

SERCA

Introduction

En 1963, on commence à concrétiser des études [cytochimiques des adénosine triphosphatases dans les fibres musculaires squelettiques](#). Cette ATPase mitochondriale ne clive pas l'adénosine diphosphate ou l'adénosine monophosphate ; elle n'est pas sulfhydryl-dépendante et, en fait, est renforcée par le mercure, le p-hydroxymercuribenzoate. Elle nécessite l'ion magnésium et est stimulée par le dinitrophénol. Elle est inhibée après la fixation du formol-calcium, mais l'activité résiduelle est démontrable en prolongeant le temps d'incubation. À pH 9,4, l'ATPase est d'origine myofibrillaire et est localisée dans les bandes A. Cette activité ATPase de la myosine est sulfhydryl-dépendante. Le mercure à ce pH élevé a un double effet intéressant : il supprime l'ATPase myosine mais évoque l'activité ATPase mitochondriale. **Un troisième type d'activité ATPase peut être mis en évidence, notamment dans les grandes fibres blanches.** Cette activité se manifeste à pH 7,2 en présence de cystéine. Sa position se manifeste cytochimiquement comme un fin motif réticulaire qui entoure les myofibrilles individuelles. **La distribution suggère qu'elle peut provenir du réticulum sarcoplasmique.**

En 1966, une étude explore la [cytochimie des phosphatases du réticulum sarcoplasmique](#). Il est particulièrement étudié la localisation in situ de l'enzyme Mg-dépendante. La distribution de l'ATPase Mg-dépendante associée à une fraction microsomale du muscle psoas de lapin a été étudiée histochimiquement et sa localisation par rapport aux vésicules de la fraction et à la structure du muscle intact fixé a été déterminée. Bien que l'activité enzymatique ait été conservée après fixation dans l'hydroxyadipaldéhyde et dans le glyoxal, elle a été perdue après fixation dans le glutaraldéhyde ou après 4 heures de fixation dans le formaldéhyde. L'activité a été démontrée de façon optimale lorsque les incubations ont été effectuées à 17 degrés C, dans des milieux contenant un tampon Tris/Maléate 125 mM, pH 7,5, 5 mM d'ATP, 4 mM de MgCl₂, et 1 mM de Pb(NO₃)₂. Après de telles incubations, **l'activité était présente dans tout le réticulum sarcoplasmique, mais était absente du système T.** L'activation par Na ou K n'a pas pu être obtenue. L'activation par Na ou K n'a pas pu être démontrée histochimiquement. Cependant, les autres propriétés biochimiques de l'enzyme dans les vésicules isolées et dans le muscle intact étaient similaires en ce qui concerne la dépendance au Mg, la spécificité du substrat, l'inhibition par le Ca, le N-éthylmaléimide, le p-hydroxymercuribenzoate, et l'absence d'inhibition par l'ouabaine.

En 1968, dans cette étude il est défini l'[ensemble des mécanismes de réaction de l'ATPase Ca⁺⁺-dépendante du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique](#). En particulier l'étude

porte sur la formation intermédiaire de la protéine phosphorylée. Dans le présent travail, le complexe enzyme-phosphate stable au TCA (=obtenu par précipitation avec 5% de TCA acide trichloroacétique) a été établi comme étant un intermédiaire de la réaction, et le type de liaison du phosphate à la protéine a été étudié, et **la relation entre l'incorporation du phosphate et l'absorption de Ca^{++} par le S.R. a été mesurée.**

En 1969, une nouvelle analyse rapporte comment [l'activité adénosine triphosphatase et les activités de transport de l'ion calcium du réticulum sarcoplasmique se déroulent dans la musculature en développement.](#) Le maximum de l'activité ATPase est une caractéristique du réticulum sarcoplasmique isolé du muscle, et le moment où il se produit par rapport à la naissance est lié au degré de développement et au modèle d'activité du muscle. 4. Le pic d'activité de l'ATPase du réticulum sarcoplasmique se produit à un âge plus précoce si les animaux nouveau-nés sont soumis à un exercice plus tôt que la normale. 5. L'ATPase 'supplémentaire' associée au réticulum sarcoplasmique et la capacité à concentrer le Ca^{2+} ont augmenté de manière similaire au cours de la période de développement étudiée. 6. Il est postulé que le système de transport du Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique consiste en deux composants, à savoir l'ATPase et le système couplant cette enzyme au transport du Ca^{2+} . **Au cours du développement, l'ATPase se développe en premier et a presque atteint son activité maximale dans le muscle longissimus dorsi du lapin après 8-10 jours.** Par la suite, l'activité du système de couplage augmente rapidement, entraînant une augmentation de la capacité et de l'efficacité du transport du Ca^{2+} .

En 1970, une étude porte plus généralement sur [le Réticulum sarcoplasmique.](#) La mise à jour concerne la perméabilité des membranes du réticulum sarcoplasmique. Lorsque l'inuline a commencé à pénétrer dans la membrane, il y a eu une chute abrupte du taux d'absorption de Ca^{++} et une augmentation simultanée de l'activité ATPase. A 40 degrés C, la pénétration de l'inuline s'est produite à pH 7.0 avec 1 mM EDTA et à pH 9.0 sans EDTA, suggérant une perméabilité accrue des membranes FSR. Cela concorde avec le taux plus élevé de libération de Ca^{++} de la FSR à des températures supérieures à 30 degrés C. La pénétration des membranes microsomaux par les anions est nettement influencée par les effets de charge. À faible force ionique et à pH alcalin, l'acétate et le Cl sont partiellement exclus des microsomes lorsqu'ils sont appliqués à des concentrations ne dépassant pas 1 mM, vraisemblablement en raison de l'effet Donnan. La pénétration de l'espace hydrique microsomal par l'acétate et le Cl se produit à des forces ioniques suffisamment élevées pour minimiser les répulsions de charge.

En 1971, il s'agit d'une nouvelle étude sur le [mécanisme de réaction de l'ATPase \$\text{Ca}^{2+}\$ - dépendante du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique.](#) Il y a une diminution remarquable du rapport entre la vitesse de libération de P (v) et la quantité d'intermédiaire phosphorylé ([EP]) qui a été observée pendant la phase initiale de la réaction ATPase Ca^{2+} -dépendante [ATP phosphohydrolase : EC 3.6.1. 3] de la SR. Pour clarifier le mécanisme de la transition v/[EP] pendant la phase initiale, il a été étudié les effets de l'ATP, du pH, des cations divalents, du Triton X-100 et du NEM sur la transition. La transition était indépendante des concentrations de cations divalents à l'intérieur de la vésicule de SR, et disparaissait lorsque la SR était prétraitée avec du Triton N-100 ou du NEM. De plus, la transition s'est produite même en présence d'ATP à une concentration beaucoup plus faible que celle du site de phosphorylation. Ces résultats suggèrent que la transition résulte d'un

changement de conformation coopératif dans la structure vésiculaire de la SR induit par l'ATP.

En 1972, une nouvelle étude en détail décrit le mécanisme de réaction de l'ATPase Ca^{2+} - dépendante du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique. Il est alors rapporté la reconnaissance et libération des ions Ca^{2+} au sein du réticulum sarcoplasmique. Puis il est présenté l'existence d'une transition coopérative de l'activité de l'ATPase pendant la phase initiale. Ainsi la présente étude a porté sur les changements d'affinité du site de liaison aux cations pour les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} pendant la formation de l'EP. Pour ce faire, il a été étudié l'inhibition compétitive de la formation de l'EP dépendante du Ca^{2+} par les ions Mg^{2+} et l'inhibition compétitive de la décomposition de l'EP dépendante du Mg^{2+} par les ions Ca^{2+} , en utilisant l'ATPase dépendante du Ca^{2+} - Mg^{2+} purifiée du SR par la méthode de MacLennan.

En 1973, une étude présente la [régulation possible par substrat de la phosphorylation de la membrane et du transport du \$\text{Ca}^{2+}\$ dans le réticulum sarcoplasmique](#). Les ions alcalins inhibent le transport du Ca^{2+} , l'hydrolyse du substrat et la phosphorylation de la membrane des vésicules du réticulum sarcoplasmique des muscles squelettiques. L'activité inhibitrice du Na^{+} et du K^{+} varie en fonction du substrat utilisé et de sa concentration, de la concentration en Ca^{2+} et de la température. Une séquence de réaction est proposée sur la base des données présentées. (Consulter le schéma de la réaction dans l'article en référence)

En 1974, il existe dans cette analyse des données sur [la reconstitution d'une pompe à calcium à l'aide de composants membranaires définis](#). La pompe Ca^{2+} peut être restaurée dans cette enzyme substituée par de la dioléoyl lécithine par l'addition d'un excès de lipides du réticulum sarcoplasmique en présence de cholate. L'élimination du cholate par dialyse génère un système qui accumule le Ca^{2+} à une vitesse et à un niveau comparables à ceux du réticulum sarcoplasmique natif. Une reconstitution significative de la pompe à Ca^{2+} peut également être obtenue en utilisant un excès de dioléoyl lécithine, mais comme la pleine expression de la capacité à accumuler du Ca^{2+} nécessite la présence d'oxalate, ces vésicules semblent plus perméables que celles reconstituées avec un excès de lipides du réticulum sarcoplasmique. Sur environ 90 molécules de lipides qui sont associées à une molécule d'ATPase dans le réticulum sarcoplasmique natif, il reste en moyenne moins d'une molécule de lipide dans ces systèmes reconstitués. **Il a ainsi été obtenu une pompe Ca^{2+} entièrement fonctionnelle contenant essentiellement une seule protéine et un lipide exogène.**

En 1975, ce travail rapporte la [formation d'adénosine triphosphate à partir de \$\text{P}_i\$ et d'adénosine diphosphate par la \$\text{Ca}^{2+}\$ -adénosine triphosphatase purifiée](#). **La Ca^{2+} -ATPase purifiée à partir du réticulum sarcoplasmique du muscle de lapin forme un phosphoenzyme lorsqu'elle est exposée au phosphate inorganique en présence de Mg^{2+} .** Lors de l'ajout d'ADP et de Ca^{2+} , la quasi-totalité du phosphate lié à l'enzyme est transférée pour former de l'ATP. Il a été démontré précédemment et confirmé par nous que (a) l'ATPase purifiée contient un polypeptide majeur et environ 30% de phospholipides ; (b) après élimination du détergent résiduel par passage à travers Sephadex, l'enzyme forme des membranes vésiculaires ; et (c) ces vésicules sont perméables et incapables d'accumuler du Ca^{2+} . Nos résultats indiquent donc que nous avons observé la génération d'ATP à partir d'ADP et de P_i sans la formation d'un gradient ionique à travers une membrane. Il est ainsi proposé que l'énergie dérivée de l'interaction ion-protéine conduise à la formation d'ATP.

Puis l'étude suivante propose une explication pour [le transport du Ca²⁺ et l'assemblage de particules protéiques dans les membranes sarcoplasmiques isolées de muscles normaux et dystrophiques](#). Les vésicules des membranes fragmentées du réticulum sarcoplasmique (SR) ont une activité majeure : L'absorption de Ca²⁺ couplée à l'hydrolyse de l'ATP. Les échantillons pour la fracturation par congélation ont été préparés en lavant 8-10 mg de protéines SR dans 80 mM KCl et 10 mM MOPS (pH 6,8) et en remettant en suspension les sédiments dans 0,10 ml de 60 mM KCl, 10 mM MOPS et 20% de glycérol. Des répliques ont été réalisées dans un appareil Balzers 360M à -100°C après avoir congelé des gouttes de la suspension dans du fréon 22 liquide. Les répliques ont été examinées dans un microscope électronique Philips EM 200 à 80 kv avec un dispositif de contamination à froid entourant le spécimen. **Des observations au microscope électronique ont également été réalisées sur des vésicules SR colorées négativement avec de l'acétate d'uranyle à 0,5 %.**

En 1976 de nouvelles investigations concernant [le mécanisme de réaction de l'ATPase Ca\(2\)+-dépendante du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique](#). Il est question ici d'une réévaluation de la transition de l'activité de l'ATPase pendant la phase initiale. Récemment, il a été affirmé que l'éclatement de Pi est causé par la formation d'un intermédiaire acido-labile contenant du phosphate (E.P) formé par l'hydrolyse rapide de E approximativement P. Dans la présente étude, la transition de la valeur kd pendant la phase initiale a été mesurée précisément, et les résultats ont montré que la phase d'éclatement est due à une transition de la valeur kd, et non à l'existence de E-P. Les principaux résultats obtenus sont les suivants : 1. Après que le SR ait été phosphorylé avec du [γ -³²P]ATP en présence d'ions Mg²⁺ et Ca²⁺, la poursuite de la phosphorylation a été arrêtée par l'addition d'EGTA. La concentration d'E approximativement ³²P a ensuite diminué de façon exponentielle avec le temps. 2. Les constantes de vitesse de premier ordre, kd, de la décomposition de E approximativement ³²P après l'ajout d'EGTA ont diminué avec l'augmentation de l'intervalle, t, entre le début de la formation de E approximativement ³²P et le moment de l'ajout d'EGTA.

En 1977, cette étude concerne plus [particulièrement la résolution de la Ca⁺⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique en sous-unités](#). Le système Ca⁺⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique (SR) a été résolu en plusieurs sous-unités par focalisation isoélectrique et isotachophorèse dans des gels d'acrylamide. Les résultats obtenus soutiennent le concept selon lequel le système ATPase du SR est oligomère et forme un tétramère de 100 000 sous-unités de poids molaire.

Puis la même année il est [mis en évidence que l'assemblage du réticulum sarcoplasmique était facilement repérable par sa localisation par immunofluorescence](#) des protéines du réticulum sarcoplasmique dans des cultures cellulaires de muscles squelettiques de rat en cours de différenciation. Ces études au niveau cellulaire confirment les résultats biochimiques sur la biosynthèse de la calsequestrine et de l'ATPase. La coloration immunofluorescente des myoblastes a montré que la calsequestrine apparaît d'abord dans une région bien définie de la cellule, près d'une extrémité du noyau. Par la suite, la coloration a occupé des régions de plus en plus grandes adjacentes au noyau et a pris un aspect fibreux. Ceci suggère que la calsequestrine s'accumule d'abord dans la région du Golgi puis se répand progressivement dans toute la cellule. En revanche, l'ATPase semble être concentrée dans de nombreuses petites taches ou foyers dans le cytoplasme et n'est jamais confinée à une région particulière, bien que certaines parties de la cellule soient souvent colorées plus intensément que d'autres.

Dans les cellules multinucléées, l'alternance de brins sombres et fluorescents parallèles à l'axe longitudinal des cellules était évidente.

Enfin cette nouvelle étude présente [l'existence de la réactivité des groupes thiol au sein de l'adénosine triphosphatase du réticulum sarcoplasmique et leur localisation sur les fragments tryptiques de la molécule](#). L'ATPase (adénosine triphosphatase) du réticulum sarcoplasmique contient 20 groupes thiol/115000 daltons, mesurés en utilisant soit le N-éthyl[(14)C]maléimide soit le 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoate) dans le dodécylsulfate de sodium. Après réduction, **il y avait 26 groupes thiol**, en bon accord avec les 26,5 résidus d'acide cystéique trouvés par analyse des acides aminés. **Trois à six groupes thiol de moins ont été trouvés dans les préparations faites en l'absence de dithiothreitol**. Les résidus manquants ont été comptabilisés comme de l'acide cystéique. La distribution des liaisons disulfure et des groupes thiol exposés et enterrés parmi les fragments tryptiques de la molécule a été mesurée après marquage avec du N-éthyl[(14)C]-maléimide. Les disulfures étaient confinés au fragment B (poids molaire 55000), alors que plusieurs groupes thiol étaient présents sur chacun des fragments (A, B, A(1) et A(2)). La cinétique de la réaction de l'ATPase avec le 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoate) a montré que quatre ou cinq des groupes thiol étaient non réactifs en l'absence de détergent et que 13 des groupes restants réagissaient avec une seule constante de vitesse de premier ordre. En présence d'ATP et de Ca(2+), la vitesse de réaction de tous les groupes de cette classe, sauf deux, a diminué uniformément. En présence ou en l'absence d'ATP et de Ca(2+), la constante de vitesse de l'inactivation était proche de la constante de vitesse de cette classe, mais n'était pas identique à celle-ci. Aucune protection sélective d'un groupe spécifique de site actif-thiol n'a été observée. Des expériences parallèles avec le réticulum sarcoplasmique ont donné des résultats similaires, sauf que les vitesses de réaction étaient un peu plus faibles et qu'il y avait deux groupes enfouis de plus. La solution de l'ATPase du réticulum sarcoplasmique dans un détergent a considérablement augmenté la réactivité de tous les groupes thiol. Les effets de faibles concentrations de désoxycholate étaient réversibles. L'EGTA ou de faibles concentrations (0,02 mM) de Ca(2+) ou de Mg(2+) ont eu très peu d'effet sur la réactivité.

En 1978, il apparaît dans cette étude des données sur [les effets du stockage de fragments du réticulum sarcoplasmique sur la Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase](#). Les effets du K⁺ et du Na⁺ sur la Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase des fragments du réticulum sarcoplasmique (SRF) ont été étudiés à 1 mM d'ATP. Une altération de la sensibilité de l'ATPase aux cations monovalents a été observée pendant le stockage de la préparation de SRF. La Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase du SRF fraîchement préparé a été légèrement activée par 5-10 mM K⁺ et Na⁺. La Mg²⁺-ATPase a été inhibée par les deux cations monovalents dans la même mesure, et cette réponse aux ions était indépendante de la fraîcheur des préparations. Après le stockage du SRF, cependant, la Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase a été nettement activée par des concentrations plus élevées de K⁺ et de Na⁺ (0,2-0,3 M). Le K⁺ et le Na⁺ ont réduit l'absorption de Ca à l'état stable dans le SRF fraîchement préparé, mais n'ont pas affecté l'absorption à l'état pré-stable. En présence d'oxalate, le taux d'accumulation de Ca dans les préparations fraîches et stockées a été activé par 0,1-0,2 M de K⁺ et de Na⁺. La Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase avec oxalate, appelée "extra ATPase", a montré la même réponse aux ions que l'activité sans oxalate pendant le stockage.

