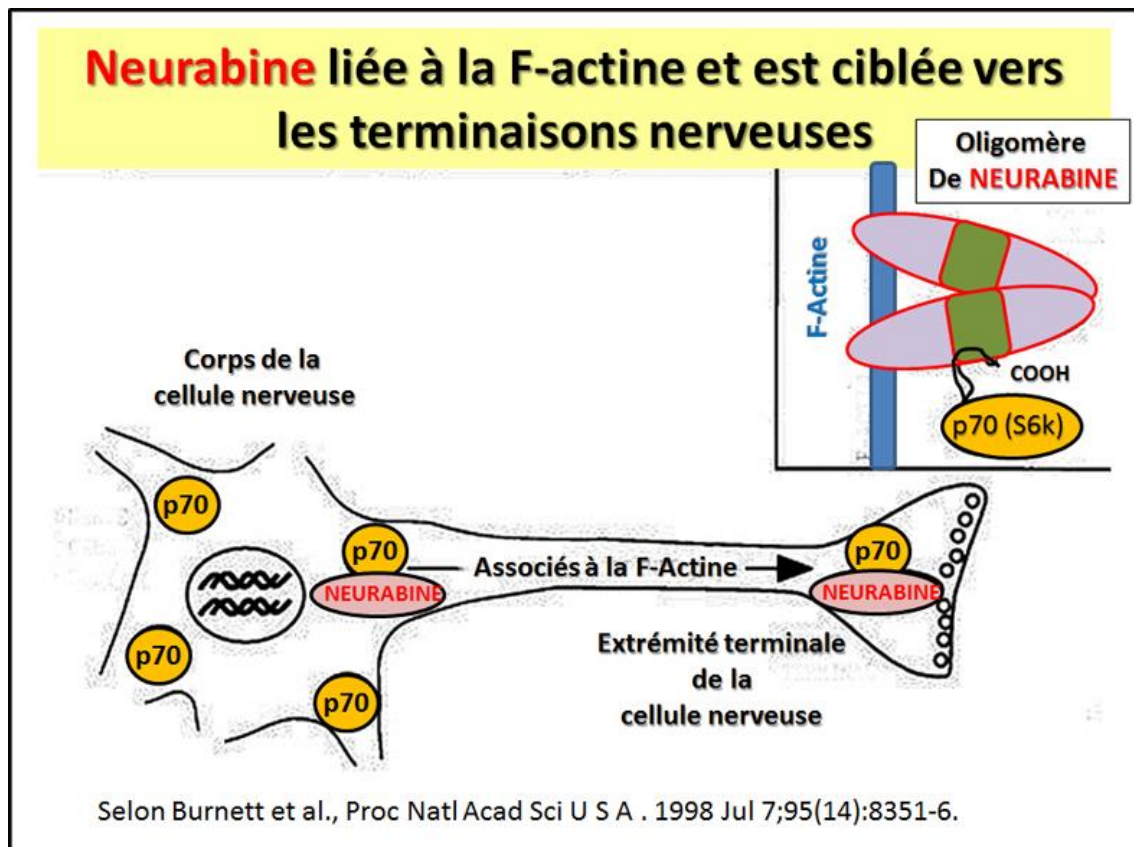
## Portrait-robot des Neurabines / Spinophiline



Puis, une étude détaillée permet de mieux identifier [l'interaction de la protéine line-10 du rat avec la protéine de liaison à la F-actine enrichie du cerveau, la neurabine-II/spinophiline](#). Il a été récemment isolé un homologue de rat du produit lin-10 de *Caenorhabditis elegans*. Bien que la protéine line-10 de rat soit exprimé dans le cytosol et les fractions membranaires de divers tissus, il n'est distribué que dans la fraction membranaire du cerveau où il est enrichi dans la membrane plasmique synaptique et les fractions de densité postsynaptique. Il a été isolé ici une protéine interagissant avec la line-10 du cerveau de rat et l'avons identifiée comme étant la neurabine-II/spinophiline, qui a récemment été isolée comme une protéine interagissant avec la protéine phosphatase I et la F-actine. **La neurabine-II/spinophiline est exprimée de manière ubiquitaire mais enrichie dans le cerveau, en particulier dans la membrane plasmique synaptique et les fractions de densité postsynaptique.** Nous discutons de la signification physiologique de l'interaction du lin-10 de rat avec la neurabine-II/spinophiline.

Par ailleurs il est bien confirmé que la [Neurabine est une protéine synaptique reliant la p70 S6 kinase et le cytosquelette neuronal](#). Il est ainsi rapporté dans ce travail l'identification de la neurabine (protéine de liaison à la F-actine spécifique des tissus neuronaux), une protéine enrichie en neurones de 1095 acides aminés qui contient un domaine PDZ et se lie à p70(S6k). Il a ainsi été démontré une interaction neurabin-p70(S6k) par une analyse bi-hybride de levure et des techniques biochimiques. p70(S6k) et neurabine co-immunoprécipitent à partir de cellules HEK293 transfectées. La mutagenèse dirigée de neurabine implique son domaine PDZ dans l'interaction avec p70(S6k), et la délétion des cinq acides aminés carboxyl-terminaux de p70(S6k) abroge l'interaction. La cotransfection de

neurabine dans les cellules HEK293 active l'activité kinase de p70(S6k). Les ARNm de la neurabine et de p70(S6k) montrent une colocalisation frappante dans les coupes de cerveau par hybridation in situ. Le fractionnement subcellulaire du cerveau de rat démontre que la neurabine et la p70(S6k) se localisent toutes deux dans la fraction soluble des synaptosomes. Par l'intermédiaire de son domaine PDZ, la neurabine, spécifique des neurones, peut cibler p70(S6k) vers les terminaisons nerveuses. Un schéma montre le modèle de régulation et de ciblage de p70S6k par la neurabine. Dans les corps cellulaires nerveux, la neurabine se lie à la p70S6k cytosolique. Par la suite, **la neurabine se lie à la F-actine et est ciblée vers les terminaisons nerveuses**. L'activité kinase de p70S6k est augmentée par son interaction avec la neurabine, mais sa fonction au niveau de la synapse est inconnue. L'activité de la kinase peut être régulée en réponse à des stimuli mitogènes ou éventuellement à l'activité neuronale. (Encart) **Les oligomères de neurabine se lient à l'extrémité C de p70S6k par l'intermédiaire d'un seul domaine PDZ et se lient à la F-actine par l'intermédiaire d'une région unique de liaison à l'actine N-terminale**. L'oligomérisation est potentiellement médiée par la structure coiled-coiled à l'extrémité C de la neurabine.