En 1979, dans cette analyse il existe une [meilleure localisation des protéines du réticulum sarcoplasmique dans le muscle squelettique du rat par immunofluorescence](#). Ces résultats sont cohérents avec les études biochimiques précédentes du réticulum sarcoplasmique isolé de

muscles de mammifères à contraction lente et rapide. La distribution de l'ATPase dans les fibres musculaires est nettement différente de celle de la calsequestrine. Alors que la calsequestrine n'est présente qu'à proximité de l'interface entre les régions de la bande I et de la bande A du sarcomère, l'ATPase est présente dans toute la région de la bande I ainsi qu'au centre de la région de la bande A. En comparant ces résultats avec les études ultrastructurales in situ de la distribution du réticulum sarcoplasmique **dans les muscles à contraction rapide, il apparaît que l'ATPase est distribuée assez uniformément dans tout le réticulum sarcoplasmique**, tandis que la calsequestrine est presque exclusivement confinée aux régions du système membranaire qui correspondent aux citernes terminales. La coloration fluorescente avec ces antisérums n'a pas été observée dans les cellules musculaires lisses vasculaires présentes dans les coupes cryostatiques du muscle squelettique de mammifères utilisées dans cette étude.

En 1980, ce travail concerne [une nouvelle étude de la topographie des résidus d'acides aminés du centre de l'adénosine triphosphatase du réticulum sarcoplasmique \(Ca--Mg\)-dépendant par des méthodes cinétiques et spectrales](#). Les données fournies par la spectrofluorimétrie et la théorie de l'induction-résonance ont été utilisées pour calculer les distances entre les résidus de tryptophane les plus proches et le chromophore (o-FTC) généré par l'interaction de l'o-phthalaldéhyde avec le groupe NH₂ du résidu d'acide aminé de la protéine (17 Å) et l'o-FTC et l'acétate dimercurique de fluorescéine (19 Å) fixés au groupe HS de l'enzyme. Comme le o-FTC se trouve à l'intérieur de la poche protéique, il n'est pas accessible aux ions J- jusqu'à 2,5 M KJ. Cependant, certaines études sur le tryptophane et l'acétate dimercurique de fluorescéine attaché au groupe HS sont proches de la surface de la macromolécule. Les résidus de lysine (ou d'arginine) ou le groupe NH₂ des acides aminés terminaux et les résidus de cystéine du groupe HS, et certains résidus de tryptophane se trouvent au centre de l'ATPase de la (Ca--Mg)-ATPase du réticulum sarcoplasmique.

Dans cette nouvelle étude il est montré que [le Phospholambane, est un activateur de la pompe à calcium du réticulum sarcoplasmique cardiaque](#). L'étude présente les propriétés physico-chimiques et la purification diagonale. La distribution du phospholamban entre la forme liée à la pompe, la forme dimère et la forme monomère est l'une des explications disponibles pour le faible rendement de notre procédure de purification diagonale. Cette procédure est extrêmement simple et facile à mettre en oeuvre, et elle fournit en quelques jours suffisamment de matériel pour la caractérisation préliminaire de la protéine telle que rapportée ici.

Puis dans ce travail c'est une meilleure [connaissance de la pompe Ca²⁺ activée par l'ATP dans les tubules transversaux isolés du muscle squelettique](#). Les tubules transversaux ont accumulé plus de 70 nmol de Ca²⁺/mg de protéine ; cette absorption a été abolie par l'ionophore Ca²⁺ A23187. Ni la digitoxine ni la monensine n'ont inhibé l'absorption de Ca²⁺, ce qui indique que l'accumulation de Ca²⁺ ne s'est pas produite par un échange sodium/calcium. Les conditions pour une absorption semi-maximale de Ca²⁺ étaient 5 microM de Ca²⁺ libre et 10 microM d'ATP. La pompe à Ca²⁺ des tubules transversaux isolés a été distinguée de la pompe à Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique et du sarcolemme en ce que la pompe à Ca²⁺ des tubules transversaux : 1) n'était pas augmentée par l'oxalate ; 2) n'était pas activée par le phosphate d'acétyle, le phosphate de p-nitrophényle ou le phosphate de 3-O-méthyl-fluorescéine ; et 3) n'hydrolysait pas le phosphate de p-nitrophényle ou le phosphate de 3-O-méthyl-fluorescéine. En utilisant la 3-O-méthylfluorescéine phosphatase Ca²⁺-

dépendante comme marqueur du réticulum sarcoplasmique, la contamination de la préparation de tubules transversaux a été calculée à 6%. Cela correspond à un niveau de contamination de 5 % estimé par microscopie électronique à fracture de congélation.

Par ailleurs il est montré dans cette étude que [le calcium était étroitement lié à l'adénosine triphosphatase dans le réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique de lapin](#). Le chélateur seul à 37 °C, a provoqué une perte irréversible de calcium lié, qui a été corrélée avec le découplage du transport de l'activité de la (Ca²⁺,Mg²⁺)-ATPase. Le découplage ne s'est pas accompagné d'une augmentation de la perméabilité à la [14C]inuline. L'échange lent du calcium étroitement lié avec le calcium moyen n'a pas été affecté par le renouvellement de l'ATPase ou par le clivage tryptique en fragments de 55 000 et 45 000 daltons. Des études de liaison avec du calcium marqué ont suggéré que la liaison étroite implique un processus en deux étapes : Ca²⁺ + E en équilibre K E . Ca²⁺ conduit à E < Ca²⁺ où E et < Ca²⁺ représentent l'ATPase et le calcium étroitement lié, et K = 1,6 X 10⁽³⁾ M⁻¹. Il est suggéré que **le calcium étroitement lié est situé dans une poche hydrophobe dans, ou à proximité immédiate de l'ATPase, et, avec les nucléotides d'adénine étroitement liés est associé à la capacité de l'ATPase à coupler l'hydrolyse de l'ATP au transfert vectoriel du calcium à travers la membrane.**

Pour autant il apparaît selon [cette étude que l'assemblage du réticulum sarcoplasmique](#). Présentation de la synthèse acellulaire de la Ca²⁺ + Mg²⁺-adénosine triphosphatase en association avec la calsequestrine. Ces résultats suggèrent que l'ATPase a été synthétisée sans une séquence signal NH₂-terminale. La calsequestrine (Mr - 63,000) a été synthétisée comme un précurseur de poids moléculaire plus élevé (Mr = 66,000) qui contenait un peptide supplémentaire marqué à la [35S] méthionine par rapport à la calsequestrine mature. La séquence NH₂-terminale du précurseur était différente de celle de la protéine mature. Le précurseur a été transformé en un polypeptide de poids moléculaire identique à la calsequestrine mature lorsque des membranes microsomales préparées à partir de pancréas canin ont été incluses pendant la traduction. **Ces résultats montrent que la calsequestrine est synthétisée avec une séquence signal NH₂-terminale qui est supprimée pendant la traduction. Ces données ajoutent aux preuves que l'ATPase et la calsequestrine suivent des voies de biosynthèse distinctes, même si, en fin de compte, elles sont toutes deux situées dans la même membrane.**

En 1981, il est indiqué dans cette étude que [l'interaction de la quercétine avec la \(Ca²⁺ + Mg²⁺\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique](#). Dans les vésicules du réticulum sarcoplasmique ou dans la (Ca²⁺ + Mg²⁺)-ATPase purifiée du réticulum sarcoplasmique, la quercétine a inhibé l'hydrolyse de l'ATP, l'absorption du Ca²⁺, l'échange ATP-Pi, la synthèse de l'ATP couplée à l'efflux du Ca²⁺, l'échange ATP-ADP et la phosphorylation à l'état stable de l'ATPase par le phosphate inorganique. La phosphorylation de l'ATPase à l'état d'équilibre par l'ATP n'a pas été inhibée. La quercétine a également inhibé la liaison de l'ATP et de l'ADP mais pas la liaison du Ca²⁺. L'inhibition du transport de Ca²⁺ dépendant de l'ATP par la quercétine était réversible, et l'ATP, le Ca²⁺ et le dithiothréitol n'ont pas affecté l'action inhibitrice de la quercétine.

Il est question dans cet article d'une [investigation sur le mécanisme de réaction de la \(Ca²⁺, Mg²⁺\)-ATPase des vésicules du réticulum sarcoplasmique](#). Il est présenté l'échange Ca²⁺-

Ca²⁺ dépendant de l'(ATP, ADP) à travers les membranes. Les vésicules du réticulum sarcoplasmique ont été préchargées avec du CaCl₂ non marqué, et l'incorporation de ⁴⁵Ca²⁺ dans les vésicules a été déterminée en ajoutant du ⁴⁵CaCl₂ au milieu externe en présence d'ATP et d'ADP. En l'absence de MgCl₂ ajouté, le taux d'état stable de l'incorporation de ⁴⁵Ca²⁺ dépendant de l'(ATP, ADP) était extrêmement faible, en bon accord avec celui de l'hydrolyse de l'ATP dépendant du Ca²⁺ qui était catalysé par la (Ca²⁺, Mg²⁺)-ATPase liée à la membrane. **En revanche, il a été fortement augmenté par l'ajout de MgCl₂ et est devenu beaucoup plus élevé que le taux d'équilibre de l'hydrolyse de l'ATP dépendant du Ca²⁺.** L'analyse cinétique des résultats a donné un appui à la probabilité que l'addition de MgCl₂ a déplacé de façon marquée l'équilibre de la réaction de Caout . EP et de Caout . EP représentent les phosphoenzymes avec Ca²⁺ lié qui est exposé au milieu externe et au milieu interne, respectivement.

Il apparaît selon cette étude que [l'extrémité NH₂ de la \(Ca²⁺ + Mg²⁺\)-adénosine triphosphatase est située sur la surface cytoplasmique de la membrane du réticulum sarcoplasmique.](#) Dans ce travail, il est montré l'isolement d'un peptide NH₂-terminal de 31 résidus à partir d'une digestion tryptique de l'ATPase succinylée, préparée à partir de vésicules marquées au N-[³H]éthylmaléimide. La réaction des vésicules avec du glutathion maléimide, de l'acide parachloromercuribenzoïque ou de l'acide parachloromercuriphényl sulfonique, des réactifs imperméables aux membranes, a empêché toute réaction ultérieure des groupes sulfhydryles avec le N-éthylmaléimide. Ce résultat indique que tous les groupes sulfhydryles qui sont réactifs avec le N-éthylmaléimide se trouvent à l'extérieur des vésicules. Puisque la Cys12 est située dans une portion NH₂-terminale hydrophile de l'ATPase, les résultats du marquage suggèrent que l'extrémité NH₂-terminale de l'ATPase se trouve sur le côté cytoplasmique de la membrane. **Ces résultats sont cohérents avec les observations précédentes selon lesquelles la (Ca²⁺ + Mg²⁺)-ATPase est synthétisée sans séquence signal NH₂-terminale.**

L'étude présentée porte sur [les vésicules membranaires du sarcolemmal cardiaque et du réticulum sarcoplasmique qui présentent des spécificités de substrat \(Ca-Mg\)-ATPase distinctes.](#) En présence d'oxalate, le taux initial d'accumulation de Ca avec la dATP était 4 fois plus élevé que pour l'ATP, alors que l'activité pour le GTP, l'ITP, le CTP et l'UTP se situait entre 35 et 45% de celle de l'ATP. Pour les membranes SL, l'hydrolyse de la dATP activée par le Ca s'est produite à 60% de la vitesse de l'ATP ; le GTP, l'ITP, le CTP et l'UTP ont été hydrolysés par les préparations SL à seulement 7-9% de la vitesse de l'ATP. L'absorption du Ca²⁺ dépendant du NTP dans les membranes SL n'était soutenue que par l'ATP et le dATP, le dATP étant 60 % plus efficace que l'ATP. Le GTP, l'ITP, le CTP et l'UTP n'ont pas favorisé le transport du Ca²⁺ par les vésicules de la SL. Les résultats indiquent que les membranes SL et SR contiennent des systèmes de transport de Ca²⁺ ATP-dépendants distincts.

En 1982, il va être mieux connu selon [ce travail l'ensemble du mécanisme de réaction de la \(Ca²⁺, Mg²⁺\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique.](#) Une attention est portée sur le rôle du Mg²⁺ qui active l'hydrolyse de la phosphoenzyme. L'ampleur de cette hydrolyse augmente avec des concentrations croissantes de Mg²⁺ ajoutées avant le début de la phosphorylation. Ceci montre que l'hydrolyse a été activée par le Mg²⁺ ajouté. Le Mg²⁺ qui a activé l'hydrolyse du phosphoenzyme était distinct du Mg²⁺ dérivé du MgATP lié au site du substrat. Le site où le Mg²⁺ se combine pour activer l'hydrolyse du phosphoenzyme était situé sur la surface externe des membranes vésiculaires. Pendant le cycle catalytique, le Mg²⁺ s'est combiné avec le site Mg²⁺ avant que le Ca²⁺ ne se dissocie du site de transport du Ca²⁺

du phosphoenzyme sensible à l'ADP avec le Ca^{2+} lié. Ce Mg^{2+} n'a pas activé l'hydrolyse de la phosphoenzyme sensible à l'ADP avec Ca^{2+} lié, mais a activé de façon marquée l'hydrolyse de la phosphoenzyme insensible à l'ADP sans Ca^{2+} lié. On en conclut que, pendant le cycle catalytique, le Mg^{2+} n'active l'hydrolyse du phosphoenzyme qu'après que le Ca^{2+} se soit dissocié du site de transport du Ca^{2+} du phosphoenzyme.

Ce nouveau travail traite de décomposition de [l'effet du pH sur la cinétique de l'état transitoire de la \$\text{Ca}^{2+}\$ - \$\text{Mg}^{2+}\$ -ATPase du réticulum sarcoplasmique cardiaque](#). C'est une comparaison avec le réticulum sarcoplasmique squelettique. L'effet du pH acide (6,0) est plus prononcé pour le réticulum sarcoplasmique cardiaque ($t_{1/2} = 47$ msec) que pour le réticulum sarcoplasmique squelettique ($t_{1/2} = 17$ msec), en accord avec les études montrant que l'acidose a un effet plus prononcé sur le muscle cardiaque que sur le muscle squelettique. En outre, une diminution du pH entraîne une diminution de la vitesse de l'étape de décomposition de l'E approximativement P (l'étape la plus lente de la séquence réactionnelle du SR). Il a ainsi été observé que les demi-vies de décomposition de l'E approximativement P étaient de 97 et 77 msec, respectivement pour les SR cardiaques et squelettiques à pH 6,8. À pH 6,0, les demi-vies ont augmenté à 136 et 178 msec pour les SR cardiaques et squelettiques, respectivement.

Il est alors mentionné dans cette analyse de [l'existence d'une hétérogénéité biochimique des membranes microsomales des muscles squelettiques](#). L'étude porte sur l'origine des membranes, et la spécificité des membranes comme celles des types de fibres. L'origine tubulaire des vésicules avec une face de fracture concave et lisse dans les microsomes du muscle lent est soutenue par leur contenu relativement élevé en phospholipides totaux et en cholestérol, comparé aux microsomes du muscle rapide, et par d'autres données corrélatives, telles que la présence d'une activité ATPase (Na^{+})+ K^{+}) dépendante et de faibles quantités de phosphorylation membranaire Na^{+} dépendante. Parmi les protéines intrinsèques de la membrane du réticulum sarcoplasmique, un protéolipide de poids moléculaire 12 000 est identique dans les microsomes des muscles rapides et lents et l'ATPase Ca^{2+} -dépendante est antigénique et catalytiquement différente, bien qu'électrophorétiquement homogène. L'activité basale de l'ATPase activée par Mg^{2+} s'est avérée élevée dans les microsomes légers du muscle lent, mais son identification avec une enzyme différente de l'ATPase Ca^{2+} -dépendante n'est toujours pas concluante. Les protéines enzymatiques qui sont suggérées comme étant spécifiques du réticulum sarcoplasmique longitudinal du muscle lent sont la flavoprotéine NADH:cytochrome b(5) réductase (poids molaire 32000), le cytochrome b(5) (poids molaire 17000) et la stéaroyl-CoA désaturase, mais essentiellement par des critères de plausibilité.

Puis il est question dans ce travail de la mise au point de [la purification du phospholamban, une protéine de 22 000 daltons provenant du réticulum sarcoplasmique cardiaque qui est capable spécifiquement d'être phosphorylé par la protéine kinase dépendant de l'AMP cyclique](#). La (Ca^{2+} + Mg^{2+})-ATPase est purifiée en solubilisant d'abord toutes les protéines extrinsèques avec une concentration désoxycholate. Une quantité croissante de désoxycholate est ensuite ajoutée pour obtenir la (Ca^{2+} + Mg^{2+})-ATPase purifiée. Cette protéine est pure à au moins 95%, comme déterminé par des gels de dodécylsulfate de sodium-polyacrylamide, et a une activité hydrolytique de l'ATP d'environ 1,25 pmol de P_i /mg/min. L'addition supplémentaire de désoxycholate à l'enzyme purifiée augmente la capacité de l'enzyme à hydrolyser l'ATP à environ 2,5 pmol de P_i /mg/min. L'isolement de la protéine de 22 000 daltons et de la (Ca^{2+} + Mg^{2+})-ATPase aidera à comprendre comment ces deux protéines fonctionnent et si elles interagissent spécifiquement l'une avec l'autre.

En 1983, cette analyse porte sur [l'utilisation du nucléotide triphosphate par le réticulum sarcoplasmique des muscles cardiaques et squelettiques](#). Il est donc présenté une preuve supplémentaire d'un cycle alternatif d'hydrolyse du substrat et effet de la purification de la NTPase du calcium. Dans le présent article, il est rapporté que la purification de la NTPase des deux sources musculaires a entraîné une altération de la réponse de la concentration de NTP compatible avec un seul site de liaison à haute affinité pour l'ATP uniquement dans le SR cardiaque et pour les deux substrats dans le SR du muscle squelettique. Comme c'est le cas dans le SR du muscle squelettique natif, la NTPase purifiée du muscle squelettique a hydrolysé le GTP d'une manière qualitativement similaire à l'ATP (mais sans NTPase indépendante du Ca^{2+}) mais avec une vitesse réduite. En revanche, la NTPase cardiaque purifiée ne présentait aucune activité GTPase ni aucune activité ATPase "basique" indépendante du Ca^{2+} . L'inclusion d'oxalate ou de l'ionophore A23187 dans les essais avec le SR cardiaque et l'ATP comme substrat a augmenté l'activité ATPase totale mais n'a eu aucun effet sur l'activité GTPase. De plus, l'absorption nucléotidienne de l'oxalate par le SR cardiaque n'était apparente qu'avec l'ATP et non avec le GTP. En présence de Ca^{2+} , l'ATP était un inhibiteur puissant (non compétitif, K_i de 2-5 μM) de l'activité de la GTPase, alors qu'il était un inhibiteur compétitif plus faible en l'absence de Ca^{2+} . **Il est ainsi suggéré que la GTPase et l'ATPase basique représentent des cycles enzymatiques alternatifs similaires pour l'enzyme CaATPase qui sont inhibés par la présence d'ATP plus Ca^{2+} mais sont rendus inactifs lors de la purification de la NTPase cardiaque.**

Une nouvelle étude indique l'existence d'un [état conformationnel phosphorylé de la \$\(\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\)\text{-ATPase}\$ du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique rapide qui peut servir de médiateur à la libération rapide de \$\text{Ca}^{2+}\$](#) . Une libération rapide de Ca^{2+} à partir de vésicules du réticulum sarcoplasmique chargées en Ca^{2+} provenant de muscles squelettiques rapides peut être induite dans des conditions qui permettent la formation d'un intermédiaire phosphorylé stable de la $(\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+})\text{-ATPase}$. Un tel état peut être obtenu expérimentalement en phosphorylant l'ATPase en l'absence d'ions Mg^{2+} , qui autrement stimuleraient la ou les étapes de déphosphorylation. De même, la quercétine stimule la libération rapide de Ca^{2+} si elle est utilisée dans la gamme de concentrations qui ne produit pas d'inhibition de la formation de la phosphoenzyme, mais qui inhibe la déphosphorylation de la phosphoenzyme. L'efflux rapide d'ions Ca^{2+} se poursuit tant que les sites de liaison au Ca^{2+} de faible affinité situés dans la lumière des vésicules sont saturés et tant que le Ca^{2+} est éliminé des sites catalytiques situés dans le cytosol. Un mécanisme moléculaire de la libération de Ca^{2+} médiée par les phosphoenzymes est proposé. Ce mécanisme est basé sur une navette rapide des molécules de l'ATPase entre un état phosphorylé sensible à l'ADP et un état phosphorylé insensible à l'ADP.

Il apparaît selon ce travail de [nouvelles données sur le complexe de calcium réactif à l'ADP et au \$\text{Mg}^{2+}\$ de la phosphoenzyme de la \$\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}\$ du réticulum sarcoplasmique squelettique](#). La constante d'association pour la liaison Ca^{2+} induite par l'ATP était de $4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, ce qui n'était pas significativement différent de celle obtenue en l'absence d'ATP. L'AdoP[CH₂]PP a eu peu d'effet sur le processus de liaison du Ca^{2+} . La quantité de phosphoenzyme formée était équivalente au niveau de liaison du Ca^{2+} induit par l'ATP. L'ADP a diminué le niveau de liaison du Ca^{2+} induit par l'ATP et le phosphoenzyme de la même quantité. Ces résultats suggèrent que la liaison Ca^{2+} induite par l'ATP existe sous la

forme d'un phosphoenzyme réactif à l'ADP. Ca. De plus, le Ca^{2+} lié à l'enzyme en présence d'ATP a été libéré lors de l'ajout de 1 mM MgCl_2 ; après la libération du Ca^{2+} , le phosphoenzyme s'est désintégré. Ces observations suggèrent que le Mg^{2+} , ajouté après le processus de liaison du Ca^{2+} induit par l'ATP, peut remplacer le Ca^{2+} sur le phosphoenzyme et initier la décomposition du phosphoenzyme.

On va trouver ici des études [plus précises sur les transitions conformationnelles de la \$\text{Ca}^{2+}\$, \$\text{Mg}^{2+}\$ -adénosine triphosphatase du réticulum sarcoplasmique](#). En particulier il est révélé la possibilité d'un marquage sélectif de groupes sulfhydryles fonctionnellement distincts avec des sondes de conformation et preuve d'un changement de conformation dépendant du Ca^{2+} . Les membranes du réticulum sarcoplasmique marquées avec de l'ANM (N-(1-anilino)naphthyl-4)maleimide) à SHN (=groupement SH dit « highly reactive but functionally Nonessential ») ou SHD (= groupement SH dit « essential for the Decomposition of the E-P intermediate ») ont montré une fluorescence caractéristique dont l'intensité a changé de façon réversible en réponse à l'élimination et à la réaddition d'ions Ca^{2+} dans la gamme de 10^{-6} à 10^{-7} M. **Le changement pourrait être attribué à un changement de conformation de l'ATPase en réponse à la dissociation et à l'association d'ions Ca^{2+} au site de transport.** Le changement de fluorescence dépendant du Ca^{2+} était quantitativement différent, selon que l'ATPase était marquée au niveau du SHN ou du SHD. De plus, il était spécifique à la sonde, car la fluorescence du BIPM et du DACM ne changeait pas en réponse au Ca^{2+} . La signification possible de ces observations est discutée.

En 1984, il est question dans cette étude du [marquage du domaine de liaison des nucléotides adéniques de la \$\text{Ca},\text{Mg}\$ -ATPase du réticulum sarcoplasmique avec des analogues d'ATP par photoaffinité](#). L'analogue de l'ATP, le 3'-O-(4-benzoyl)benzoïque adénosine triphosphate (BzATP) était un analogue de photoaffinité efficace de l'ATP pour marquer la Ca,Mg -ATPase du réticulum sarcoplasmique. Contrairement au 8-azido-ATP et à l'arylazido-ATP, le BzATP a entraîné une inhibition significative de l'activité de l'ATPase. L'incorporation de l' $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{BzATP}$ était limitée à la Ca,Mg -ATPase à 250 μM de BzATP et l'incorporation était antagonisée par l'ATP. La conclusion indique que l'incorporation photodépendante de BzATP est limitée au site actif car l'inhibition de l'activité ATPase était stoechiométriquement liée à l'incorporation de l'analogue. La résolution des fragments tryptiques produits à partir de la Ca,Mg -ATPase photolabélisée a démontré que les fragments A et B étaient marqués dans un rapport d'environ 2:1. Les deux fragments doivent donc contenir des parties du site actif.

Il est alors présenté une [étude comparative des propriétés cinétiques et structurales des formes monomères et oligomères de l'ATPase du réticulum sarcoplasmique](#). **Deux fractions distinctes ont été sélectionnées après chromatographie sur colonne et leurs propriétés physiques et cinétiques ont été comparées.** Les poids moléculaires des protéines ATPase de ces deux fractions ont été déterminés comme étant d'environ 150 et 360K daltons avec des rayons de Stokes d'environ 5,5 et 8,0 nm, respectivement. Les rayons de Stokes étaient en accord avec les valeurs obtenues à partir des données de mesure de la décroissance de la polarisation d'agrégats d'ATPase marqués au N-1-pyrène maléimide (N-1-P) séparés sur la même colonne. La vitesse de décomposition de ce phosphoenzyme (PE) a été déterminée pour les deux fractions de colonne décrites ci-dessus. Après l'ajout d'EDTA, la vitesse de décomposition de la PE de l'ATPase de petite taille était beaucoup plus élevée que la vitesse de décomposition de la PE de l'ATPase de grande taille.

On va alors posséder avec cette étude d'une [méthode fiable de première purification de la \$\text{Ca}\$ ATPase du réticulum sarcoplasmique par chromatographie d'affinité](#). Les protéines des

vésicules du réticulum sarcoplasmique solubilisées par un détergent non ionique ont été fractionnées en utilisant une colonne d'agarose rouge réactif-120. La Ca-ATPase a été obtenue sous forme pure en éluant la colonne avec 400 microM d'adényl 5'-yl imidodiphosphate, ce qui a permis d'obtenir une enzyme ayant une activité spécifique presque double de celle de départ dans une fraction contenant la moitié de la protéine initiale. La conclusion que l'ATPase comprend 50 % de la protéine de la vésicule du réticulum sarcoplasmique est en accord avec les estimations obtenues par densitométrie en utilisant des gels de Laemmli à 7 1/2 %, mais pas avec la densitométrie en utilisant des gels de Weber et Osborn à 7 %. Le mécanisme de purification s'est avéré être une chromatographie d'affinité, l'ATPase liant le ligand rouge-120 réactif dans son site de liaison aux nucléotides. La concentration à l'état d'équilibre de l'intermédiaire phosphorylé par rapport à l'activité spécifique s'est avérée inférieure dans l'enzyme purifiée par rapport à l'enzyme vésiculaire de départ.

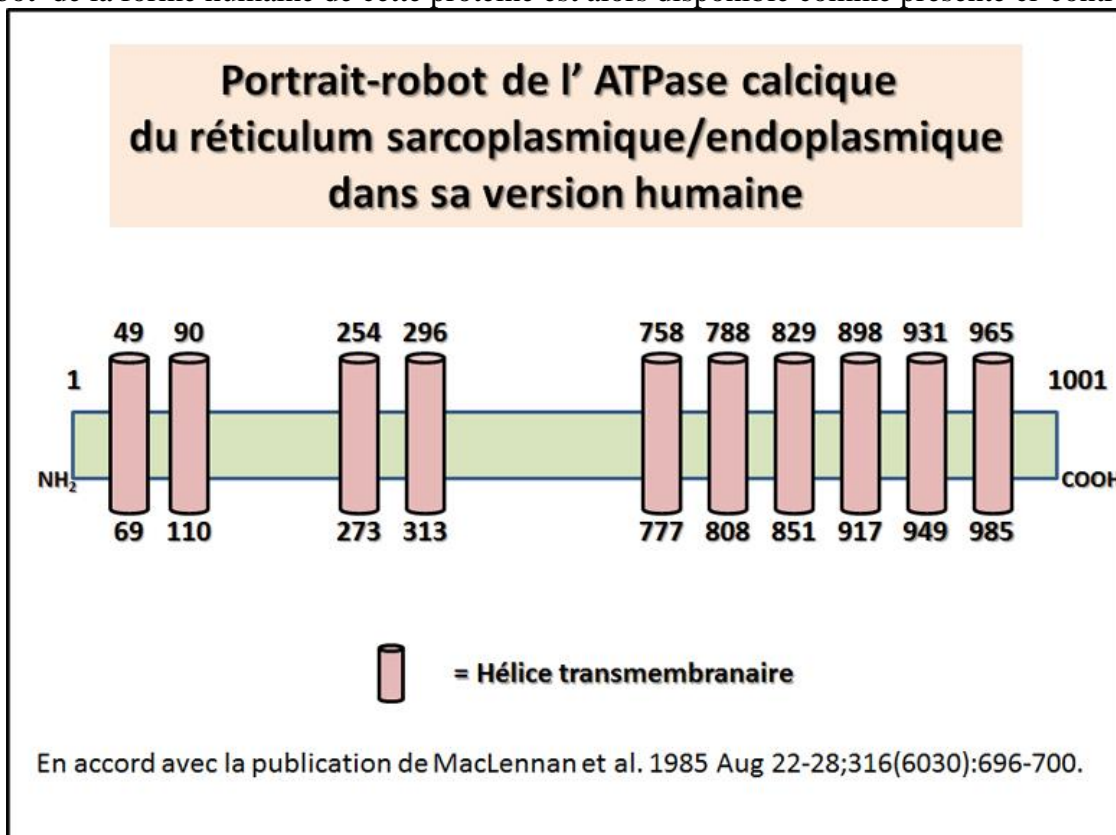
En 1985, il est alors possible de mieux identifier des [changements conformationnels de la \(Ca²⁺ + Mg²⁺\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique détectés par polarisation de phosphorescence](#). La technique de phosphorescence moyennée dans le temps a été utilisée pour étudier l'interaction des ions calcium et de l'ATP avec la (Ca²⁺ + Mg²⁺)-ATPase dans les vésicules du réticulum sarcoplasmique. La présence d'un excès d'ions calcium a entraîné une diminution de 20 % de l'anisotropie de l'émission de phosphorescence. Ce phénomène est interprété comme étant dû à un changement de conformation de la protéine et est soutenu par les données des mesures de phosphorescence résolues dans le temps qui montrent également une diminution de l'anisotropie. Ce changement dans la décroissance de l'anisotropie d'émission est associé à des changements mineurs dans le temps de relaxation rotationnelle de la protéine et suggère à nouveau un changement de conformation de la protéine. Dans certains cas, on a également observé que l'ATP diminuait l'anisotropie de phosphorescence moyennée dans le temps, peut-être par le biais d'une interaction avec le site régulateur de faible affinité de la protéine.

Puis ce sera selon cette analyse l'identification de [protéines de liaison à la calmoduline au niveau du réticulum sarcoplasmique cardiaque](#). Il est présenté l'existence d'une modulation de la liaison de la calmoduline au phospholamban par la phosphorylation. La technique de recouvrement du gel avec de la calmoduline marquée au ¹²⁵I a permis de détecter plusieurs protéines de liaison à la calmoduline de Mr 280 000, 150 000, 97 000, 56 000, 35 000 et 24 000 dans le réticulum sarcoplasmique cardiaque canin. Seules deux protéines de liaison à la calmoduline ont pu être identifiées sans ambiguïté. Parmi elles, la protéine 97 000-Mr qui subit une phosphorylation en présence de Ca²⁺ et de calmoduline, est probablement la glycogène phosphorylase. En revanche, l'ATPase activée par (Ca²⁺ + Mg²⁺) ne semble pas se lier à la calmoduline dans nos conditions expérimentales. La deuxième cible connue de la calmoduline est le déphosphophospholamban, qui migre avec un Mr apparent de 24 000. La forme dimérique ainsi que la forme monomérique du phospholamban ont été trouvées pour lier la calmoduline. Le phospholamban déplace le K_d apparent de l'ATPase érythrocytaire (Ca²⁺ + Mg²⁺) activée pour la calmoduline, suggérant ainsi une liaison étroite de la calmoduline au protéolipide. Il est intéressant de noter que la phosphorylation du phospholamban par la sous-unité catalytique de la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique ou par la phospholamban kinase dépendante de la Ca²⁺/calmoduline a inhibé la liaison de la calmoduline.

Plus tard il est révélé dans cette étude la possibilité d'une [stabilité et l'existence de réactions partielles de l'ATPase du réticulum sarcoplasmique soluble et liée à la membrane](#). Ce phénomène n'a pas été observé lorsque l'ITP a été utilisé comme substrat. La petite quantité

d'ADP accumulée dans le milieu pendant l'hydrolyse de l'ATP était suffisante pour inhiber l'activité ATPase de l'enzyme membranaire mais n'avait aucun effet sur l'enzyme soluble. Des concentrations croissantes de détergent ont favorisé une inhibition progressive de la réaction d'échange ATP \rightleftharpoons Pi. Le rapport hydrolyse/synthèse de l'ATP de l'enzyme soluble était 10 fois plus élevé que celui de l'enzyme membranaire. L'ajout d'un co-solvant a rétabli ce rapport à des valeurs similaires à celles obtenues avec la Ca-ATPase liée à la membrane. L'enzyme soluble préparée à partir de vésicules natives du réticulum sarcoplasmique était capable de catalyser la synthèse nette d'ATP lorsqu'elle était phosphorylée par Pi en présence de diméthylsulfoxyde, puis diluée dans un milieu contenant 10 mM de CaCl₂ et 2 mM d'ADP. Ceci n'a pas été observé lorsque l'enzyme soluble a été préparée à partir de la Ca-ATPase purifiée. Les résultats suggèrent que certaines des réactions partielles du cycle catalytique de la Ca-ATPase dépendent de l'environnement hydrophobe présent dans la membrane native. Cet environnement peut être imité par des co-solvants.

Enfin pour la première fois depuis l'étude de ce sujet de riche il est possible d'obtenir des [informations sur la séquence d'acides aminés d'une ATPase Ca²⁺ + Mg²⁺-dépendante du réticulum sarcoplasmique de muscle de lapin, déduite de sa séquence d'ADN complémentaire](#). Il a ainsi été cloné et séquencé l'ADN complémentaire codant pour une Ca²⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique du muscle de lapin. Il est alors possible de proposer un modèle de la protéine qui possède 3 domaines cytoplasmiques joints à un ensemble de 10 hélices transmembranaires par une tige étroite et penta-hélicoïdale. Dans ce modèle, l'ATP liée à un domaine cytoplasmique phosphorylerait un aspartate dans un domaine cytoplasmique adjacent, induisant la translocation du Ca²⁺ des sites de liaison sur la tige. Un portrait-robot de la forme humaine de cette protéine est alors disponible comme présenté ci-contre.



En 1986, on va disposer avec cette analyse d'un [modèle cinétique pour l'ATPase activée par Ca²⁺ + Mg²⁺ du réticulum sarcoplasmique](#). La dépendance du pH de cette inhibition du

Ca²⁺ et l'effet du détergent C12E8 (dodécyl octaéthylène glycol monoéther) sur l'inhibition du Ca²⁺ sont similaires à ceux observés lors de l'activation par de faibles concentrations de Ca²⁺. Sur la base de ces études et d'autres, nous présentons un modèle cinétique pour l'ATPase. L'ATPase est supposée exister dans l'une des deux conformations suivantes : une conformation (E1) de haute affinité pour le Ca²⁺ et le MgATP et une conformation (E2) de faible affinité pour le Ca²⁺ et le MgATP. La liaison du Ca²⁺ à E2 et à la forme phosphorylée E2P est égale. La liaison des protons aux sites de liaison au Ca²⁺ dans les conformations E1 et E2 explique la dépendance du pH des effets du Ca²⁺. La liaison du MgATP à l'intermédiaire phosphorylé E1PCa²⁺ et à E2 module les taux de l'étape de transport E1PCa²⁺-E2PCa²⁺ et le retour des sites Ca²⁺ vides vers la surface extérieure du réticulum sarcoplasmique, ainsi que le taux de déphosphorylation de l'E2P. Un seul site de liaison pour le MgATP est postulé.