En 1999, cette étude porte sur le [comportement différent de la protéine baptisée Afadine-1 et de la neurabine-II pendant la formation et la destruction de la jonction adhérente cellule-cellule](#). L'association de cellules MDCK (aimablement fourni par le Dr W Birchmeier (Max-Delbruck-Center for Molecular Medicine, Berlin, Allemagne)) en cultivant ces cellules à 2 microM Ca<sup>2+</sup> a provoqué une endocytose rapide de la E-cadhérine, mais pas celle de l'Afadine-1 ou de la ZO-1. L'ajout de phorbol 12-myristate 13-acétate à ces cellules dissociées a formé une structure de type jonction serrée où ZO-1 et l'Afadine-1, mais pas la neurabine-II ou l'E-cadhérine, se sont accumulés. Nous avons en outre constaté que, dans les

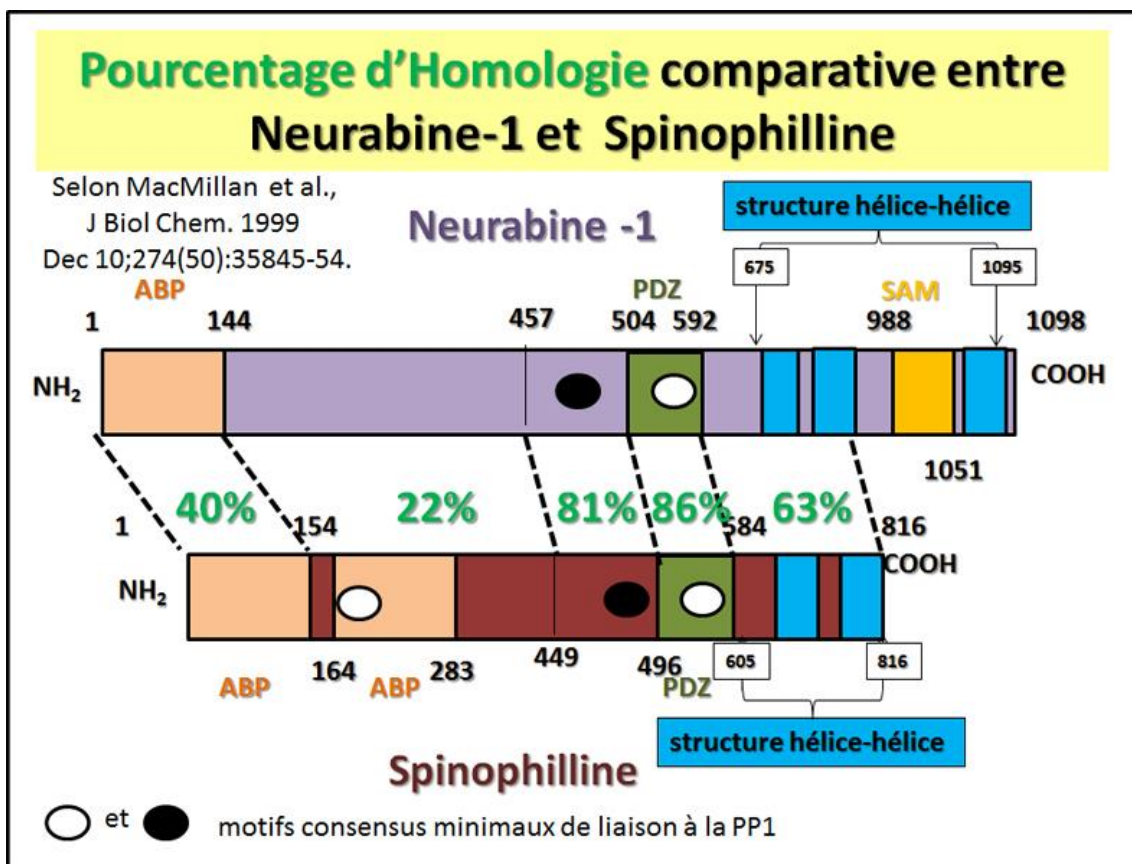
cellules EL non épithéliales, qui exprimaient la E-cadhérine et s'attachaient les unes aux autres, l'Afadine-1, la neurabine-II, ZO-1 et la E-cadhérine étaient toutes localisées à l'AJ. Dans les cellules L déficientes en cadhérine, l'Afadine-1 était principalement localisée aux sites de contact cellule-cellule, mais ZO-1 était principalement localisé à l'extrémité des processus cellulaires. **La neurabine-II ne s'est pas accumulée au niveau de la membrane plasmique.** Ni l'Afadine-1 ni la neurabine-II n'ont interagi de manière significative avec l'alpha, la bêta-caténine, l'E-cadhérine, ZO-1 ou l'Occludine.

Puis dans cette étude c'est la [caractérisation de la protéine spinophiline de ciblage neuronal et de ses interactions avec la protéine phosphatase-1](#). Une comparaison des propriétés de liaison et d'inhibition des peptides **de spinophiline** a suggéré que **des sous-domaines distincts de la spinophiline sont responsables de la liaison et de la modulation de l'activité de PP1**. Une analyse mutationnelle du sous-domaine modulateur a révélé que la spinophiline interagit avec la PP1 par un mécanisme différent de ceux utilisés par les inhibiteurs cytosoliques DARPP-32 (phosphoprotéine régulée par la dopamine et l'AMPC, Mr 32 000) et l'inhibiteur-1. Enfin, **la caractérisation des interactions entre la spinophiline et la PP1 a facilité la conception d'antagonistes peptidiques capables de perturber les interactions spinophiline-PP1**. Ces études soutiennent l'idée que la spinophiline fonctionne in vivo comme une sous-unité de ciblage de la PP1 neuronale en dirigeant l'enzyme vers les densités postsynaptiques et en régulant son activité vers les substrats physiologiques.

Puis dans cette étude il est rapporté une association de [la troisième boucle cytoplasmique du récepteur D2 de la dopamine avec la spinophiline, une protéine interagissant avec la phosphatase-1](#). La partie de la spinophiline responsable de l'interaction avec la troisième boucle cytoplasmique de D2 a été réduite à une région qui n'inclut pas le domaine de liaison à l'actine, le domaine PDZ ou le coiled-coil. Cette région est distincte du site d'interaction avec la protéine phosphatase-1, et les récepteurs D2 et la protéine phosphatase-1 peuvent lier la spinophiline en même temps. L'interaction n'est pas médiée par l'insert unique de 29 acides aminés dans D2long ; les troisièmes boucles cytoplasmiques de D2long et D2short interagissent avec la spinophiline in vitro et dans les essais de levure à deux hybrides. L'expression de récepteurs D2 contenant un épitope d'hémagglutinine extracellulaire dans des cellules rénales canines Madin-Darby entraîne la co-localisation du récepteur et de la spinophiline endogène, **comme le montre l'immunocytochimie utilisant des anticorps dirigés contre la spinophiline et l'étiquette HA** (= région du lien (YPYDVDPDYALV) introduit entre Asp2 et Pro3 dans la séquence de la protéine D2S). Il est alors supposé que la spinophiline est importante pour établir un complexe de signalisation pour la neurotransmission dopaminergique par les récepteurs D2 en reliant les récepteurs aux molécules de signalisation en aval et au cytosquelette d'actine.