En 1987, c'est une approche qui permet de mieux [caractériser la \(Ca²⁺ + Mg²⁺\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique par luminescence europium excitée par laser](#). Les résultats démontrent que l'inhibition observée du transport du Ca²⁺ par Eu³⁺ est due à sa liaison aux sites de translocation du Ca²⁺. La transition 7F₀---5D₀ de Eu³⁺ lié à ces sites a été suivie. La nature non-Lorentzienne du profil d'excitation et une décroissance de fluorescence double-exponentielle ont révélé l'hétérogénéité des deux sites. La mesure des taux de décroissance de la fluorescence dans des mélanges tampons H₂O/D₂O a permis de mieux distinguer les sites. Le nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination de Eu³⁺ lié aux sites de transport était de 4 et 1,5. L'ajout d'ATP a réduit ces nombres à zéro et 0,6. Ces données montrent que les ions calcium dans les sites de translocation sont bien enfermés par les ligands protéiques et qu'ils sont encore occlus jusqu'à zéro ou une molécule d'eau de solvation pendant le processus de transport.

Selon cette nouvelle étude il existe bien une [inhibition réversible de la Ca-ATPase du réticulum sarcoplasmique par une activité neuromusculaire altérée dans le muscle à contraction rapide du lapin](#). Une stimulation prolongée (jusqu'à 28 jours) n'a pas entraîné d'autres diminutions. Cette réduction, qui a été détectée dans les homogénats musculaires à l'aide d'une électrode sensible au Ca²⁺, était réversible après 6 jours d'arrêt de la stimulation et ne s'accompagnait pas de modifications du niveau tissulaire déterminé par immunochimie (ELISA) ou des caractéristiques isoenzymes de la protéine Ca²⁺-ATPase du SR. Cependant, mesurée dans des SR isolés, elle était corrélée à une activité spécifique réduite de la Ca²⁺-ATPase. Les analyses cinétiques ont démontré que les affinités de la Ca²⁺-ATPase du SR envers le Ca²⁺ et l'ATP n'étaient pas modifiées. La coopérativité positive pour la liaison du Ca²⁺ (h = 1,5) a été maintenue. Cependant, une diminution de 50 % de la formation de phosphoprotéines dépendantes du Ca²⁺ a indiqué la présence de formes inactives de la Ca²⁺-ATPase dans le muscle stimulé. La réduction de la phosphorylation de l'enzyme s'est accompagnée d'une diminution d'environ 50 % de la liaison de l'isothiocyanate de fluorescéine, un concurrent au site de liaison de l'ATP. Compte tenu de l'affinité inchangée pour l'ATP, ce résultat suggère que des molécules actives de Ca²⁺-ATPase coexistent dans le muscle stimulé avec des molécules d'enzyme inactives, ces dernières présentant des propriétés modifiées au niveau du site de liaison des nucléotides.

Par ailleurs cette analyse rapporte l'existence de [domaines structurels communs dans la Ca-ATPase du réticulum sarcoplasmique et la Mg-ATPase du tubule transverse](#). Pour les **deux protéines de 102 kD ainsi découvertes, elles présentent des compositions en acides aminés similaires, notamment en ce qui concerne la population de résidus d'acides**

aminés chargés. De plus, les cartes peptidiques unidimensionnelles des deux protéines et leurs immunoblots présentent des similitudes frappantes indiquant que les deux protéines partagent de nombreux épitopes et domaines peptidiques communs. Des anticorps polyclonaux élevés contre la glycoprotéine TT 102-kD purifiée ont été localisés par immunofluorescence indirecte exclusivement dans les bandes I riches en TT de la cellule musculaire. Les anticorps inhibent sensiblement l'activité Mg-ATPase des vésicules TT isolées, et le prétraitement au Con A a pu empêcher l'inhibition par les anticorps de l'activité Mg-ATPase de la TT. En outre, la liaison des anticorps aux vésicules TT intactes a pu être réduite par un traitement préalable au Con A. Nous concluons que la glycoprotéine TT de 102 kD est la Mg-ATPase TT et qu'un degré élevé d'homologie structurale existe entre cette protéine et la Ca-ATPase SR.

Cette investigation porte sur les [effets du Mg²⁺, des anions et des cations sur l'ATPase activée par Ca²⁺ + Mg²⁺ du réticulum sarcoplasmique](#). Il est ainsi constaté que des concentrations de Mg²⁺ de l'ordre du millimolaire inhibent l'activité de l'ATPase, ce que nous attribuons à la compétition entre Mg²⁺ et MgATP pour la liaison au site de liaison des nucléotides sur les conformations E1 et E2 de l'ATPase et sur les formes phosphorylées de l'ATPase. La compétition est également suggérée entre Mg²⁺ et MgADP pour la liaison à la forme phosphorylée de l'ATPase. L'activité de l'ATPase est augmentée par de faibles concentrations de K⁺, Na⁺ et NH₄⁺, mais inhibée par des concentrations plus élevées. Il est proposé que ces effets découlent d'une augmentation de la vitesse de déphosphorylation mais d'une diminution de la vitesse de la transition conformationnelle E1'PCa₂-E2'PCa₂ avec l'augmentation de la concentration en cations. Li⁺ et choline⁺ diminuent l'activité de l'ATPase. Les anions diminuent également l'activité de l'ATPase, les effets de I⁻ et SCN⁻ étant plus marqués que ceux de Cl⁻. Ces effets sont attribués à la liaison au site de liaison du nucléotide, avec une diminution de l'affinité de liaison et une augmentation de la constante de vitesse 'off' pour le nucléotide.

En 1988, il est présenté dans ce travail des [informations sur l'ARNm de l'ATPase \(Ca²⁺ + Mg²⁺\) dépendante du réticulum sarcoplasmique du muscle lisse diffère de celui des muscles cardiaques et des muscles squelettiques rapides](#). Il a été étudié certaines caractéristiques de l'ARNm de l'ATPase dépendante du réticulum sarcoplasmique (Ca²⁺ + Mg²⁺) (Ca²⁺-ATPase) des muscles lisses en utilisant des sondes d'ADNc spécifiques isolées d'une bibliothèque d'ADNc de cœur de rat. L'analyse par transfert d'ARN a montré que l'ARNm Ca²⁺-ATPase exprimé dans le muscle lisse est identique en taille à l'ARNm cardiaque mais diffère de celui du muscle squelettique rapide. La cartographie par la nucléase S1 a en outre montré que les isoformes du muscle cardiaque et du muscle lisse possèdent des séquences 3'-end différentes. Ces résultats indiquent qu'un ARNm Ca²⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique distinct est présent dans le muscle lisse.

Puis dans cette étude il est question de la [purification et la caractérisation de la Mg²⁺-ATPase du tubule transverse du muscle squelettique de lapin](#). Une bande proéminente ayant une masse moléculaire de 105 kDa est observée lorsque la protéine purifiée est analysée par électrophorèse sur gel de dodécylsulfate de sodium-polyacrylamide. La protéine Mg²⁺-ATPase purifiée de 105 kDa n'est pas structurellement similaire à la protéine Ca²⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique, comme le montrent des cartes peptidiques au bromure de cyanogène et des compositions en acides aminés très différentes. Les dissemblances structurelles sont complétées par des différences fonctionnelles observées entre les Ca²⁺- et

Mg²⁺-ATPases, notamment une sensibilité différentielle aux protéases, aux réactifs de modification chimique et à l'inactivation par l'isothiocyanate de fluorescéine et le vanadate. L'ensemble de ces données démontre que la Mg²⁺-ATPase est une protéine unique présentant peu, voire aucune, similitude structurale avec la Ca²⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique ou avec d'autres enzymes apparentées telles que la (Na,K)-ATPase du rein de mammifère ou la (H,K)-ATPase de la muqueuse gastrique.

En 1989, c'est seulement à cette date que l'on va obtenir plus d'informations sur [le clonage moléculaire et la caractérisation d'une adénosine triphosphatase Ca²⁺ + Mg²⁺-dépendante provenant du réticulum sarcoplasmique cardiaque de rat](#). Dans le trail il est présenté la régulation de son expression par la surcharge de pression et le stade de développement. Pour étudier la régulation de l'expression de l'ATPase cardiaque Ca²⁺ + Mg²⁺-dépendante (Ca²⁺-ATPase) dans le réticulum sarcoplasmique (SR), nous avons isolé un ADNc (pHA6) codant pour une Ca²⁺-ATPase du SR cardiaque de rat. Le clone était constitué de 2 311 nucléotides dérivés de l'ARNm, qui couvraient la moitié de la région codante et la totalité des régions 3'-non traduites. Les nucléotides et les séquences d'acides aminés déduites de pHA6 ont montré une homologie frappante, 89 et 98%, respectivement, avec ceux de la Ca²⁺-ATPase de lapin de la forme lente. Les analyses de Northern blot ont révélé que les niveaux d'ARNm de la Ca²⁺-ATPase ont été réduits par la surcharge de pression et sont devenus 32% de ceux du sham en 1 mo. Au cours du développement, les niveaux d'ARNm étaient très faibles pendant la période fœtale et augmentaient brusquement autour de la naissance. Ces changements dans les niveaux d'ARNm ont été corrélés avec les niveaux de protéines correspondants. Ces résultats suggèrent que l'expression de la Ca²⁺-ATPase cardiaque dans le SR est régulée par la surcharge de pression et le stade de développement, au moins en partie, au niveau pré-translationnel.

Puis selon cette investigation il est donné une [recette nouvelle pour la purification de fragments tryptiques limités de Ca²⁺,Mg²⁺-adénosine triphosphatase du réticulum sarcoplasmique et identification de sites de clivage sensibles à la conformation](#). Des analyses de la séquence d'acides aminés N- et C-terminale de ces peptides ont été effectuées afin d'identifier les sites de clivage tryptique responsables de la formation de ces fragments. Les fragments A1a et A1b avaient la même séquence C-terminale que le fragment A1. Un clivage unique de A1 à T3a (Lys218-Ala219) a donné A1a, tandis qu'un clivage entre Lys234-Ile235 ou Arg236-Asp237 (désignés collectivement comme T3b) a donné le fragment A1b. Ainsi, les fragments A1a et A1b ne diffèrent du fragment A1 que par la perte de courts tronçons correspondant à la région N-terminale de ce dernier. D'autre part, le fragment C représente la moitié C-terminale du fragment B (Ala506-Gly994). Il avait la même séquence C-terminale que le fragment B et a été produit par clivage à T4 (Lys728-Thr729). Les clivages à T3a et T3b ont profondément affecté les propriétés catalytiques de la SR, et il a été suggéré que le segment de la molécule ATPase comprenant la région entre Ala199 et Arg236 est important dans la médiation du couplage entre la séparation de l'ATP et le transport du Ca²⁺.

En 1990, l'étude présentée ici concerne [l'expression de l'isozyme Ca-ATPase dans le réticulum sarcoplasmique qui est modifiée par la stimulation chronique du muscle squelettique](#). La stimulation chronique d'un muscle squelettique à prédominance rapide augmente l'expression de la Ca-ATPase de type I (muscle lent) et supprime l'expression de la Ca-ATPase de type II (muscle rapide). Les anticorps monoclonaux IID8 et IIIH11 contre les isoenzymes de type I (lent) et de type II (rapide) respectivement, ont été utilisés pour typer les Ca-ATPases du SR (réticulum sarcoplasmique) isolé par Western blots, et les Ca-ATPases des

fibres musculaires par immunohistochimie. Parmi les fibres des muscles témoins, 80 % se sont colorées pour l'isoenzyme de type II et 20 % pour l'isoenzyme de type I. Après une stimulation chronique, toutes les fibres se sont colorées pour l'isoenzyme de type II. Après une stimulation chronique, toutes les fibres se sont colorées pour l'isoenzyme de type I et aucune ne s'est colorée pour l'isoenzyme de type II. La distribution des isoenzymes de la Ca-ATPase dans les SR isolés a confirmé cet effet de la stimulation chronique. Les activités d'absorption du calcium des homogénats des muscles stimulés représentaient 22 % de celles des muscles témoins. Les activités de la Ca-ATPase et de l'absorption du calcium des SR isolés des muscles stimulés représentaient, respectivement, 32 et 45 % des muscles témoins.

Cette même année, un travail détaillé présente une nouvelle [approche de la cristallisation tridimensionnelle de la Ca\(2+\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique](#). Une procédure d'extraction sélective a été appliquée pour obtenir différentes protéines des vésicules du réticulum sarcoplasmique en suivant les principales étapes des observations précédentes. Une concentration élevée d'un détergent non ionique, tel que le polyoxyéthylène-10-lauryl éther (C12E10) a empêché la formation de cristaux de Ca(2+)-ATPase. Il a été observé que seule la protéine de 300 kDa pouvait induire la cristallisation parmi les protéines non dissoutes de la membrane. Une modification de la procédure de MacLennan - **appliquée pour la précipitation de l'ATPase à partir du réticulum sarcoplasmique solubilisé au désoxycholate** - a été décrite et une Ca(2+)-ATPase précipitée à l'acétate d'ammonium a été utilisée dans les expériences pour augmenter la concentration de Ca(2+)-ATPase dans le processus de cristallisation. La supplémentation répétée de Ca(2+)-ATPase purifiée et solubilisée C12E10 avec de la Ca(2+)-ATPase précipitée à l'acétate d'ammonium a permis la formation de cristaux de plus en plus grands avec une périodicité différente.

Avec cette étude on a une meilleure connaissance de la [détermination de la structure primaire des sites de réticulation intermoléculaire sur la Ca²⁺\(+\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique en utilisant du N,N'-\(1,4-phénylène\)bismaléimide ou du N-éthylmaléimide marqué au 14C](#). La densité de marquage du [14C]NEM a diminué de 2 à 1 mole par mole d'ATPase lorsque les vésicules SR ont pu réagir avec le [14C]NEM en présence d'AMPPNP. A partir de l'analyse de la composition en acides aminés des deux principaux peptides marqués au [14C]NEM isolés du digest thermolytique de l'enzyme après la réaction des SR avec le [14C]NEM en l'absence d'AMPPNP, nous avons déduit que le [14C]NEM était incorporé dans les Cys377 et Cys614. D'autre part, le marquage de SR en présence d'AMPPNP a entraîné l'inhibition de la liaison du [14C]NEM à la Cys614, laissant la Cys377 inchangée.

En 1991, une nouvelle recette est fournie par cette étude pour [l'isolation du réticulum sarcoplasmique cardiaque de rat avec une meilleure absorption du Ca²⁺ et une meilleure liaison à la ryanodine](#). Le taux moyen d'absorption de Ca²⁺ par le CSR isolé de rat en présence de 10 mM d'oxalate à 37 degrés C était de 0,45 mumols/min-mg en l'absence de bloqueurs de canaux Ca²⁺ du CSR et de 0,87 mumols/min-mg en présence de 10 microM de rouge de ruthénium. L'activité ATPase Ca(2+)-dépendante dans les conditions d'absorption soutenue par l'oxalate était de 1,25 mumols/min-mg et de 0,84 mumols/min-mg en l'absence et

en présence de 10 microM de rouge de ruthénium, respectivement. Les vésicules du CSR de rat ont fixé la 3H-ryanodine avec une K_d de 1,45 nM et une B_{max} de 3,7 pmol/mg. Le niveau d'intermédiaire phosphorylé était de 0,30 nmol/mg. Les valeurs B_{max} , EP et l'activité Ca^{2+} -ATPase sont d'un tiers à la moitié de celles précédemment rapportées pour les vésicules isolées du CSR canin. Ces résultats suggèrent que le CSR isolé du rat pourrait être assez similaire au CSR du chien.

En 1992, cette nouvelle analyse confirme les [fonctions de liaison intramoléculaire à longue portée dans l'activation et l'inhibition des SERCA ATPases](#). Les ATPases du Ca^{2+} du sarcoplasme et du réticulum endoplasmique (SERCA) constituent une famille d'enzymes qui assurent l'importante fonction de régulation du Ca^{2+} cytoplasmique et partagent de vastes homologies structurelles et fonctionnelles. La caractéristique fonctionnelle de base de l'ATPase de transport du Ca^{2+} peut être démontrée par une expérimentation à l'état « présteady state » montrant que la formation d'un intermédiaire enzymatique phosphorylé et l'internalisation (ou occlusion) simultanée de deux moles de calcium lié par mole d'enzyme se produisent après l'addition d'ATP à l'enzyme pré-incubée avec du Ca^{2+} . Le clivage hydrolytique du phosphoenzyme suit après une période de latence, permettant ainsi la répétition des cycles et l'apparition d'un état d'équilibre. La même séquence cinétique est obtenue lorsque l'ATP est remplacé par de l'acétylphosphate, ce qui indique que la partie adénosine du substrat n'est pas essentielle.

En 1995, il apparaît selon ce travail de nouvelles informations sur [le type SERCA3 des pompes \$Ca^{2+}\$ organellaires](#). De toutes les pompes SERCA, la SERCA3 est la dernière à avoir été décrite et la moins bien connue. Sa structure primaire s'écarte plus que d'habitude des autres membres de la famille SERCA. On ne sait pas si son affinité remarquablement faible pour le Ca^{2+} ($K_{0,5} > 1$ microM), observée lors de son expression dans le système cellulaire COS, se produit également dans son contexte cellulaire normal. SERCA3 est particulièrement exprimé à des niveaux élevés dans différents types de cellules sanguines et de cellules apparentées comme les plaquettes, les lymphocytes, les mastocytes et les cellules endothéliales artérielles. On le trouve également dans les neurones de Purkinje cérébelleux. La signification physiologique de ce profil d'expression reste inconnue.

Il est alors passé en revue l'existence d'une modulation de [l'activité de SERCA2 suite à un épissage régulé et une interaction avec le phospholamban](#). L'absorption du Ca^{2+} dans les réserves intracellulaires est médiée par les Ca^{2+} -ATPases du sarco/réticulum endoplasmique (SERCA). Cette revue traite d'abord de la structure du gène et de la caractérisation du traitement de la transcription de SERCA2 spécifique au tissu. Ensuite, les deux différentes isoformes de la protéine et leur régulation sont décrites. Enfin, cette revue se termine par une discussion sur le rôle physiologique possible de la diversité des isoformes de SERCA2.

Puis on aura dans ce travail, [une caractérisation de l'ADNc et de l'ADN génomique codant pour SERCA1, la \$Ca^{2+}\$ -ATPase du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique](#)

[humain à contraction rapide, et son élimination comme gène candidat pour la maladie de Brody.](#) L'ADN génomique a une longueur de 26 kb et contient 23 exons, dont un peut être épissé alternativement. Les emplacements de chacune des limites exon/intron sont les mêmes que ceux identifiés précédemment dans le gène ATP2A1 du lapin. La maladie de Brody est un trouble héréditaire des muscles squelettiques, caractérisé par une altération de la relaxation musculaire induite par l'exercice. On a supposé qu'elle résultait d'une déficience en SERCA1. Dans le cadre de la recherche de la base génétique de la maladie de Brody, la séquence codante du gène ATP2A1 chez un patient atteint de la maladie de Brody et les séquences complètes de deux ADNc de SERCA1 chez deux autres patients atteints de la maladie de Brody, non apparentés, ont été comparées aux séquences ATP2A1 normales. Dans les trois cas, les séquences de codage et de jonction d'épissage étaient normales, ce qui indique que les **formes de la maladie de Brody manifestées chez ces trois patients ne sont pas causées par des mutations dans les régions de codage ou de jonction d'épissage du gène ATP2A1.**

Avec l'ensemble des informations acquises il est alors possible de dresser chez l'homme l'ensemble des données de séquences sur la famille des SERCA comme cela est présenté dans le tableau ci-contre. .

Tableau récapitulatif des différentes séquences des ATPase calcique du réticulum sarcoplasmique/endoplasmique (SERCA)			
Protéine	PM	Locus gène	Distribution
SERCA 1 ATP2A1	110 kDa	16q24.1	Muscle squelettique
Serca 2 ATP2A2	115 kDa	12q21.3	Muscles cardiaque et squelettique
SERCA 3 ATP2A3	109kDa	17p13.3	Non musculaire

En 1998, cette analyse apporte de [plus précises informations sur le rôle du phospholambane et du SERCA3 dans la régulation des mécanismes de signalisation des muscles lisses et des cellules endothéliales : preuves apportées par des souris ablatées.](#) Des études sur la souris ablatée du gène PLB (=phospholambane) indiquent que la contractilité vasculaire est considérablement altérée. Ceci est reflété par des changements dans le Ca²⁺ intracellulaire. De plus, les différences de contractilité des tissus porteurs du gène sont éliminées par un traitement à l'acide cyclopiazonique, qui abolit pharmacologiquement la fonction SER en inhibant la Ca(2+)-ATPase. Ainsi, la modulation par les PLB de l'absorption du Ca²⁺ du

réticulum sarcoplasmique (SR) joue un rôle majeur dans la modulation de la contractilité vasculaire. Il est intéressant de noter que la relaxation dépendante de l'endothélium était réduite dans l'aorte déficiente en PLB. Ceci est surprenant à la lumière de la distribution de la PLB, que l'on pensait limitée aux muscles cardiaques, squelettiques lents et lisses. Nos données indiquent la présence de la PLB dans les cellules endothéliales et mettent en évidence une voie non reconnue de modulation du $[Ca^{2+}]_i$ des cellules endothéliales et de la contractilité vasculaire. Les données provenant de tissus musculaires lisses de la souris ablatée pour le gène SERCA3 démontrent que cette isoforme affecte la fonction dépendante de l'endothélium, mais pas celle du muscle lisse, ce qui correspond à sa distribution connue. Cette isoforme semble exercer une fonction modulatrice, plutôt que le rôle plus essentiel de SERCA2. Les modèles transgéniques et ciblés par des gènes constituent une voie importante pour comprendre le rôle du SER dans la signalisation vasculaire.

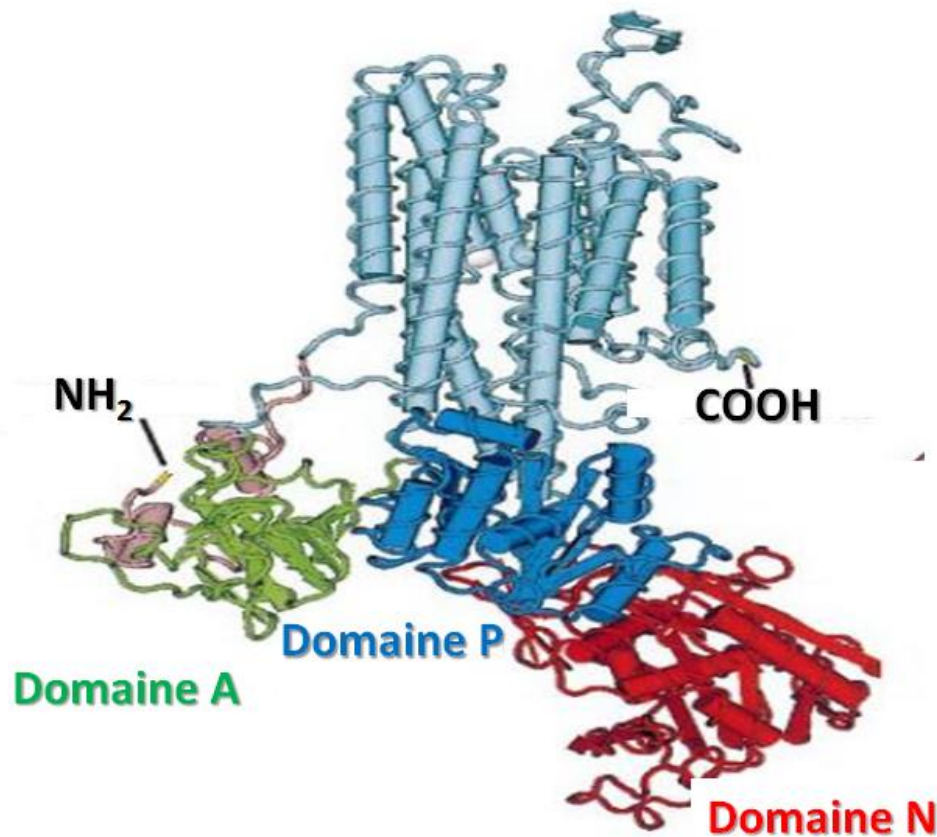
En 1999, une mise à jour existe maintenant sur les [pompes Sarco/réticulum endoplasmique \$Ca^{2+}\$ \(SERCA\)](#). **Il est présenté l'existence d'un lien avec les battements cardiaques et les ondes calciques.** Cet article résume la structure, la fonction, la distribution tissulaire et subcellulaire, et la régulation des différentes isoformes de SERCA. Il tente ensuite de relier les divergences dans les processus de transduction des signaux des cellules aux types et aux niveaux de protéines SERCA qu'elles expriment et à la façon dont les cellules régulent l'activité de leur pompe SERCA. L'article examine les liens possibles entre les pompes SERCA et l'entrée de Ca^{2+} activée par les récepteurs, la localisation des isoformes de SERCA et les ondes Ca^{2+} , et le rôle des pompes SERCA dans le Ca^{2+} nucléaire dans la prolifération cellulaire et l'apoptose. Il utilise ensuite les informations disponibles sur la fonction cardiaque et la stimulation chronique du muscle à contraction rapide pour répondre à une série de questions fondamentales sur la régulation de l'activité et de l'expression de SERCA et leur lien avec la transduction du signal. Enfin, il examine la possibilité que les neurones présentent des ondes complexes de Ca^{2+} dont les interactions pourraient expliquer la base opérationnelle des réseaux neuronaux. Une série de questions sans réponse émerge de cette synthèse, y compris la question troublante de savoir si toutes les isoformes sont nécessaires pour obtenir la divergence dans la transduction du signal ou s'il existe un degré de redondance dans le système.

En 2001, l'article présente le [mécanisme d'expression des gènes SERCA régulé par les hormones thyroïdiennes dans le muscle squelettique](#). Cela permet de présenter l'ensemble des implications pour la thermogénèse. **L'isoforme du muscle rapide de la Ca^{2+} -ATPase (SERCA1) et l'isoforme du muscle lent (SERCA2a)** sont codées par deux gènes dont la transcription est régulée par la T3. L'isoforme SERCA1 peut être exprimée à des niveaux considérablement plus élevés que l'isoforme SERCA2a. La stimulation de la transcription du gène SERCA1 par la T3 est médiée par deux éléments de réponse aux hormones thyroïdiennes, situés dans le promoteur de ce gène. Le $[Ca^{2+}]_i$ intracellulaire peut moduler l'effet de la T3. L'augmentation de l'activité de la Ca^{2+} -ATPase du SR observée lorsque les niveaux de T3 dépassent la normale, résulte de l'induction de l'expression de SERCA1 dans les fibres musculaires lentes. Les niveaux élevés concomitants d'activité Ca^{2+} -ATPase sont associés à une régulation négative de l'expression de SERCA2a dans ces fibres.

L'augmentation dépendante de la T3 observée de l'expression de SERCA1 et de l'activité Ca²⁺-ATPase associée augmentera le taux métabolique global de l'organisme de manière significative dans des conditions normales, en raison du niveau moyen élevé d'activité contractile des fibres lentes. Compte tenu de l'augmentation des taux sériques de T3 lors d'une exposition prolongée au froid, ces données suggèrent que la stimulation de l'expression de SERCA1 spécifique à chaque fibre contribue à la réponse thermogénique dans la thermogénèse sans frisson. Ce mécanisme peut être particulièrement pertinent chez les grands mammifères, qui ont un pourcentage relativement élevé de fibres lentes dans le muscle squelettique, et qui doivent compter sur des tissus autres que la graisse brune pour la génération de chaleur supplémentaire.

Il est relaté dans ce travail la présence de [similitudes structurelles de la Na,K-ATPase et du SERCA, la Ca\(2+\)-ATPase du réticulum sarcoplasmique](#). En dehors de ces segments les plus conservés, les similarités structurelles sont moins certaines, et la topologie transmembranaire prédite diffère entre les sous-classes. Dans cette revue, les régions homologues de plusieurs ATPases de type P représentatives sont alignées avec la séquence de SERCA et cartographiées sur la structure de SERCA pour comparaison. L'homologie entre SERCA et la Na,K-ATPase est plus importante qu'avec toute autre ATPase, même avec PMCA, la Ca(2+)-ATPase de la membrane plasmique. Les caractéristiques structurelles de la Na,K-ATPase sont projetées sur la structure cristalline de la Ca(2+)-ATPase pour évaluer la probabilité qu'elles partagent le même pli. L'homologie s'étend sur les dix travées transmembranaires, et la plupart des insertions et des suppressions sont prévues à la surface. Les emplacements de résidus spécifiques sont examinés, comme les sites de clivage protéolytique, les sites de réticulation intramoléculaire et les sites de liaison de certaines autres protéines. Dans l'ensemble, la similarité soutient un pli partagé, avec quelques exceptions particulières. Dans le schéma est présentée la **structure cristalline de SERCA1a**. En partant de l'extrémité N-terminale, le domaine A est composé de l'extrémité N-terminale cytoplasmique (rose), qui forme deux courtes hélices α , et de la première boucle cytoplasmique entre M1 et M2 (vert), qui est repliée comme une structure en rouleau déformée. Ce domaine est relié à M1, M2 et M3 par de longues séquences étendues qui fournissent apparemment une flexibilité conformationnelle, car on pense que le domaine subit une rotation substantielle dans différents états conformationnels [3]. Le domaine transmembranaire (bleu clair) contient 10 hélices α de longueurs différentes, apportées par le tiers N-terminal et le tiers C-terminal de la molécule. Deux ions Ca²⁺ co-cristallisés apparaissent sous forme de sphères blanches. La grande boucle intracellulaire entre M4 et M5 est en fait repliée en deux domaines distincts, l'un émergeant de l'autre. Les portions les plus proches de M4 et M5 se rejoignent pour former le domaine P (bleu), avec un pliage de Rossmann incluant un feuillet β apporté par les deux portions. Dans le prolongement de ce domaine se trouve le domaine N (rouge), avec un feuillet β à 7 brins pris en sandwich par des faisceaux d'hélices. Il est prévu que ce domaine soit articulé pour lui permettre de s'incliner de 20° plus près du domaine P, rapprochant ainsi les deux moitiés du site actif.

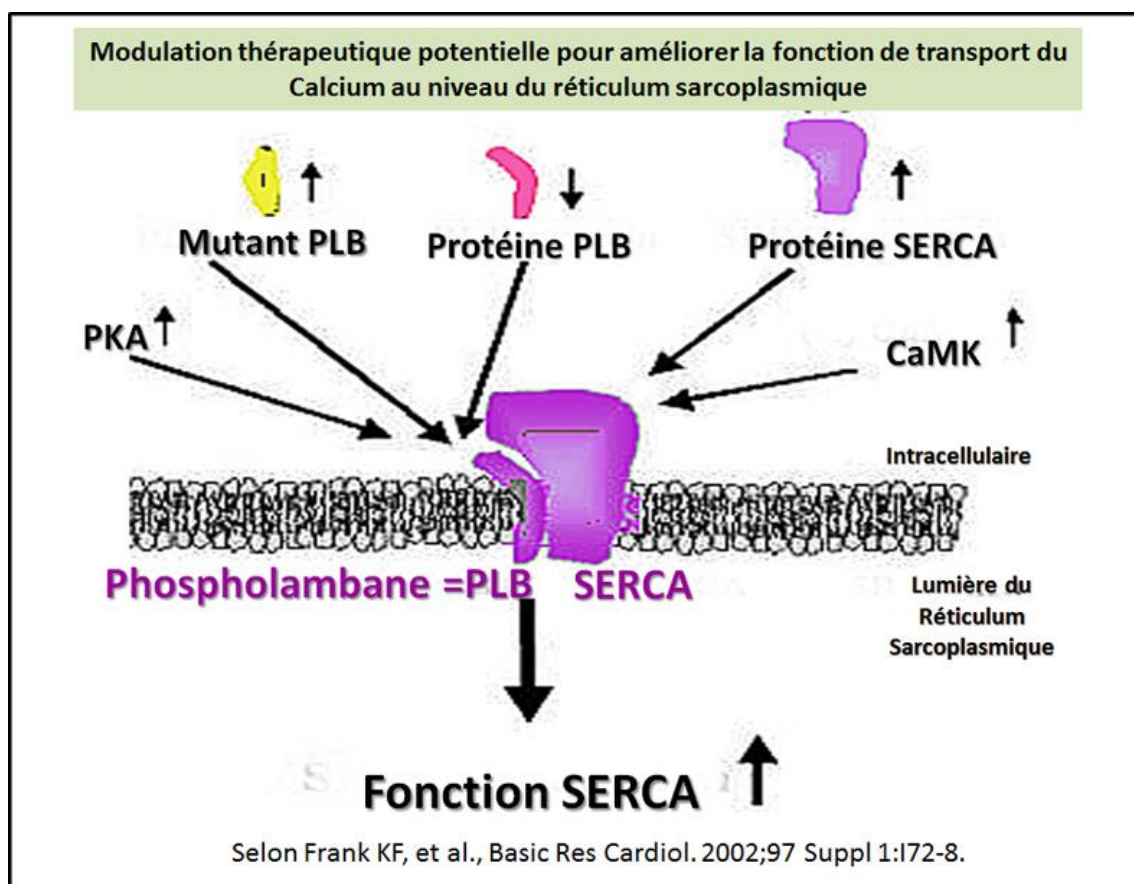
Structure cristalline de SERCA1a



Selon Sweadner KJ, Donnet C. Biochem J. 2001 Jun 15;356(Pt 3):685-704.

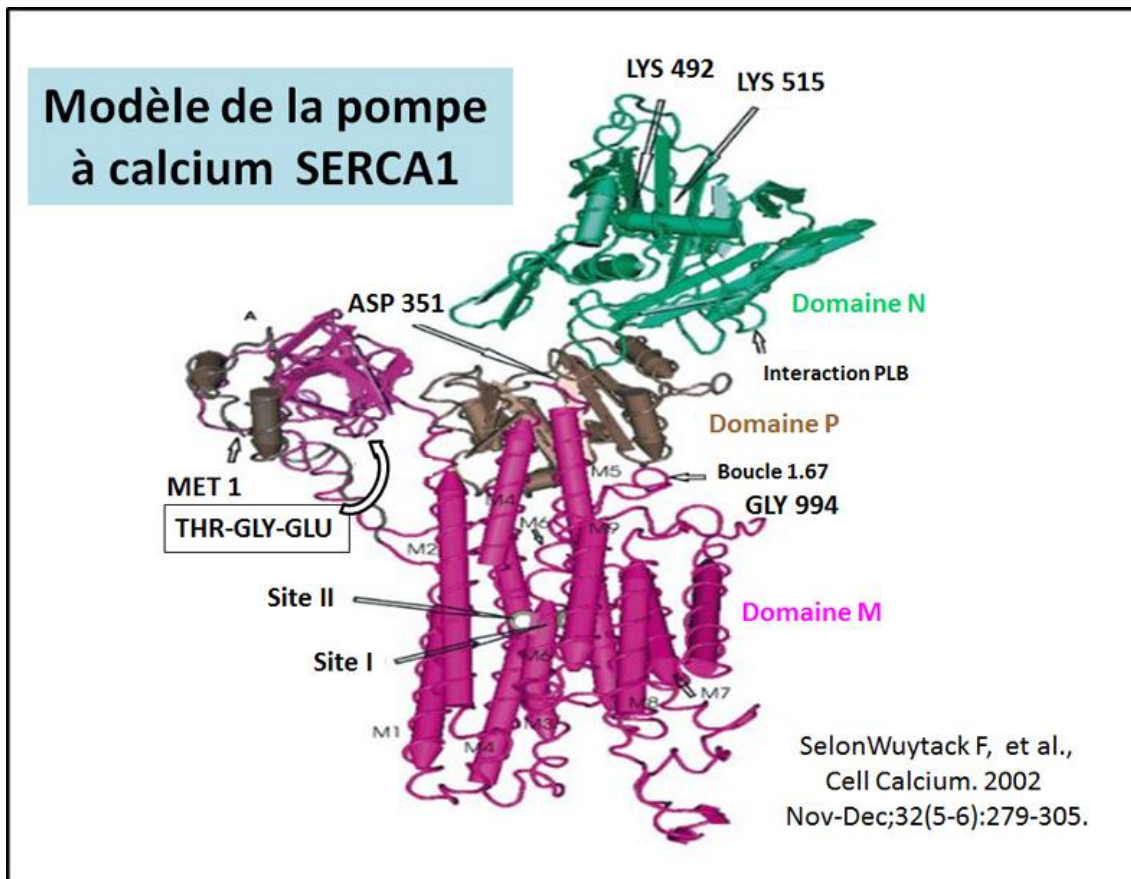
En 2002, dans ce travail il est indiqué que [la modulation du SERCA avait des conséquences pour le cœur humain défaillant](#). Ainsi, dans diverses études, l'expression de SERCA semble être diminuée dans le cœur humain défaillant, bien que ces résultats aient été discutés de manière controversée en fonction du tissu étudié, notamment en ce qui concerne les échantillons non défaillants et la variation régionale des échantillons obtenus. Cependant, des résultats cohérents d'une diminution de l'activation SERCA dépendante du Ca²⁺ ont été trouvés. De plus en plus d'éléments indiquent que l'un des mécanismes sous-jacents de la diminution de l'activation du SERCA est sa régulation altérée. À cet égard, les modulations par le phospholamban et la protéine kinase II dépendante du Ca²⁺ (CaMK II) jouent un rôle néfaste dans la régulation de la fonction SERCA. La phosphorylation du SERCA par le phospholamban au niveau des sites sérine-16 et thréonine-17 est diminuée dans l'insuffisance cardiaque humaine, ce qui entraîne une diminution de l'affinité apparente pour le Ca²⁺ des taux d'absorption du Ca²⁺ par la SR. En revanche, l'activation de la CaMK II entraîne une augmentation de la vitesse maximale de séquestration du Ca²⁺ dans le SR, ce qui peut accroître la charge en Ca²⁺ du SR. Une régulation supplémentaire a été récemment élucidée

par des changements dans le rapport de couplage apparent du Ca^{2+} transporté par ATP hydrolysé. Cette revue résume les avancées récentes dans la compréhension de la modulation du SERCA dans des conditions physiologiques et pathophysiologiques. Un schéma présente l'ensemble des concepts actuels et la **modulation thérapeutique potentielle pour améliorer la fonction de transport du Ca^{2+} SR**. Dans des modèles animaux et des myocytes humains provenant de myocardiens non défaillants et défaillants du myocarde il existe une augmentation de la fonction de transport du Ca^{2+} dans le RS qui a été obtenue en surexprimant le Phospholambane dominant-négatif en réduisant les niveaux de phospholamban ou en augmentant l'expression et la fonction de SERCA. Les augmentations de la fonction de transport de SERCA in vitro ainsi qu'in vivo est possible par des augmentations de l'activité de la PKA et du CaMK II, bien que cela entraîne également des effets régulateurs non spécifiques sur d'autres cibles dans le myocyte cardiaque.