Par ailleurs il y a la découverte dans cette analyse [des holoenzymes de la protéine phosphatase 1 associée à l'actine cérébrale contenant la spinophiline, la neurabine et certaines isoformes de la sous-unité catalytique](#). La spinophiline recombinante et la neurabine interagissent avec la PP1 endogène et également entre elles lorsqu'elles sont co-exprimées dans des cellules HEK293. Les résidus 427-470 de la spinophiline, ou les résidus 436-479 de la neurabine homologue, étaient suffisants pour lier la PP1 dans les essais de superposition de gel, et liaient sélectivement la PP1gamma d'un mélange de sous-unités catalytiques de la protéine phosphatase du cerveau ; des séquences N- et C-terminales supplémentaires étaient nécessaires pour une inhibition puissante de la PP1. L'immunoprécipitation de la spinophiline ou de la neurabine à partir d'extraits bruts de cerveau a coprécipité sélectivement PP1gamma

par rapport à PP1beta. De plus, l'immunoprécipitation de PP1gamma à partir d'extraits de cerveau a coprécipité efficacement la spinophiline et la neurabine, alors que l'immunoprécipitation de PP1beta ne l'a pas fait. Ainsi, les holoenzymes PP1(A) contenant la spinophiline et/ou la neurabine ciblent des isoformes PP1 neuronales spécifiques, facilitant une régulation efficace des phosphoprotéines synaptiques. Ce schéma montre les séquences d'acides aminés de PP1bp134 identifiant la spinophiline et la neurabine. Trois fragments peptidiques de PP1bp134 dérivés de l'endo-Lys-C (pep 25, pep 20 et pep 24) ont été soumis au séquençage des acides aminés (voir "Procédures expérimentales" dans l'article en référence), ce qui a permis d'obtenir un total de 50 attributions d'acides aminés définitives à partir de 52 cycles, y compris les lysines déduites au début de chaque peptide (entre parenthèses). Un schéma présenté ci-contre permet de visualiser l'analyse BLAST qui a révélé que ces séquences étaient identiques à la spinophiline et avaient une similarité avec la neurabine (identité 42/50). **Les cartes des domaines de la spinophiline et de la neurabine sont présentées avec les identités des acides aminés entre les domaines indiqués.** Les cercles (3 dans la spinophiline, 2 dans la neurabine) indiquent les motifs consensus minimaux de liaison à la PP1, tels qu'identifiés par le criblage d'une bibliothèque aléatoire de peptides. Le cercle noir indique le motif de liaison à PP1 fonctionnellement actif (identifié dans les figures suivantes), dans un cadre gris clair indiquant une région plus large de haute homologie.



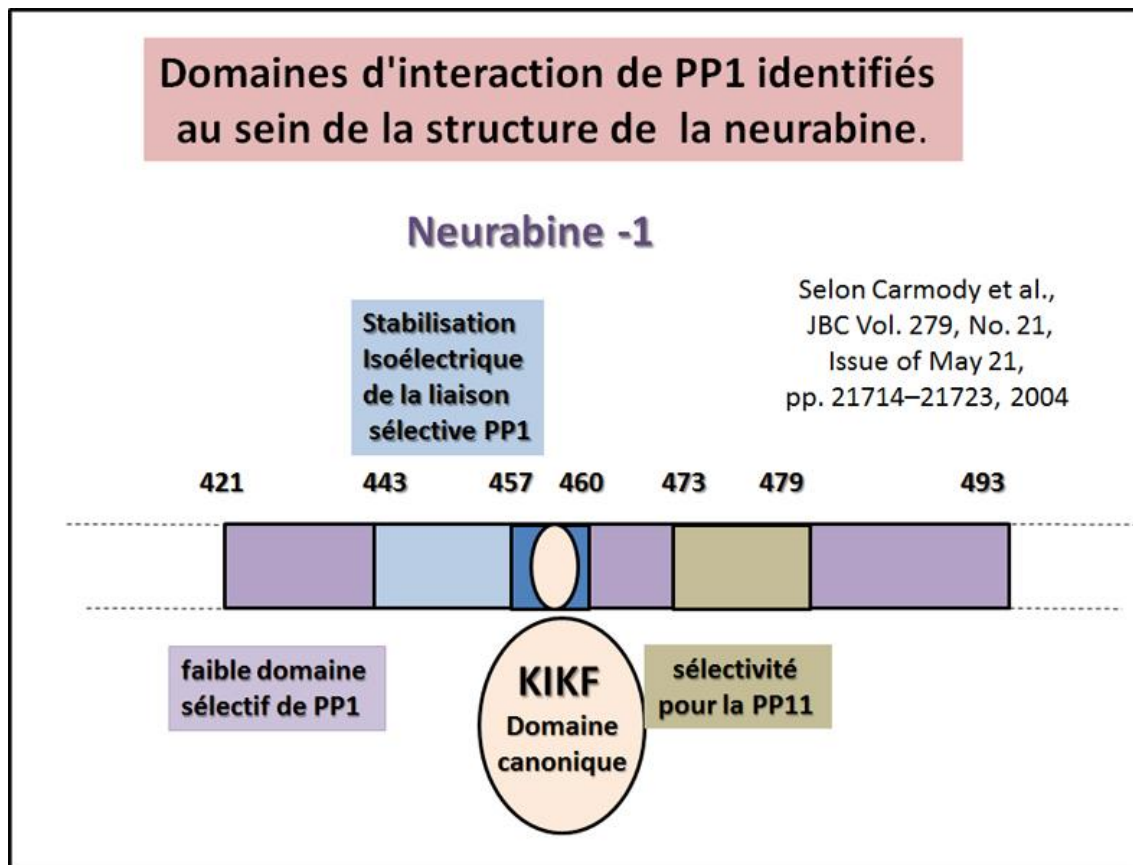
En 2000, cette étude porte sur la spinophiline qui est [susceptible de réguler la formation et la fonction des épines dendritiques](#) [La spinophiline, une protéine qui interagit avec l'actine et la protéine phosphatase-1, est fortement enrichie dans les épines dendritiques.](#) Ici, grâce à

l'utilisation de souris knockout pour la spinophiline, il est ainsi apporté la preuve que la spinophiline module à la fois la transmission synaptique glutamatergique et la morphologie dendritique. La capacité de la protéine phosphatase-1 à réguler l'activité des récepteurs de l'acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) et du N-méthyl-D-aspartate (NMDA) était réduite chez les souris knock-out à la spinophiline. Conformément à l'altération de la transmission glutamatergique, les souris déficientes en spinophiline présentaient une dépression à long terme réduite et une résistance aux crises induites par le kaïnate et à l'apoptose neuronale. En outre, la délétion du gène de la spinophiline a entraîné une augmentation marquée de la densité des épines pendant le développement in vivo ainsi qu'une altération de la formation des filopodes dans les neurones en culture. En conclusion, **la spinophiline semble être requise pour la régulation des propriétés des épines dendritiques.**

**En 2003**, cette étude rapporte une analyse [des interactions spécifiques des isoformes natives de la protéine phosphatase 1 avec les sous-unités de ciblage](#). Ainsi, la spinophiline et la neurabine se lient sélectivement à la PP1 gamma 1 par rapport à la PP1 bêta, tandis que la GM (GM=est une sous-unité de ciblage qui localise PP1 aux particules de glycogène) et la membrane du réticulum sarcoplasmique dans les muscles. est hautement sélective pour la PP1 bêta. Ces données sont cohérentes avec **les expériences précédentes qui ont montré que la spinophiline et la neurabine sont présentes dans les complexes PP1 gamma 1** dans les extraits de cerveau, mais pas dans les complexes PP1 beta. De plus, seule PP1 bêta a été identifiée dans des complexes avec GM dans des extraits musculaires, bien que ces données n'excluent pas la possibilité que d'autres isoformes soient également présentes. On peut supposer que ces interactions sélectives entre isoformes confèrent des fonctions différentes à PP1. En résumé, il a été développé des méthodes qui devraient s'avérer utiles pour définir la sélectivité des isoformes d'autres sous-unités ciblant PP1. De plus, ces méthodes peuvent être utilisées pour identifier les domaines des protéines interagissant avec PP1 qui confèrent une spécificité isoforme. Des stratégies similaires peuvent également être utilisées pour explorer les interactions des sous-unités catalytiques des protéines phosphatases avec d'autres protéines.