Cette nouvelle analyse concerne [la physiologie moléculaire des pompes SERCA et SPCA](#). Cette revue se concentre principalement sur les différentes ATPases de transport du Ca^{2+} présentes dans les compartiments intracellulaires des cellules animales non-musclées : les pompes Ca^{2+} -ATPase du réticulum sarco(endo)plasmique (SERCA). Bien que nous n'ayons pas l'intention de traiter en profondeur les ATPases du réticulum sarcoplasmique spécialisé, nous pouvons difficilement ignorer la pompe SERCA1 du muscle squelettique à contraction rapide puisque sa structure et sa fonction sont de loin les mieux comprises et qu'elle peut servir de guide pour comprendre les autres membres de la famille. Dans la

deuxième partie de cette revue, nous décrivons la famille relativement nouvelle des ATPases Ca²⁺/Mn²⁺ de la voie sécrétoire (SPCA), qui, dans les cellules eucaryotes, se trouvent principalement dans le compartiment de Golgi. Dans cet article, une illustration présente le **modèle de la pompe à Ca²⁺ SERCA1** dans la conformation E1 (fichier PDB 1EUL). Le point de vue est latéral mais à une certaine distance au-dessus de la surface cytosolique de la membrane. Cette orientation montre clairement les connexions flexibles entre les domaines A (bleu) et M (rouge) et entre les domaines N (vert) et P (brun). L'image a été générée avec le programme Cn3D (NCBI). Les positions de certains des résidus critiques sont indiquées.



Par ailleurs de nouvelles données figurent dans cet article [sur la Ca²⁺-ATPases \(SERCA\) : la transduction d'énergie et la production de chaleur dans les ATPases de transport.](#) La Ca²⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique est capable de cliver l'ATP par deux voies catalytiques différentes. Dans l'une d'elles, une partie de l'énergie chimique dérivée de l'hydrolyse de l'ATP est utilisée pour transporter le Ca²⁺ à travers la membrane et une partie est dissipée sous forme de chaleur. Dans la deuxième voie, l'hydrolyse de l'ATP est achevée avant le transport du Ca²⁺ et toute l'énergie dérivée de l'hydrolyse de l'ATP est convertie en chaleur. La deuxième voie est activée par l'augmentation de la concentration de Ca²⁺ dans la lumière de la vésicule. Dans les vésicules provenant de muscles squelettiques blancs, la vitesse de l'ATPase non couplée est plusieurs fois supérieure à celle de l'ATPase couplée au transport du Ca²⁺, ce qui explique à la fois le faible rapport Ca²⁺/ATP habituellement mesuré pendant le transport et la différence de chaleur produite pendant l'hydrolyse de l'ATP par les vésicules

intactes et les vésicules qui fuient. Il a ainsi été constaté que différents médicaments inhibent sélectivement l'activité ATPase non couplée sans modifier l'activité couplée au transport du Ca^{2+} . Lorsque les vésicules sont activement chargées, une partie du Ca^{2+} accumulé fuit vers le milieu par l'ATPase. De la chaleur est produite ou libérée pendant cette fuite, selon que l'efflux de Ca^{2+} est couplé ou non à la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de Pi.

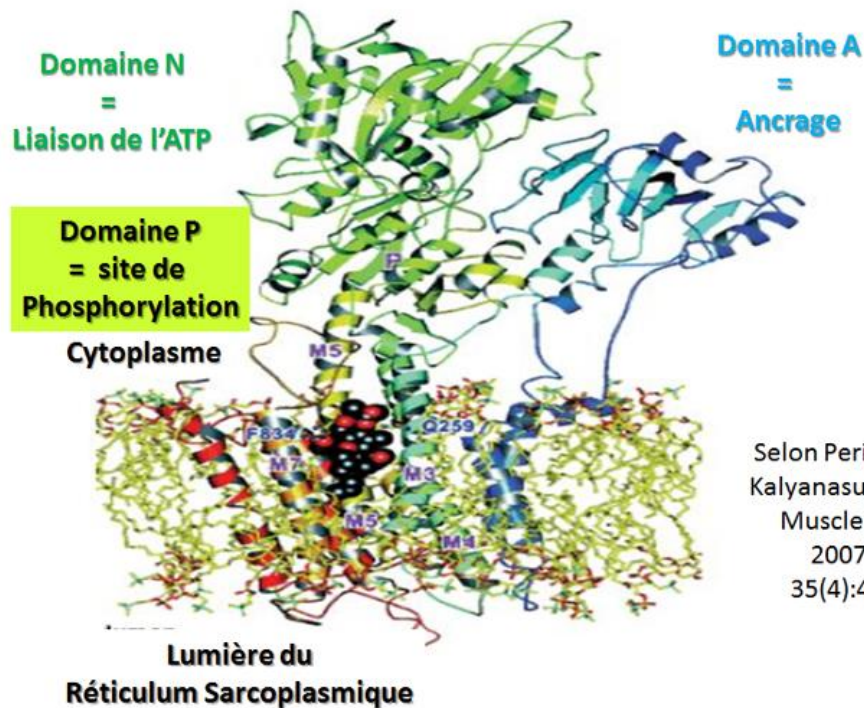
En 2003, avec cette nouvelle investigation il est possible d'[accéder en détail aux fonctions physiologiques de la membrane plasmique et des pompes \$\text{Ca}^{2+}\$ intracellulaires révélées par l'analyse de mutants nuls](#). Une information commence à émerger des études de souris et d'humains porteurs de mutations nulles dans les gènes correspondants. Les souris présentant des mutations ciblées ou spontanées de l'isoforme 2 de la Ca^{2+} -ATPase de la membrane plasmique (PMCA2) sont profondément sourdes et présentent un défaut d'équilibre dû à la perte de PMCA2 dans les cellules ciliées sensorielles de l'oreille interne. Chez l'homme, **les mutations du SERCA1 (ATP2A1) provoquent la maladie de Brody**, un trouble de la relaxation des muscles squelettiques ; **la perte d'une copie du gène SERCA2 (ATP2A2) provoque la maladie de Darier**, un trouble cutané ; et **la perte d'une copie du gène SPCA1 (ATP2C1) provoque la maladie de Hailey-Hailey**, un autre trouble cutané. Chez la souris, les mutants nuls SERCA2 ne survivent pas jusqu'à la naissance, et les mutants SERCA2 hétérozygotes ont une performance cardiaque altérée et une incidence élevée de cancers des cellules squameuses. Les mutants nuls SERCA3 survivent et semblent en bonne santé, mais la relaxation du muscle lisse vasculaire dépendante de l'endothélium est altérée et la signalisation du Ca^{2+} est modifiée dans les cellules bêta du pancréas. La diversité des phénotypes indique que les diverses isoformes de l'ATPase de transport du Ca^{2+} remplissent des fonctions physiologiques très différentes.

En 2004, cette autre analyse concerne [l'identification, l'expression, fonction et la localisation d'une nouvelle \(sixième\) isoforme du gène de la \$\text{Ca}^{2+}\$ -ATPase 3 du réticulum sarco/endoplasmique humain](#). Il a été étudié plus avant les relations structure-fonction-localisation des isoformes h3b et h3f. Une étude fonctionnelle comparative des protéines recombinantes h3b et h3f dans des cellules HEK-293 intactes et dans des membranes fractionnées a montré les caractéristiques distinctes suivantes : (i) concentration de Ca^{2+} cytosolique au repos ($[\text{Ca}^{2+}]_c$) et (ii) teneur en Ca^{2+} du SER ($[\text{Ca}^{2+}]_{er}$). Des caractéristiques similaires ont été montrées pour ce qui suit : (i) les effets de l'inhibiteur SERCA, la thapsigargin, sur la libération de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{Tg}$) et l'entrée ultérieure de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_e$) et (ii) la faible affinité apparente pour le Ca^{2+} et la vitesse accrue de déphosphorylation de l'intermédiaire phosphoenzyme E(2)P. La localisation subcellulaire de h3b et h3f par immunofluorescence et/ou microscopie confocale en utilisant les anticorps polyclonaux spécifiques de h3b et h3f et l'anticorps monoclonal pan-h3 (PL/IM430) a suggéré une localisation ER chevauchante mais distincte. L'expression endogène de la protéine h3f a également été prouvée dans les cellules U937. Dans l'ensemble, ces données suggèrent que les isoformes SERCA3 ont un rôle plus étendu dans la signalisation cellulaire du Ca^{2+} qu'on ne le pensait auparavant.

En 2007, il apparait selon cette étude des [données nouvelles sur la SERCA dans la genèse des arythmies](#) **La question est alors que savons-nous déjà et qu'y a-t-il de nouveau ?** L'affinité des sites de liaison au Ca^{2+} varie de élevée (E1) à faible (E2). Trois gènes SERCA différents ont été identifiés : SERCA1, SERCA2 et SERCA3. Le SERCA est principalement représenté par l'isoforme SERCA2a dans le cœur. Dans le muscle cardiaque, pendant la systole, la dépolarisation déclenche la libération de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (SR) et déclenche la contraction. Pendant la diastole, la relaxation musculaire se produit lorsque le Ca^{2+} est à nouveau éliminé du cytosol, principalement par accumulation dans le SR via l'action de SERCA2a. Le principal régulateur de SERCA2a est le phospholamban et un autre protéolipide régulateur de SERCA est la sarcolipine. De nombreuses études ont été menées sur l'effet de la diminution et/ou de l'augmentation de l'activité de SERCA dans la genèse de l'arythmie. En fait, la diminution et l'augmentation de l'activité SERCA dans le cœur entraînent certains mécanismes pathologiques tels que l'insuffisance cardiaque et l'arythmie.

Cette nouvelle approche porte [sur les isoformes de la pompe SERCA : leur rôle dans le transport du calcium et les maladies](#). La diversité des isoformes de SERCA est considérablement accrue par l'épissage alternatif des transcrits, qui se produit principalement à l'extrémité COOH. Actuellement, plus de 10 isoformes différentes de SERCA ont été détectées au niveau des protéines. Ces isoformes présentent une spécificité tissulaire et développementale, ce qui suggère qu'elles contribuent aux propriétés physiologiques uniques du tissu dans lequel elles sont exprimées. La fonction de la pompe SERCA est modulée par les molécules endogènes phospholamban (PLB) et sarcolipine (SLN), exprimées dans les muscles cardiaques et squelettiques. Le mécanisme d'action du PLB sur SERCA est bien caractérisé, alors que celui de la SLN commence seulement à être compris. La pompe SERCA jouant un rôle majeur dans la contraction musculaire, un certain nombre d'études ont cherché à comprendre son rôle dans les maladies des muscles cardiaques et squelettiques. Ces études montrent que l'expression et l'activité de la pompe SERCA sont réduites au cours du vieillissement et dans diverses conditions pathophysiologiques, notamment l'insuffisance cardiaque. Récemment, le transfert de gènes de la pompe SERCA s'est avéré efficace pour restaurer la fonction contractile du muscle cardiaque défaillant, soulignant ainsi son importance dans la physiologie musculaire et son utilisation potentielle comme agent thérapeutique. Structure cristalline de la thapsigargin (Tg) liée à la Ca^{2+} -ATPase intégrée dans la bicouche lipidique. **Le schéma suivant présente la structure cristalline de la SERCA qui confirme la présence de 10 hélices transmembranaires (M1-M10), de trois domaines cytoplasmiques, d'un domaine A (domaine d'actionnement ou d'ancrage), d'un domaine P (domaine de phosphorylation) et d'un domaine N où se lie l'ATP.** La Tg réside dans une cavité délimitée par les hélices M3, M5 et M7, près de la surface cytosolique de la membrane.

Structure cristalline de la SERCA

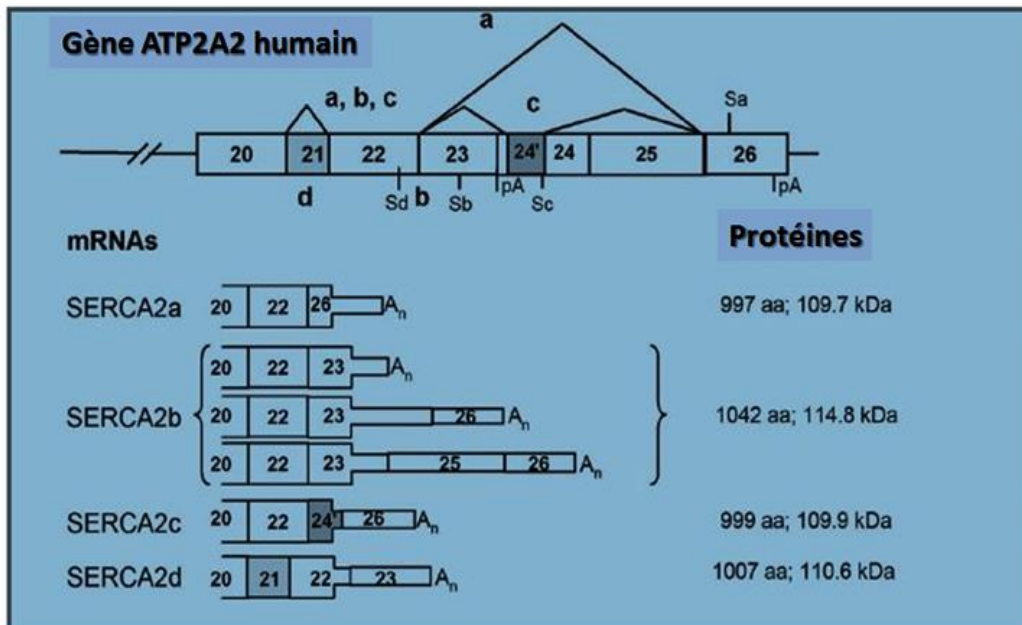


Il est mis en évidence dans cet article un répertoire sur [les pompes SERCA et les maladies humaines](#). Des défauts dans ATP2A1 codant pour SERCA1 provoquent la myopathie récessive de Brody, des mutations dans ATP2A2 codant pour SERCA2 sont à l'origine **d'une maladie cutanée dominante, la maladie de Darier** et ses variantes cliniques. L'expression de SERCA2a est réduite dans l'insuffisance cardiaque chez l'homme et dans des modèles murins. Des études de ciblage génétique chez la souris ont confirmé la fonction attendue de ces isoformes dans certains cas, mais ont également donné lieu à des phénotypes inattendus : Les mutants nuls de SERCA1 meurent d'insuffisance respiratoire, les souris mutantes hétérozygotes de SERCA2 développent un cancer de la peau avec l'âge et les souris nulles de SERCA3 ne présentent aucun diabète. Ces phénotypes uniques ont fourni des informations précieuses sur le rôle de ces pompes dans des tissus et des espèces spécifiques, et ont amélioré notre compréhension des processus régulés par le Ca^{2+} dans les muscles, le cœur et la peau chez l'homme et chez la souris. Bien que la compréhension de la pathogenèse de ces maladies soit encore incomplète, **ces avancées récentes laissent présager une meilleure connaissance des processus pathologiques et l'identification de nouvelles cibles pour les interventions thérapeutiques.**

En 2010, cette étude permet de [cibler la régulation redox de SERCA dans la physiologie et les maladies vasculaires](#). L'ATPase du calcium du réticulum sarco/endoplasmique (SERCA) est essentielle pour le contrôle des niveaux de Ca^{2+} libre intracellulaire. Bien que l'importance de cette enzyme dans les myocytes cardiaques soit bien reconnue, ce n'est que récemment que la SERCA a été identifiée comme un effecteur important de l'action de l'oxyde nitrique (NO) dans les cellules vasculaires. Le NO peut stimuler l'absorption de Ca^{2+} cytosolique via SERCA en adduisant le glutathion à la cystéine-674 réactive. La mutation de ce seul acide aminé empêche la stimulation de l'absorption du Ca^{2+} par le NO, ainsi que sa capacité à inhiber les fonctions des cellules musculaires lisses, y compris la migration. La fonction du NO est altérée dans diverses maladies cardiovasculaires, notamment le diabète, l'hypercholestérolémie et l'athérosclérose, qui sont toutes associées à un dysfonctionnement de SERCA causé par l'augmentation des oxydants dans ces maladies. **Cibler les sources d'oxydants dans les maladies vasculaires pour empêcher l'oxydation de SERCA et/ou augmenter l'expression de SERCA peut améliorer le développement des maladies vasculaires.**

Dans cette analyse il s'agit de mieux comprendre [la coexpression, la localisation et la régulation multiples et diverses des isoformes SERCA2 et SERCA3 supplémentaires dans le cœur humain non défaillant et défaillant](#). Les caractéristiques intrinsèques et les effets sur l'homéostasie cellulaire du Ca^{2+} des isoformes recombinantes SERCA2 et SERCA3 seront résumés. Les preuves de l'expression des ARNm de SERCA2c et SERCA3a, -3d, et -3f et/ou des protéines endogènes dans le cœur humain seront résumées, ces dernières ayant été visualisées grâce à des anticorps spécifiques des isoformes nouvellement générés. Nous montrerons comment la localisation stratégique des isoformes SERCA2c, SERCA3a, -3d, et -3f dans les compartiments cytoplasmiques et le noyau leur permet de contribuer à la signalisation sous-sarcolemmale, cytoplasmique et nucléaire du Ca^{2+} dans le cœur humain et les cardiomyocytes isolés. Les expressions comparées des isoformes supplémentaires de SERCA dans certains cœurs défaillants seront également résumées. Enfin, nous présenterons ce que l'on sait du rôle des isoformes SERCA2c, SERCA3a, -3d, ou -3f dans la physiopathologie du muscle cardiaque. Pour nous concentrer sur les sujets d'actualité, ce système multi-SERCA du cœur humain peut entretenir un compartiment interne distinct du réticulum endoplasmique (RE) dans les cardiomyocytes, ainsi que des mécanismes compensatoires potentiels et des anomalies à la fois du RE et du RE dans l'insuffisance cardiaque. Un premier schéma représente l'**épissage alternatif du gène SERCA2 humain**, la taille des protéines des isoformes de SERCA2 et les anticorps spécifiques de SERCA2 sélectionnés. La représentation de l'extrémité 3' du gène SERCA2. Les lignes brisées avec des lettres représentent les épissages alternatifs. Sa-Sc : position des codons stop pour les isoformes correspondantes. pA : position des sites de polyadénylation. Les cases grises correspondent aux nouveaux exons 21 et 24'. Là si la représentation de l'extrémité 3' des ARNm SERCA2a, -2b, et 2c et les tailles des protéines correspondantes. Les boîtes les plus larges sont des segments traduits, tandis que les boîtes les plus étroites sont des segments non traduits.

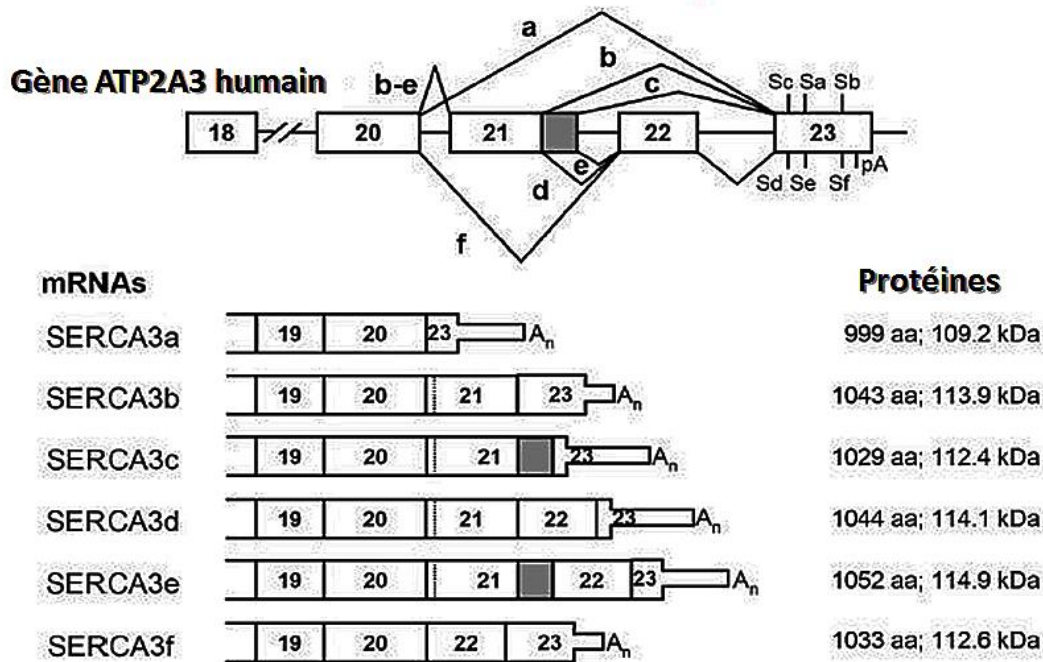
Épissage alternatif du gène SERCA2 humain



Selon Dally S, et al., J Mol Cell Cardiol. 2010 Apr;48(4):633-44.

De même, le schéma suivant **représente l'épissage alternatif du gène SERCA3 humain**, la taille des protéines des isoformes de SERCA3 et les anticorps spécifiques de SERCA3 sélectionnés. La représentation de l'extrémité 3' du gène SERCA3. Les cases représentent les exons. Les introns et les régions flanquantes en aval sont représentés par des lignes horizontales. Les lignes brisées avec des lettres représentent des épissages alternatifs. Sa-Sf : position des codons stop pour les isoformes correspondantes. pA : position du site de polyadénylation. La ligne pointillée dans l'exon 21 montre la partie 5' de l'exon 21 absente chez la souris et le rat. La boîte grise montre l'extension de l'exon 21 dans les ARNm SERCA3c et -3e. Là si la représentation de l'extrémité 3' des ARNm SERCA3a-SERCA3f et les tailles des protéines correspondantes. Les cases les plus larges sont des segments traduits, tandis que les cases les plus étroites sont des segments non traduits.

Épissage alternatif du gène SERCA3 humain

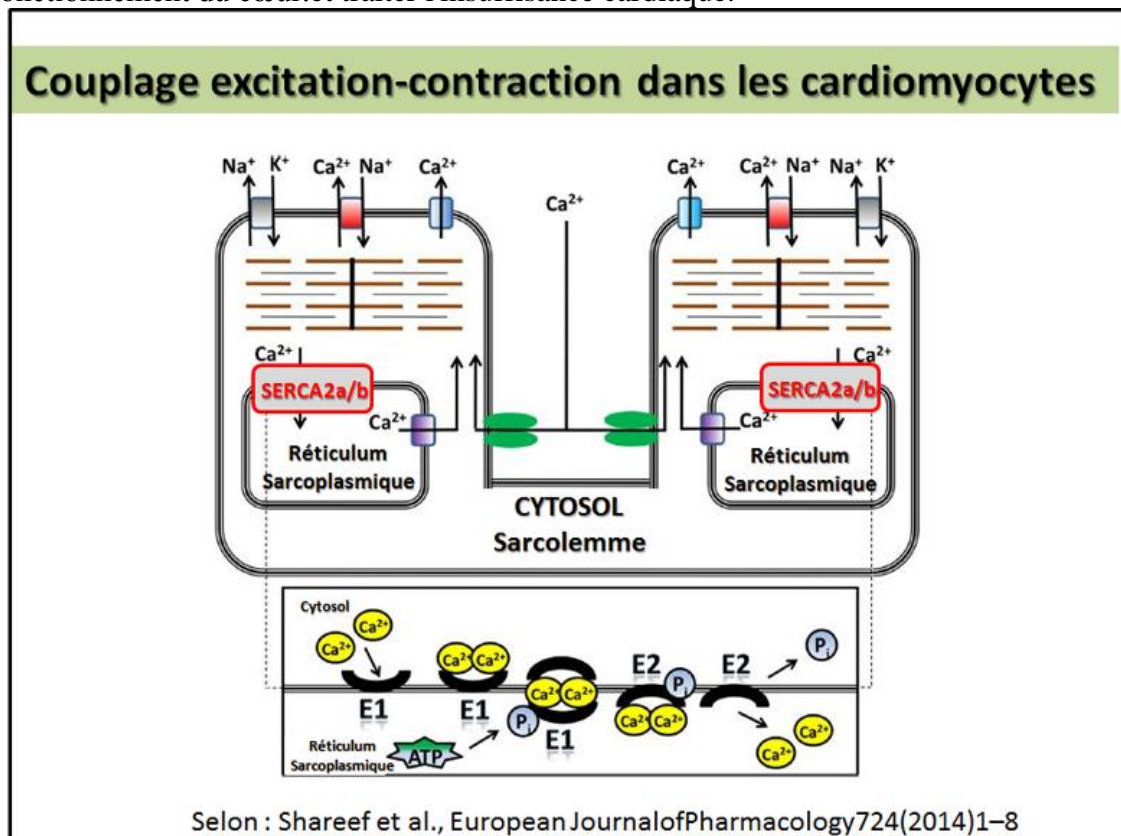


Selon Dally S, et al., J Mol Cell Cardiol. 2010 Apr;48(4):633-44.

En 2014, on trouve dans cette analyse de nouvelle donnée [sur la régulation de l'expression des pompes SERCA dans le diabète](#). Dans des conditions de repos, les Ca²⁺ ATPases (SERCA) du sarco/réticulum endoplasmique (RE/RS) transportent le Ca²⁺ du cytosol vers la lumière du RE ou du RS, maintenant le [Ca²⁺]_c de repos à environ 25-100nM. Une activité et une expression réduites de la protéine SERCA2 ont été décrites dans l'insuffisance cardiaque et la cardiomyopathie diabétique, entraînant une altération de la manipulation du Ca²⁺ et de la contractilité cardiaque. Dans le pancréas diabétique, on a signalé une réduction de l'expression de SERCA2b et SERCA3 dans les cellules β, ce qui entraîne une diminution de la sécrétion d'insuline. Des preuves obtenues à partir de différents modèles de diabète ont suggéré un rôle pour la formation de produits finaux de glycation avancée, le stress oxydatif et l'augmentation de l'O-GlcNAcylation dans la diminution de l'expression de SERCA2 observée dans la cardiomyopathie diabétique. Cependant, le rôle de la régulation négative de SERCA2 dans la pathophysiologie du diabète sucré et de la cardiomyopathie diabétique n'est pas encore bien décrit. Dans cette revue, **il est présenté une analyse complète des connaissances actuelles sur le rôle des pompes SERCA dans la physiopathologie du diabète sucré insulino-dépendant de type 1 (T1DM) et de type 2 (T2DM) dans le cœur et les cellules β du pancréas.**

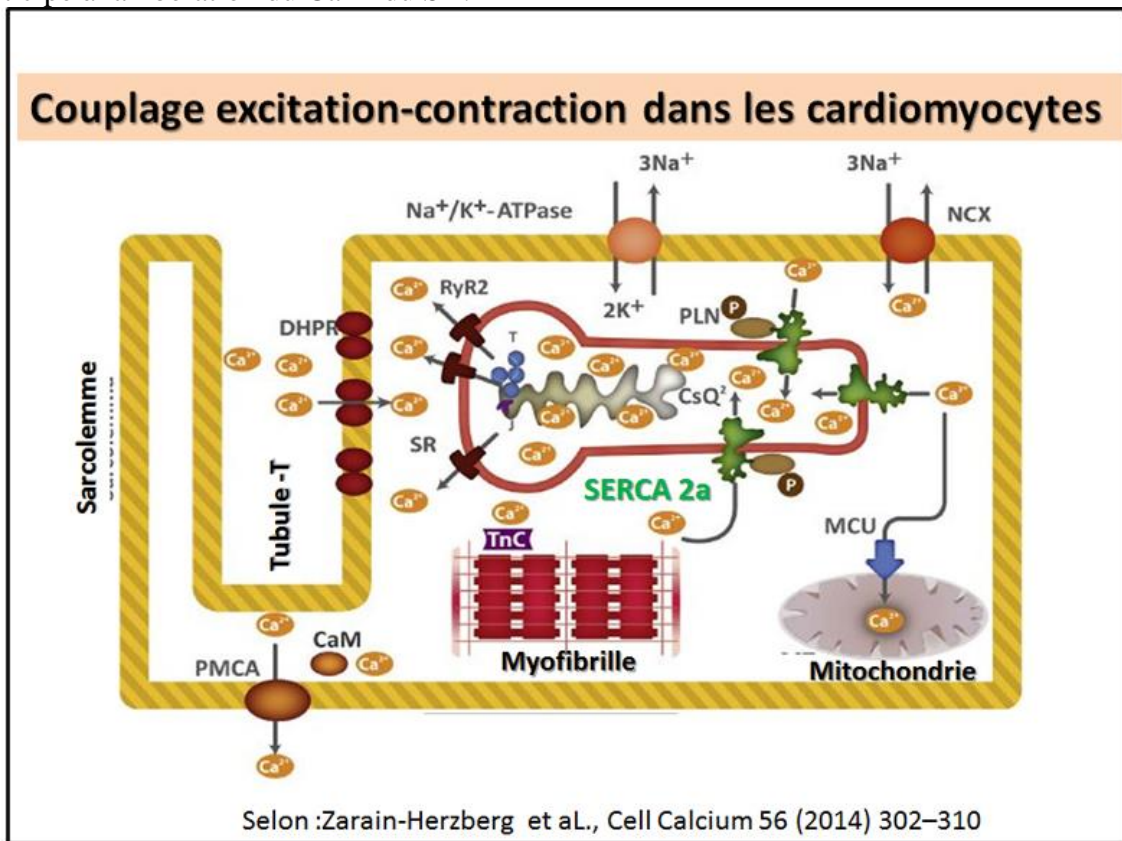
Le recyclage du calcium (Ca²⁺) est la clé d'une relaxation efficace du muscle cardiaque. La présence de calcium à travers le réticulum sarcoplasmique (SR) entraîne une détérioration sévère de la relaxation du myocarde et, par conséquent, une altération du rythme cardiaque "battement par battement" et une diminution de la fréquence cardiaque. et par conséquent une altération de la fonction contractile du rythme cardiaque "battement par battement". plasmique Ca²⁺ ATPase (SERCA) est un instrument qui permet de recycler le Ca²⁺

cytosolique dans la lumière du RS. Parmi les nombreuses formes de SERCA identifiées jusqu'à présent, SERCA2 est limité aux muscles squelettiques et cardiaques à faible contraction, tandis que SERCA2 est limité aux muscles cardiaques à faible contraction, tandis que SERCA2 est exprimé de manière ubiquitaire dans les principales maladies cardiaques telles que l'ischémie cardiaque, les cardiomyopathies et l'insuffisance cardiaque congestive. Le rétablissement d'une expression adéquate de l'expression de SERCA2a/b par une action pharmacologique ou par l'administration de médicaments est devenu une nouvelle approche pour le traitement des maladies cardiaques. Dans cette revue, nous décrivons les médicaments adoptés en pratique clinique qui activent le SERCA2a., ainsi que les nouveaux outils thérapeutiques prometteurs qui utilisent l'apport de gènes viraux de SERCA2 pour améliorer le fonctionnement du cœur.et traiter l'insuffisance cardiaque.