En 2004, il est montré [l'existence d'un déterminant de la sélectivité de l'isoforme de la protéine phosphatase-1 gamma 1 au sein de la neurabine associée à l'épine dendritique](#). La délétion de Pro(464) et Ile(465) dans la neurabine (deltaPI) pour espacer également un groupe d'acides aminés conservés du motif (R/K)(V/I)XF comme dans G(M)/R(GL) a gravement compromis la capacité de la neurabine à se lier et à inhiber les deux isoformes, mais n'a pas affecté la sélectivité de PP1 gamma 1. Une analyse plus poussée d'une série de protéines GST-Nb-(146-493) tronquées au niveau du C-terminal a identifié les résidus 473-479 de la neurabine comme contenant un déterminant crucial de la sélectivité de PP1 gamma 1. En combinaison, ces données identifient un nouveau domaine d'interaction PP1 gamma 1-sélectif dans la neurabine qui peut permettre une régulation sélective et/ou un ciblage subcellulaire des isoformes PP1. Le schéma présenté ci-contre montre un modèle de travail des **domaines d'interaction de PP1 identifiés dans la neurabine**. Les résidus 421-493 de la neurabine

contiennent plusieurs domaines qui ont été impliqués dans la liaison aux isoformes de PP1. Le domaine canonique (R/K)(V/I)XF (résidus 457-460 ; indiqués par un ovale) ancre la PP1 aux protéines de liaison de la PP1. Les résidus 421-443 ont été précédemment impliqués comme un faible domaine sélectif de PP1. Les données actuelles suggèrent trois interactions indépendantes C-terminal au motif (R/K)(V/I)XF. Les résidus 460-473 réalisent des interactions qui augmentent la puissance de l'inhibition dans un mode d'action isoélectrique. La puissance de l'inhibition d'une manière indépendante de l'isoforme mais stabilisent la liaison sélective PP1. Les résidus 480-493 semblent augmenter l'étendue maximale de l'inhibition de PP1 d'une manière indépendante de l'isoforme, sans affecter de manière significative la puissance des interactions. Résidus 474-479 (boite noire) semblent réaliser une nouvelle interaction qui confère une sélectivité de la PP11 aux constructions neurabines, récapitulant la sélectivité de l'isoforme observée dans les extraits de tissus. Cependant, la pleine puissance des neurabine avec les isoformes PP1 nécessite la présence de séquences neurabine séquences neurabines des deux côtés du motif (R/K)(V/I)XF.



Cette étude rapporte l'existence d'une [empreinte génomique de PPP1R9A codant pour la neurabine I dans le muscle squelettique et les tissus extra-embryonnaires](#). Ces résultats suggèrent que PPP1R9A n'est pas spécifique aux neurones comme cela a été montré précédemment, mais qu'il est plutôt important pour le développement précoce de multiples tissus, certains étant influencés par le statut d'empreinte. **Le contrôle du dosage de la**

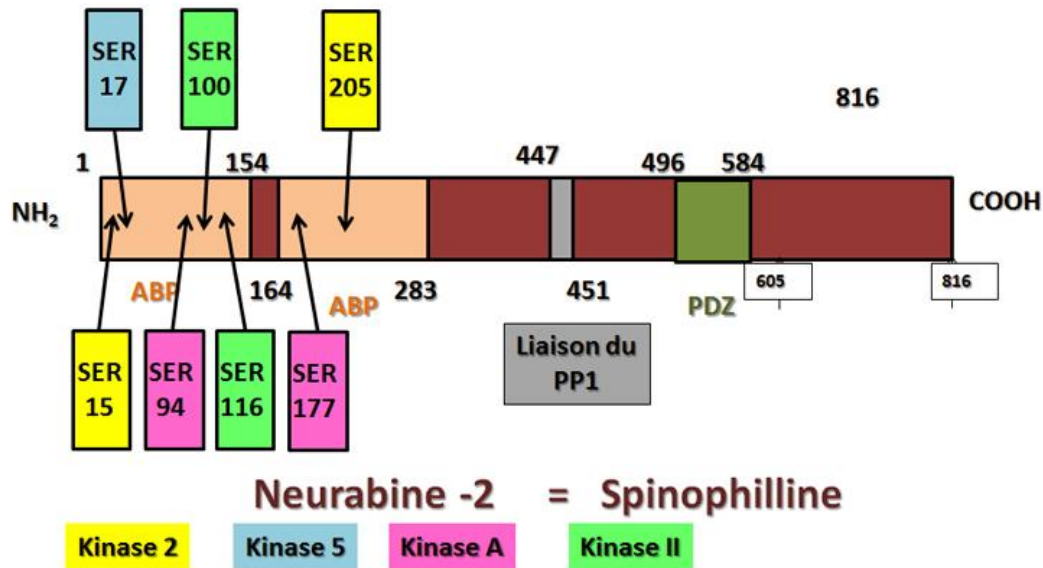


**neurabine I par des mécanismes d'empreinte peut être nécessaire pour une différenciation correcte des muscles squelettiques**, qui nécessite une réorganisation du cytosquelette d'actine.

**En 2005**, il est rapporté dans ce travail la possibilité d'une [phosphorylation de la spinophiline par ERK et la PK 5 dépendante de la cycline \(Cdk5\)](#). La spinophiline est une protéine qui se lie à la protéine phosphatase-1 et à l'actine et module la transmission synaptique excitatrice et la morphologie des épines dendritiques. Il a été identifié trois sites phosphorylés par ERK2 (Ser-15 et Ser-205) et la PK 5 cycline-dépendante (Cdk5) (Ser-17), dans le domaine de liaison à l'actine de la spinophiline. Cdk5 et ERK2 ont tous deux phosphorylé la spinophiline dans des cellules intactes. Cependant, in vitro, la phosphorylation par ERK2, mais pas par Cdk5, a pu moduler la capacité de la spinophiline à se lier aux filaments d'actine et à les regrouper. Dans les neurones et les cellules HEK293 exprimant des variantes de spinophiline marquées GFP, des études d'imagerie ont démontré que **l'introduction d'un mimétique de site phosphorylé (Ser-15 au glutamate) était associée à une augmentation de la densité des filopodes**. Ces résultats soutiennent un rôle de la phosphorylation de la spinophiline par ERK2 dans la régulation de la morphogénèse des épines.

**En 2006**, plus précisément dans cette étude on [dispose des sites de phosphorylation de la spinophiline par ERK et la PK 5 dépendante de la cycline \(Cdk5\)](#). En fait, la structure de la spinophiline suggère que la protéine est un échafaudage protéique multifonctionnel qui régule à la fois les fonctions membranaires et cytosquelettiques. La spinophiline joue des fonctions importantes dans le système nerveux où elle est impliquée dans la régulation de la morphologie et de la densité des épines, la plasticité synaptique et la migration neuronale. La spinophiline régule également la signalisation des récepteurs à sept transmembranes et pourrait constituer un lien entre certains de ces récepteurs et les événements de signalisation mitogénique intracellulaire dépendant de la kinase p70 et de la protéine G-GEF Rac. De manière frappante, un rôle de la spinophiline dans la croissance cellulaire a été démontré et cet effet a été renforcé par son interaction avec ARF. Nous passons ici en revue les connaissances actuelles sur les partenaires protéiques de la spinophiline et présentons les données disponibles qui contribuent à l'appréciation des fonctions de la spinophiline. Un modèle décrivant la régulation du remodelage de la colonne vertébrale. À l'état de repos, le Rho-GEF Lfc est situé dans l'axe dendritique du neurone où il interagit avec les microtubules. La spinophiline est associée à la F-actine dans les épines. Lors de l'activation d'une transmission synaptique excitatrice (impliquant le récepteur de glutamate de type NMDA dans Rho-GEF Lfc se transloque vers les épines où il forme un hétérocomplexe avec la spinophiline (ou neurabine 1) et Rho-GTP. L'activation de Rho induit un changement de forme de la F-actine et un remodelage des épines. **La représentation schématique de la structure des domaines de la spinophiline complète est ainsi proposée**. Le schéma montre que le domaine de liaison à la protéine phosphatase 1 est situé dans les acides aminés 447 et 451 (R/K-R/K-V/I-X-F). Les principaux motifs de phosphorylation potentiels sont Ser-15 et Ser-205 (protéine kinase 2 régulée par le signal extracellulaire), Ser-17 (kinase 5 dépendante de la cycline), Ser-94 et Ser-177 (protéine kinase A), Ser-100 et Ser-116 (protéine kinase II dépendante de Ca<sup>2+</sup>/calmoduline).

## Sites de phosphorylation de la spinophiline par ERK et la PK 5 dépendante de la cycline (Cdk5).



Selon Sarrouilhe t al., Biochimie. 2006 Sep;88(9):1099-113.

Il apparaît dans cette investigation qu'il existe une [modulation adrénergique des récepteurs NMDA dans le cortex préfrontal est régulée de manière différentielle par les protéines RGS et la spinophiline](#). L'effet de l'alpha1-AR dépendait de la voie phospholipase C-inositol 1,4,5-trisphosphate-Ca(2+), tandis que l'effet de l'alpha2-AR dépendait de la protéine kinase A et du transport microtubulaire des NMDARs qui est régulé par la signalisation ERK. En outre, on a constaté que deux membres de la famille RGS, RGS2 et RGS4, régulaient à la baisse l'effet de l'alpha1-AR sur les courants NMDAR, tandis que seul RGS4 était impliqué dans l'inhibition de la régulation des courants NMDAR par l'alpha2-AR. Les effets régulateurs de RGS2/4 sur la signalisation des alpha1-AR ont disparu chez les souris mutantes dépourvues de spinophiline, qui lie plusieurs membres de RGS et récepteurs couplés aux protéines G, alors que l'effet de RGS4 sur la signalisation des alpha2-AR n'a pas été modifié chez les souris dépourvues de spinophiline. Ces travaux suggèrent que l'activation des alpha1-AR ou des alpha2-AR supprime les courants NMDAR dans les neurones du PFC par des mécanismes distincts. **L'effet des alpha1-ARs est modifié par RGS2/4 qui sont recrutés au complexe récepteur par la spinophiline**, tandis que l'effet des alpha2-ARs est modifié par RGS4 indépendamment de la spinophiline.

En 2007, dans cette étude il est mieux [réalisé la caractérisation structurelle du domaine du motif alpha stérile SAM\) de la neurabine](#). Dans la présente étude, il a été déterminé la structure du domaine SAM de la neurabine par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) à l'état de solution. Notamment, ces résultats montrent que le domaine SAM

de shank3 est le voisin structurel le plus proche du domaine SAM de la neurabine. Il a également été examiné l'état de polymérisation du **domaine SAM de la neurabine et été constaté, contrairement au domaine SAM shank3, qu'il est seulement sous forme d'un monomère.**

**En 2011**, il apparaît bien selon cette analyse que [la spinophiline est nécessaire à la morphologie normale, à l'homéostasie du Ca\(2+\) et à la contraction, mais dispensable de la stimulation bêta-adrénergique des cardiomyocytes adultes.](#) La spinophiline (SPN) est une protéine d'échafaudage exprimée de manière ubiquitaire qui interagit par le biais de plusieurs modules de liaison avec une variété de protéines cibles. Ainsi, la SPN lie la F-actine, cible la protéine phosphatase 1 au récepteur de la ryanodine, et cible les régulateurs de la signalisation des protéines G aux récepteurs couplés aux protéines G dans les cardiomyocytes. Dans ce travail, il a été étudié le rôle de SPN sur la morphologie, la fonction et la réactivité  $\beta$ -adrénergique des cardiomyocytes en utilisant un modèle de souris homozygote SPN knock-out (SPN<sup>-/-</sup>). Il y est démontré que la déficience en spinophiline réduit significativement (1) la longueur des cardiomyocytes, (2) augmente à la fois l'amplitude du Ca(2+) et la vitesse maximale de montée du Ca(2+) pendant la systole, et (3) diminue l'amplitude du raccourcissement et la vitesse maximale de raccourcissement, alors que (4) la stimulation  $\beta$ -adrénergique reste intacte. **Ces données suggèrent que la spinophiline est un régulateur en amont nécessaire à la croissance normale et au couplage excitation-contraction, mais qu'elle est dispensable pour la stimulation  $\beta$ -adrénergique des cardiomyocytes adultes.**

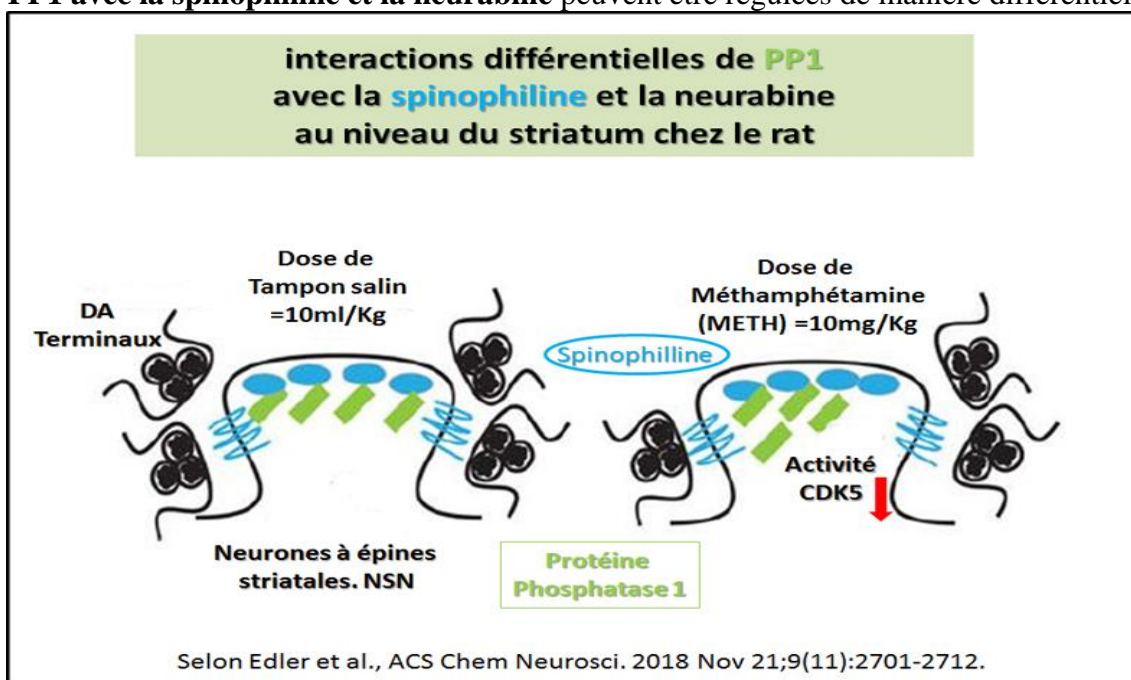
**En 2012**, cette nouvelle investigation porte plus précisément sur [la Spinophiline en tant que un nouveau suppresseur de tumeur à 17q21.](#) En effet, la perte combinée de la spinophiline (Spn) et de l'activité de p53 mutant a conduit à une augmentation des carcinomes mammaires, confirmant la relation fonctionnelle entre p53 et Spn. Dans les tumeurs humaines, Spn est absent dans 20% et réduit dans 37% des tumeurs pulmonaires humaines. La réduction de Spn est corrélée au grade de malignité et aux mutations de p53. De plus, l'ARNm de Spn est perdu dans un pourcentage de carcinomes rénaux et d'adénocarcinomes pulmonaires. Enfin, des niveaux plus faibles d'ARNm de Spn sont corrélés avec un grade plus élevé de carcinome ovarien et de leucémie myélogène chronique. Par conséquent, **la spinophiline pourrait être le gène suppresseur de tumeur situé en 17q21.33** et que sa fonction de suppression de tumeur dépend de l'absence de p53.

Cette nouvelle étude porte sur [la Neurabine comme un possible facteur clé dans la neuroprotection spécifique médiée par l'Adénosine.](#) Les possibles futures directions de recherche montrent qu'il sera intéressant de trouver de nouveaux composés capables de supprimer l'activité fonctionnelle des neurabines. En connaissant la structure du gène de la neurabine, il devrait être possible de concevoir de nouvelles entités moléculaires capables de perturber ou d'empêcher la formation du complexe A1R/neurabine/RGS4. Il faut souligner, une fois de plus, que cela devrait se traduire par un effet spécifique au niveau du SNC et donc permettre d'exploiter le système adénoenergique pour des interventions thérapeutiques sélectives dans le domaine des maladies neurodégénératives, un domaine qui a un énorme besoin de nouveaux médicaments efficaces.

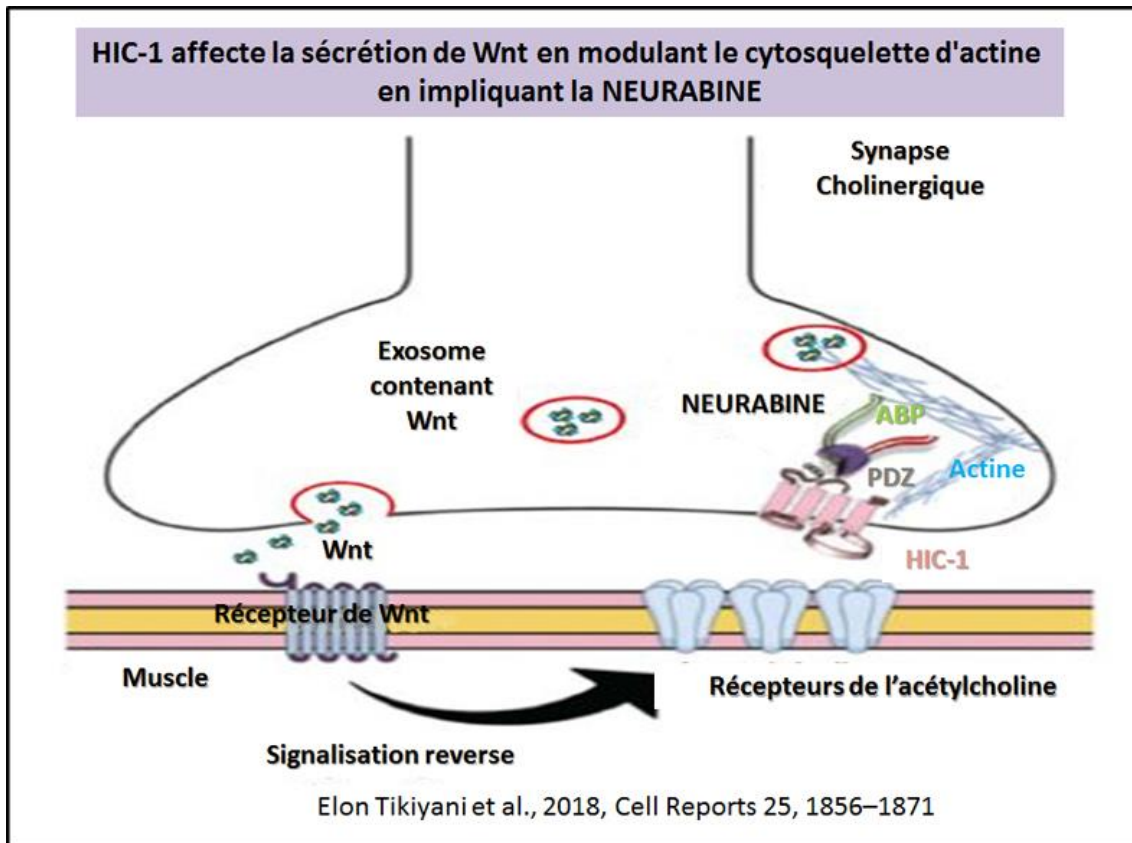
Puis la même année des informations indiquent que le [ciblage âge-dépendant de la protéine phosphatase 1 sur la protéine kinase II Ca<sup>2+</sup>/calmoduline-dépendante par la spinophiline semble être important dans le striatum de la souris.](#) En fait cette étude montre que les fragments des domaines N- et C-terminal de la spinophiline se lient davantage à la CaMKII

des lysats striataux adultes par rapport à ceux du jour 21 postnatal. Les niveaux totaux d'autres protéines qui interagissent avec les domaines C-terminaux de la spinophiline diminuent au cours de la maturation, réduisant peut-être la compétition pour la liaison du CaMKII au domaine C-terminal. En revanche, les niveaux totaux d' $\alpha$ -internexine et la liaison de l' $\alpha$ -internexine au domaine N-terminal de la spinophiline augmentent avec la maturation, pontant peut-être une interaction indirecte avec CaMKII. **De plus, on observe une augmentation des niveaux de myosine Va, d' $\alpha$ -internexine, de spinophiline et de PP1 dans les complexes immuns CaMKII striataux isolés de souris adultes et âgées par rapport à ceux du jour 21 postnatal.** Ces changements dans les interactomes spinophiline/CaMKII peuvent contribuer aux modifications de la densité, de la morphologie et de la fonction des épines dendritiques striatales au cours de la maturation postnatale normale et du vieillissement.

**En 2018**, cette analyse porte sur les [mécanismes régulant l'association de la protéine phosphatase 1 avec la spinophiline et la neurabine](#). L'expression et l'activation de CDK5 ont diminué l'association de PP1 avec la neurabine. Comme pour la déplétion en dopamine, **l'abus de méthamphétamine (METH)** provoque des altérations persistantes de la signalisation dopaminergique qui influencent la fonction et la biochimie des neurones à épines moyennes striatales. De plus, la toxicité de la méthamphétamine et la déplétion dopaminergique sont toutes deux associées à des déficits du contrôle moteur et de l'apprentissage moteur. D'un point de vue pathologique, il a été observé une diminution de l'association de la spinophiline avec la PP1 dans le striatum de rat évalué un mois après un paradigme de consommation excessive de méthamphétamine. Sur le plan comportemental, nous avons constaté que la perte de spinophiline récapitule la pathologie du rotarod précédemment observée chez les animaux privés de dopamine et traités à la méthamphétamine. Ensemble, ces données ont des implications dans de nombreux états pathologiques associés à une altération de la signalisation de la dopamine, comme la MP et l'abus de psychostimulants, et définissent un nouveau mécanisme par lequel les **interactions de PP1 avec la spinophiline et la neurabine** peuvent être régulées de manière différentielle.



Puis ce travail consiste à présenter [la sécrétion de Wnt comme étant régulée par la protéine de type tétraspane HIC-1 par le biais de son interaction avec Neurabine/NAB-1](#). La régulation aberrante de la sécrétion de Wnt est impliquée dans diverses maladies neurologiques. Cependant, les mécanismes de libération de Wnt sont encore largement inconnus. Il est ainsi décrit ici le rôle d'une protéine tétraspane de *C. elegans*, HIC-1, dans le maintien d'une libération normale de Wnt. Il est démontré que HIC-1 est exprimée dans les synapses cholinergiques et que les mutants de HIC-1 présentent des niveaux accrus du récepteur d'acétylcholine AChR/ACR-16. Ces résultats suggèrent que HIC-1 maintient des niveaux normaux d'AChR/ACR-16 en régulant la libération normale de Wnt par les neurones présynaptiques, car les mutants *hic-1* montrent une augmentation de Wnt sécrétée par les neurones cholinergiques. **Il est également démontré que HIC-1 affecte la sécrétion de Wnt en modulant le cytosquelette d'actine par son interaction avec la protéine de liaison à l'actine NAB-1**. En résumé, il est présenté une protéine, HIC-1, qui fonctionne comme un neuromodulateur en affectant les niveaux postsynaptiques d'AChR/ACR-16 en régulant la libération présynaptique de Wnt par les motoneurones cholinergiques. Cela démontre qu'une protéine de type tétraspane, HIC-1, maintient le cytosquelette d'actine dans les motoneurones de *C. elegans*. La perte de HIC-1 entraîne une augmentation de la sécrétion de Wnt par ces motoneurones. Ces résultats révèlent les mécanismes de la sécrétion de Wnt, qui est aberrante dans certains troubles neuroinflammatoires.



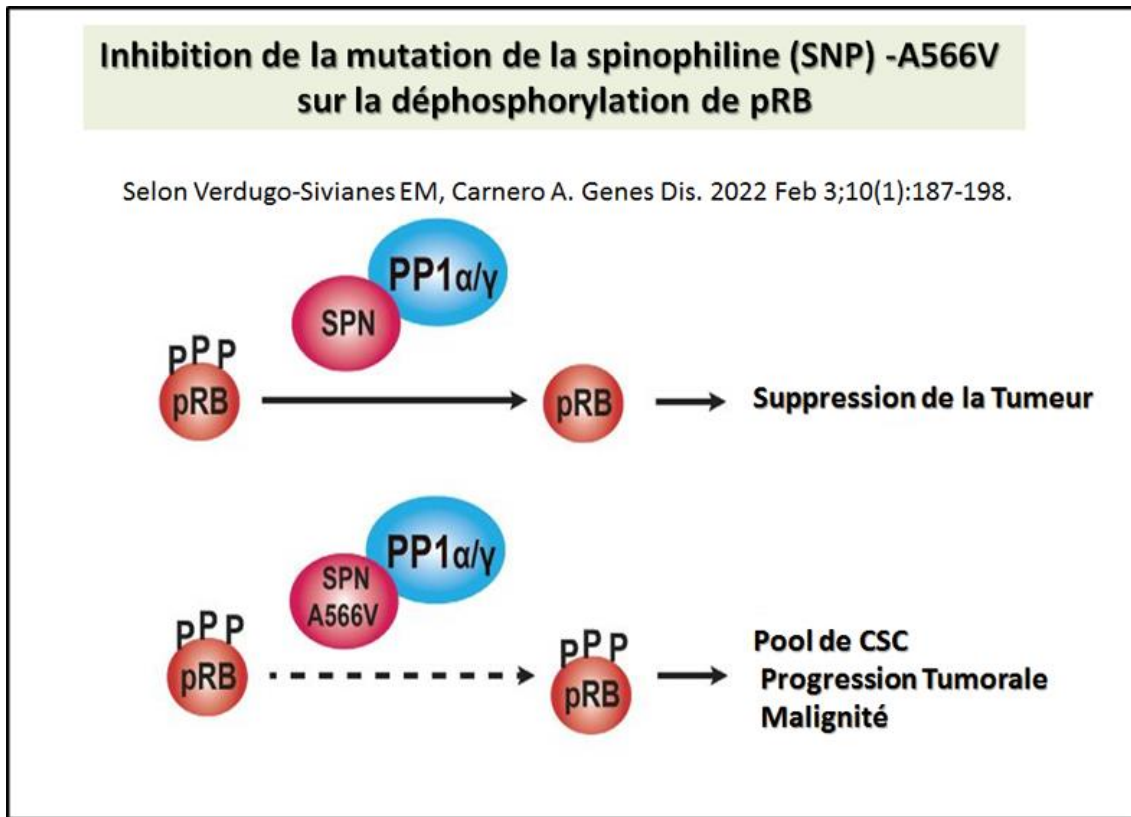
Dans ce travail il est question d'une meilleure [caractérisation de l'immunoréactivité de la spinophiline dans les homogénats de cerveau humain post-mortem](#). Ainsi, l'objectif de la présente étude était de caractériser l'expression régionale et subcellulaire de l'immunoréactivité de la spinophiline par western blot dans le cerveau humain post-mortem. Deux bandes immunoréactives spécifiques de la spinophiline ont été observées : une bande intense migrant à environ 120kDa, qui semble correspondre au poids moléculaire apparent de

la spinophiline décrit par d'autres auteurs, et une bande moins intense d'environ 95kDa. Cette deuxième forme semble être un produit de protéolyse ou de clivage de la spinophiline ~120kDa. Il est intéressant de noter que la distribution subcellulaire des deux bandes était différente. Dans la fraction membranaire, la bande de spinophiline ~120kDa était la plus abondante, alors que dans le cytosol, c'était la forme ~95kDa. En outre, une distribution régionale différente pour la bande de spinophiline ~120kDa a été observée, avec l'expression la plus élevée dans le cortex préfrontal, suivi de l'hippocampe et du cervelet, et la plus faible dans le noyau caudé. Dans l'ensemble, ces résultats constituent une référence utile pour les futures études sur la spinophiline dans les tissus cérébraux humains pathologiques et non pathologiques.

**En 2020**, cette nouvelle étude révèle que des [souris déficientes en spinophiline sont protégées contre l'obésité et la résistance à l'insuline induites par le régime alimentaire.](#) Les souris mâles SPL (=spinophiline) knockout (KO) nourries avec un régime alimentaire de type chow étaient significativement plus maigres, avaient un poids corporel inférieur et présentaient une meilleure tolérance au glucose et une meilleure sensibilité à l'insuline que les souris témoins de type sauvage (WT). Lorsqu'elles étaient soumises à un régime alimentaire riche en graisses, les souris SPL KO étaient protégées contre l'augmentation de la graisse corporelle, la prise de poids, la stéatose hépatique, l'hyperinsulinémie et la résistance à l'insuline. L'activité physique des souris SPL KO était nettement accrue par rapport aux témoins WT. De plus, l'expression du marqueur des adipocytes bruns, la protéine de découplage 1 (UCP-1), et des marqueurs de l'activité mitochondriale, cd137 et c-idea, était significativement augmentée dans la WAT viscérale (vWAT) des souris SPL KO, suggérant que le knockout de la SPL protégeait les souris de l'obésité induite par le HFD et de ses complications métaboliques, au moins en partie, en favorisant le brunissement des adipocytes blancs dans la vWAT. Nos données identifient un rôle critique de la SPL dans la régulation de l'homéostasie du glucose, de l'obésité et du brunissement des adipocytes. Ces résultats suggèrent que la SPL pourrait servir de cible médicamenteuse pour l'obésité et le diabète.

**En 2021** ce nouveau travail porte sur [la mutation de la spinophiline \(PPP1R9B\) trouvée dans les tumeurs humaines favorise les propriétés tumorigènes et la nature des cellules.](#) Les résultats présentés sont : une caractérisation dans cette étude la présence d'une mutation oncogène de la spinophiline (SPN) trouvée dans des échantillons de tumeurs humaines, **SPN-A566V**, qui affecte à la fois l'interaction SPN-PP1 et son activité phosphatase. La mutation SPN-A566V n'affecte pas l'interaction de l'holoenzyme PP1-SPN avec les protéines de poche pRB, p107 et p130, mais elle affecte sa capacité à les déphosphoryler pendant G0/G1 et G1, ce qui indique que l'holoenzyme PP1-SPN régule la progression du cycle cellulaire. **SPN-A566V a également favorisé le développement de cellules souches, établissant une connexion entre le cycle cellulaire et la biologie des cellules souches via les protéines de poche et la régulation PP1-SPN.** Cependant, seules les cellules ayant à la fois SPN-A566V et p53 mutant présentent des propriétés tumorigènes accrues. En conclusion de cette étude :

SPN-A566V, ou d'autres mutations équivalentes, pourraient être des événements tardifs qui favorisent la progression tumorale en augmentant le pool de CSC et, finalement, le comportement malin de la tumeur.



En 2022, cette nouvelle revue [présente la spinophiline comme un suppresseur de tumeur multijoueur](#). La SPINOPHILINE (SPN, PPP1R9B ou NEURABIN-2) est une protéine multifonctionnelle qui régule les interactions protéine-protéine dans différentes voies de signalisation cellulaire. SPN est également l'une des sous-unités régulatrices de la protéine phosphatase 1 (PP1), impliquée dans la déphosphorylation de la protéine du rétinoblastome (pRB) au cours du cycle cellulaire. Le gène SPN a été décrit comme un suppresseur de tumeurs dans différents contextes tumoraux humains, dans lesquels de faibles niveaux de SPN sont corrélés à un grade plus élevé et à un pronostic plus défavorable. En outre, des mutations de la protéine SPN ont été signalées dans des tumeurs humaines. Récemment, une mutation oncogène de SPN, A566V, a été décrite, qui affecte à la fois l'interaction SPN-PP1 et l'activité phosphatase de l'holoenzyme, et favorise la tumorigenèse p53-dépendante en augmentant le pool de cellules souches cancéreuses (CSC) dans les tumeurs du sein. **Ainsi, la perte ou la mutation de SPN pourraient être des événements tardifs qui favorisent la progression de la tumeur en augmentant le pool de CSC et, finalement, le comportement malin de la tumeur.** Issu de l'article en référence voir un schéma de l'inhibition de la mutation SPN-A566V sur la déphosphorylation de pRB. (voir aussi dans l'article en référence la distribution des mutations sur la structure de la spinophiline)

En 2023, il est rapporté dans cette étude [une suppression de la spinophiline qui va favoriser le brunissement des adipocytes blancs](#). Le brunissement du tissu adipeux blanc (TAE) est considéré comme une approche thérapeutique prometteuse pour induire une dépense

énergétique et contrer l'obésité et ses complications associées. La déplétion systémique de la spinophiline (SPL) augmente le métabolisme et améliore l'équilibre énergétique chez la souris. Dans cette étude, il est exploré les mécanismes de l'action de la SPL dans le brunissement des tissus adipeux. L'expression des gènes et la coloration des mitochondries ont montré que le tissu adipeux blanc viscéral (vWAT) prélevé sur des souris KO SPL présentait une expression plus élevée des gènes classiques liés au brunissement, notamment la protéine de découplage 1 (UCP1), le « Cell death inducing DFFA like effector A » (CIDEA) et le PR domain containing 16 (PRDM16), ainsi qu'un niveau plus élevé d'ADNmt par rapport au vWAT de souris de contrôle de type sauvage (WT). Lorsque l'adipogenèse a été induite dans des préadipocytes prélevés sur des souris KO et WT ex vivo en utilisant l'agoniste PPAR- $\gamma$ , la rosiglitazone (Rosi), les cellules SPL KO ont montré une augmentation de l'expression des gènes marqueurs du brunissement et de la fonction mitochondriale par rapport aux cellules des souris WT. Une augmentation de l'expression de la protéine PPAR- $\gamma$  et de la rétention du noyau dans la vWAT des souris SPL KO après le traitement par Rosi a également été observée. **L'effet de la SPL sur le brunissement de la vWAT a été confirmé in vivo lorsque des souris WT et KO ont été traitées avec Rosi.** En conséquence, les souris SPL KO ont perdu du poids, ce qui a été associé à une augmentation de l'expression des gènes responsables du brunissement dans la vWAT. En résumé, nos données démontrent le rôle critique de la SPL dans la régulation du brunissement de la graisse corporelle.

Cette étude porte sur [la spinophiline qui limite l'échafaudage du récepteur métabotropique du glutamate 5 à la densité postsynaptique et au type de cellule qui gère spécifiquement le toilettage excessif](#). La perte de spinophiline uniquement dans les MSN à voie indirecte a diminué la performance d'un nouveau répertoire moteur, mais la perte de spinophiline dans l'un ou l'autre sous-type de MSN a abrogé la plasticité striatale associée à la fonction du mGluR5 et a empêché le toilettage excessif causé par les souris knock-out SAPAP3 ou le traitement avec le modulateur allostérique positif VU0360172 spécifique du mGluR5 sans avoir d'impact sur le comportement lié à la locomotion. **Sur le plan biochimique, il est déterminé que l'interaction spinophiline-mGluR5 est en corrélation avec le comportement de toilettage et que la perte de spinophiline déplace les interactions du mGluR5 des protéines associées au radeau lipidique vers les protéines de la densité postsynaptique impliquées dans les troubles psychiatriques.** Conclusions : Ces résultats identifient la spinophiline comme une nouvelle molécule pivot de la signalisation striatale dans les MSN, dont le sous-type cellulaire est un médiateur spécifique des adaptations comportementales, fonctionnelles et moléculaires associées au dysfonctionnement moteur répétitif dans les troubles psychiatriques.

## En conclusion

Pour suivre l'évolution des connaissances sur les **protéines nommée « Spinophiline et/ou Neurabine»** il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

1. ) La PROTEIN PHOSPHATASE 1, REGULATORY SUBUNIT 9; PPP1R9 / SPINOPHILIN; SPINO / [NEURABIN II](#) avec son lot de références historiques.



2. ) la PROTEIN PHOSPHATASE 1, REGULATORY SUBUNIT 9A; PPP1R9A / [NEURABIN I](#); NRBI; NRB1 avec son lot de références historiques.

**Il n'existe pas de maladie actuellement connue** avec les protéines considérées