Ce travail présente [la SERCA2A/B cardiaque et les cibles thérapeutiques pour l'insuffisance cardiaque](#). Le recyclage du calcium (Ca^{2+}) est essentiel pour une relaxation efficace du muscle cardiaque. L'incapacité à recycler correctement le calcium à travers le réticulum sarcoplasmique (SR) entraîne une altération sévère de la relaxation myocardique et par conséquent une altération du rythme cardiaque " battement par battement " et de la fonction contractile. L'ATPase Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (SERCA) joue un rôle essentiel dans le recyclage du Ca^{2+} cytosolique dans la lumière du RS. Parmi les nombreuses isoformes de SERCA identifiées à ce jour, SERCA2a est limitée aux muscles squelettiques et cardiaques à contraction lente, tandis que SERCA2b est exprimée de manière ubiquitaire. L'expression et l'activité de SERCA2a/b sont altérées dans les principales maladies cardiaques telles que les cardiopathies ischémiques, les cardiomyopathies et l'insuffisance cardiaque congestive. La restauration d'une expression adéquate de SERCA2a/b par une action pharmacologique ou l'administration de gènes est apparue comme une nouvelle approche pour le traitement de l'insuffisance cardiaque. Dans cette revue, il y a la description des médicaments adoptés en pratique clinique qui activent la fonction de SERCA2a/b ainsi que

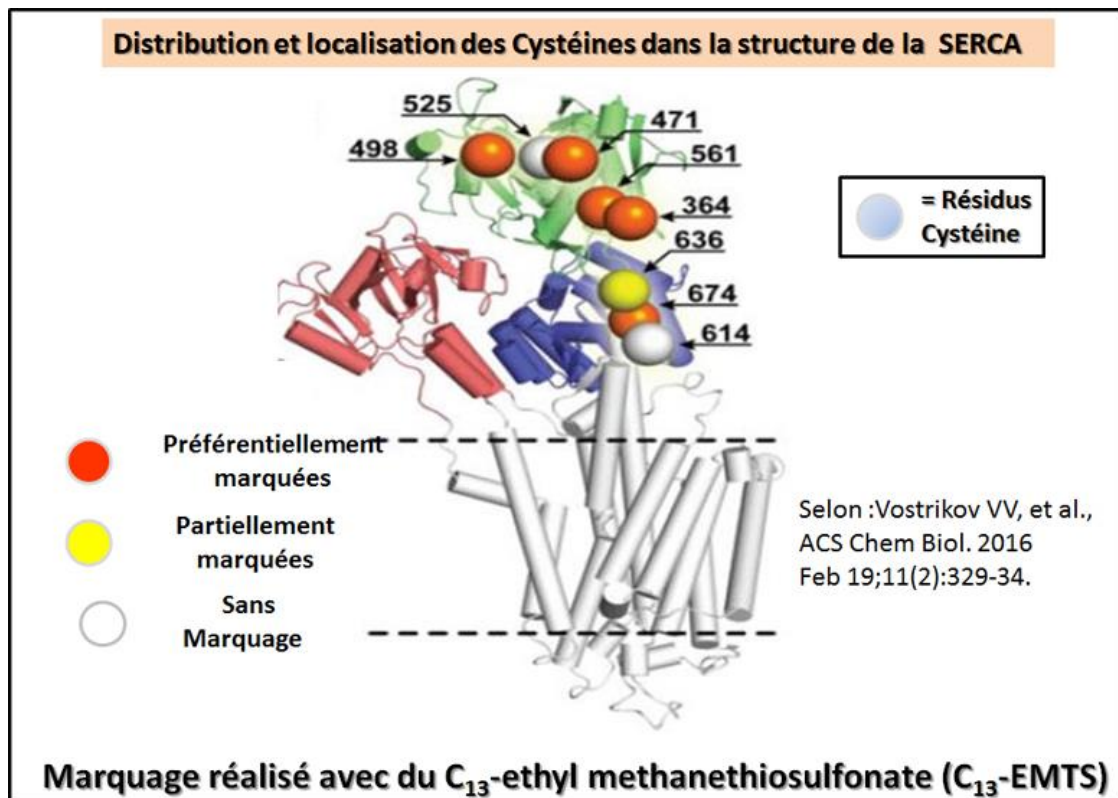
les nouveaux outils thérapeutiques prometteurs utilisant l'administration virale de gènes de SERCA2 pour améliorer la fonction cardiaque et traiter l'insuffisance cardiaque. **Le schéma suivant montre le recyclage du Ca²⁺ pendant le cycle contraction-relaxation dans le muscle cardiaque.** Notez les changements cycliques qui se produisent pour SERCA2 afin de délivrer le Ca²⁺ du cytosol dans la lumière de la SR contre le gradient de concentration en hydrolysant une molécule d'ATP pour chaque 2Ca²⁺ dans la phase diastolique du cardiomyocyte. Un **modèle schématique du couplage excitation-contraction dans les cardiomyocytes** est présenté ici. Lors de la dépolarisation du sarcolemme, le Ca²⁺ entre dans le cytoplasme par les canaux calciques de type L sensibles au voltage des tubules T, déclenchant la libération du Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique (SR) par les canaux Ca²⁺ (RyR2). L'augmentation du [Ca²⁺]_c se lie à la troponine C (TnC), ce qui active la contraction myofibrillaire. Pendant la relaxation, le Ca²⁺ est transporté dans le SR par la Ca²⁺-ATPase (SERCA2a), et le reste est pompé hors de la cellule par l'échangeur Na⁺/Ca²⁺ du sarcolemme et la Ca²⁺-ATPase de la membrane plasmique (PMCA), et le Ca²⁺-uniporteur mitochondrial (MCU) qui laisse le Ca²⁺ entrer dans les mitochondries (MT). Le phospholamban (PLN) inhibe la SERCA2a et, lorsqu'il est phosphorylé (PLN-P), libère l'inhibition. La calsequestrine 2 (CSQ2) lie le Ca²⁺ avec une grande capacité et, avec la junctine (J) et la triadine (T), participe à la libération du Ca²⁺ du SR.



En 2015, de nouvelles données sont proposées dans cet article sur [la régulation des calcium-ATPases du réticulum sarco\(endo\)plasmique \(SERCA\)](#). Il existe plus de 10 isoformes distinctes de SERCA exprimées dans différents tissus. **SERCA2a est la principale isoforme exprimée dans le tissu cardiaque, tandis que SERCA1a est l'isoforme prédominante exprimée dans le muscle squelettique à contraction rapide.** L'activité de séquestration du Ca²⁺ de SERCA est régulée au niveau de la teneur en protéines et est encore modifiée par

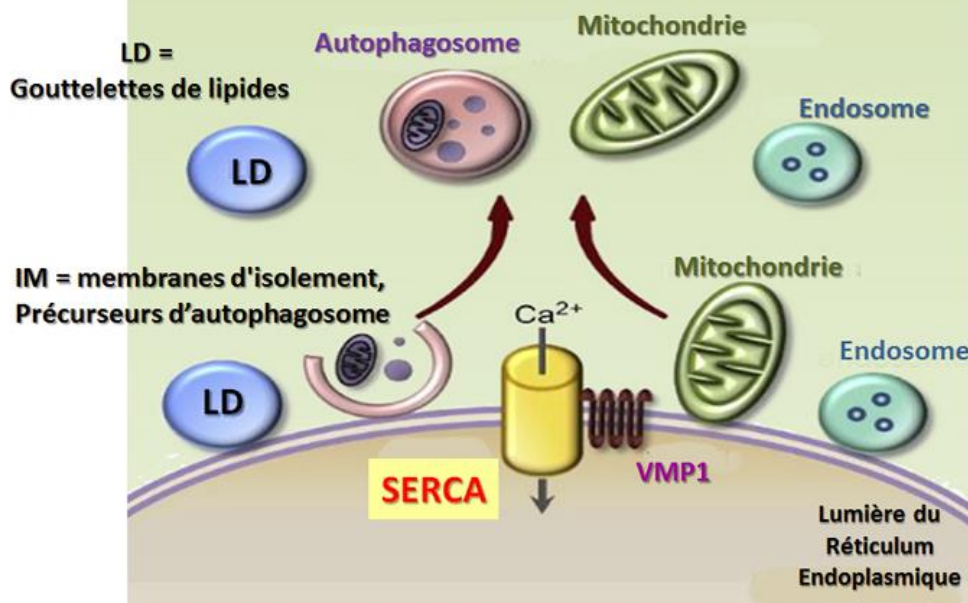
les protéines endogènes phospholamban (PLN) et sarcolipine (SLN). En outre, plusieurs nouveaux mécanismes, notamment les modifications post-traductionnelles et les microARN (miRNA), apparaissent comme des régulateurs intégraux de l'activité de transport du Ca^{2+} . Ces mécanismes de régulation sont pertinents d'un point de vue clinique, car la dérégulation de la fonction SERCA a été impliquée dans la pathologie de plusieurs états pathologiques, notamment l'insuffisance cardiaque. **Actuellement, plusieurs essais cliniques sont en cours et utilisent de nouvelles approches thérapeutiques pour restaurer l'activité de SERCA2a chez l'homme.** L'objectif de cette revue est d'examiner les mécanismes de régulation de la pompe SERCA, en mettant l'accent sur l'influence de l'exercice physique dans la prévention des conditions pathologiques associées à une fonction SERCA altérée.

En 2016, selon cette étude il est établi l'existence de [transitions conformationnelles de la \$\text{Ca}^{2+}\$ ATPase dans les bicouches lipidiques cartographiées par éthylation dirigée vers un site et par RMN à l'état solide.](#) Le suivi de ces événements dans les bicouches lipidiques par RMN à résolution atomique a été un défi en raison de la grande taille de ces systèmes. Ce problème est encore exacerbé pour les grandes protéines de mammifères qui sont difficiles à exprimer et à marquer avec des isotopes actifs en RMN. Il a été synthétisé et fabriqué des groupes éthyle (^{13}C) sur des cystéines natives afin de cartographier les transitions structurelles de la Ca^{2+} -ATPase du réticulum sarcoplasmique, une enzyme transmembranaire de 110 kDa qui transporte le Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique. En utilisant la RMN de « spinning » à angle magique, il a été surveillé les déplacements chimiques des groupes méthylène et méthyle des résidus de cystéine dérivés le long des principales étapes du cycle enzymatique. Les déplacements chimiques des groupes méthylène sont sensibles aux changements de conformation de l'ATPase induits par la liaison des nucléotides et des ions Ca^{2+} et sont des sondes idéales pour les états actifs et inactifs de l'enzyme. Cette nouvelle approche peut être étendue aux grandes enzymes de mammifères et aux protéines de signalisation dont la séquence d'acides aminés contient des résidus de cystéine natifs ou modifiés. **Le schéma suivant présente les Cys dans SERCA qui sont préférentiellement marquées (orange), partiellement marquées (jaune) et non marquées (blanc) avec EMTS.**



En 2017, cette investigation concerne [la protéine transmembranaire EPG-3/VMP1 localisée dans le RE qui régule l'activité de SERCA pour contrôler les contacts entre le RE et la membrane d'isolement pour la formation d'autophagosomes](#). Ici, il a été démontré que la protéine d'autophagie EPG-3/VMP1, localisée dans le RE et spécifique aux métazoaires, contrôle les contacts RE-MI. La perte de VMP1 entraîne une association stable des MI avec le RE, bloquant ainsi la formation d'autophagosomes. L'interaction de WIPI2 avec le complexe ULK1/FIP200 et PI(3)P contribue à la formation des contacts ER-IM, et ces interactions sont renforcées par la déplétion de VMP1. VMP1 contrôle la formation des contacts en favorisant l'activité de SERCA (sarco[endo]plasmic reticulum calcium ATPase). VMP1 interagit avec SERCA et empêche la formation du complexe inhibiteur SERCA/PLN/SLN. VMP1 module également les contacts du RE avec les gouttelettes lipidiques, les mitochondries et les endosomes. Ces contacts ER sont fortement augmentés par la thapsigargin, un inhibiteur de SERCA. La calmoduline agit comme un capteur/effecteur pour moduler les contacts du RE médiés par VMP1/SERCA. Cette étude fournit un aperçu mécanistique de l'établissement et de la dissociation des contacts ER-IM et révèle que VMP1 module l'activité de SERCA pour contrôler les contacts ER. Les auteurs démontrent que la protéine d'autophagie VMP1, spécifique aux métazoaires et localisée dans le RE, contrôle les contacts du RE avec les MI et d'autres organites. **VMP1 contrôle le maintien des contacts en modulant l'activité de SERCA comme le résume le schéma présenté ci-contre.** VMP1 interagit avec SERCA et empêche la formation du grand complexe inhibiteur formé par les 3 partenaires SERCA/PLN/SLN.

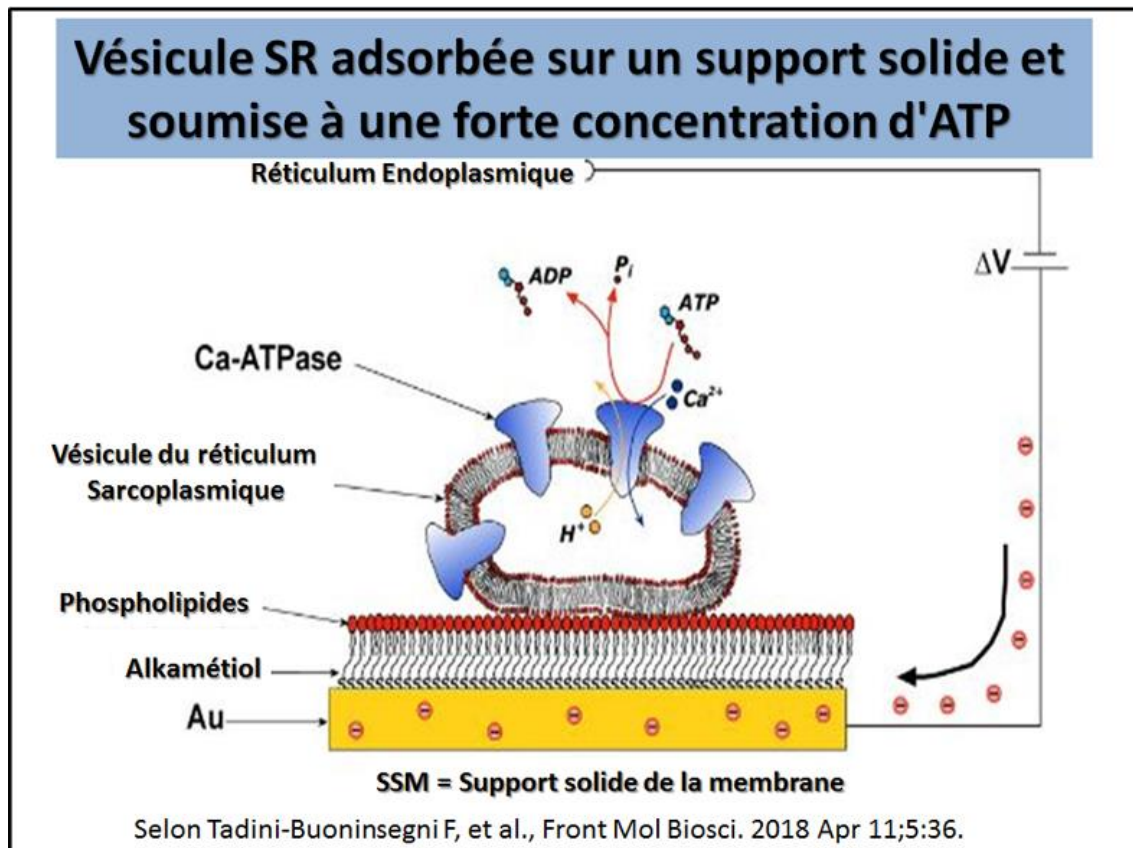
VMP1 contrôle le maintien du contact en modulant l'activité de SERCA.



Selon Zhao et al., Molecular Cell 67, 974–989, September 21, 2017

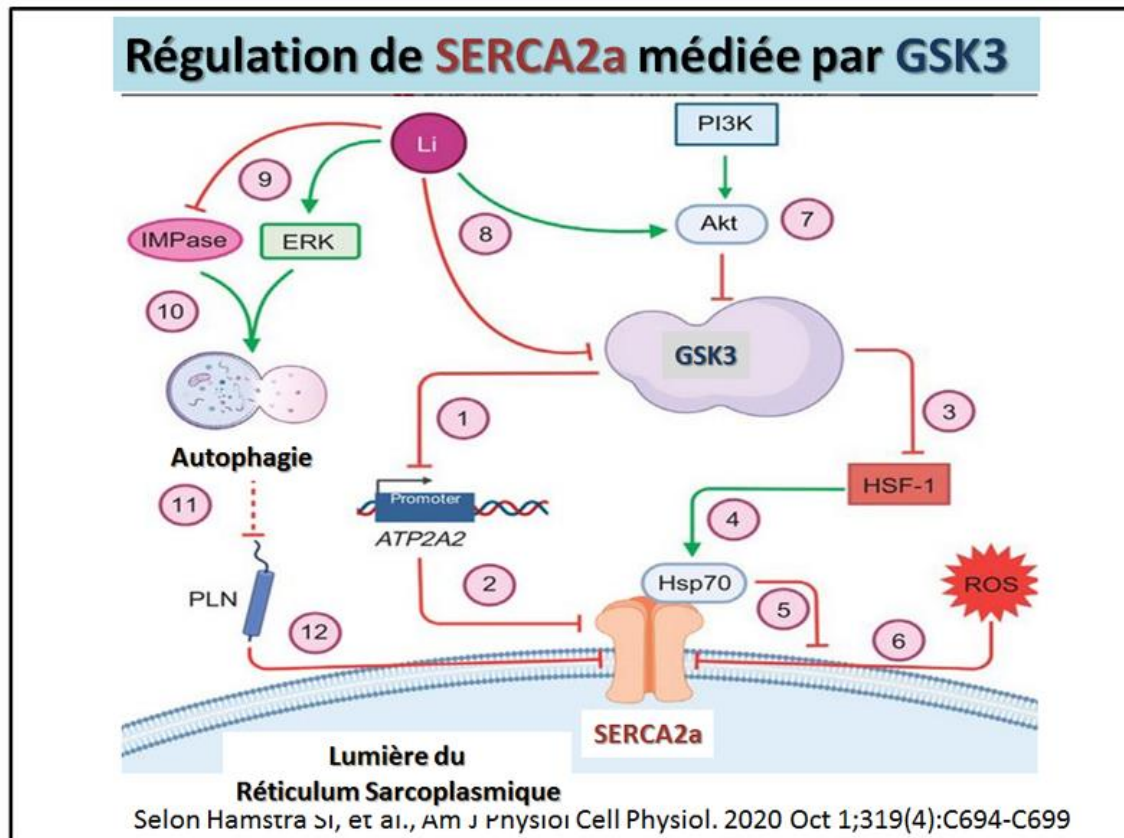
En 2018, cet article relate [les interactions des médicaments avec la Ca\(2+\)-ATPase du réticulum sarco\(endo\)plasmique \(SERCA\)](#). La protéine SERCA joue un rôle fondamental pour l'homéostasie et la signalisation du calcium cellulaire dans les cellules musculaires, mais aussi dans les cellules d'autres tissus. En raison de son rôle prépondérant dans de nombreux processus physiologiques, le dysfonctionnement de SERCA est associé à des maladies affichant différents degrés de gravité. L'activité de transport de SERCA peut être inhibée par une variété de composés ayant des structures chimiques différentes. Des inhibiteurs spécifiques de SERCA ont été identifiés et ont joué un rôle déterminant dans l'étude du mécanisme catalytique et de transport de SERCA. Il a été proposé que l'inhibition de SERCA puisse représenter une nouvelle stratégie thérapeutique pour guérir certaines maladies en ciblant l'activité de SERCA dans les pathogènes, les parasites et les cellules cancéreuses. Récemment, de nouvelles petites molécules capables de stimuler l'activité de SERCA ont été développées. Ces activateurs de SERCA peuvent également offrir une approche thérapeutique innovante et prometteuse pour traiter des maladies telles que l'insuffisance cardiaque, le diabète et les troubles métaboliques. Dans cette revue, les effets des composés pharmacologiquement pertinents sur l'activité de transport de SERCA sont présentés. En particulier, il sera discuté de l'interaction de SERCA avec des inhibiteurs et des activateurs spécifiques qui sont des agents thérapeutiques potentiels pour différentes maladies. Le schéma suivant montre la vésicule SR adsorbée sur une SSM (=support solide membranaire) et soumise à un saut de concentration en ATP (non dessiné à l'échelle). Si le saut d'ATP induit un déplacement de charge net, un courant de compensation circule le long

du circuit externe (les sphères rouges représentent les électrons) pour maintenir constante la différence de potentiel de 1V appliquée à l'ensemble du système. RE est l'électrode de référence.

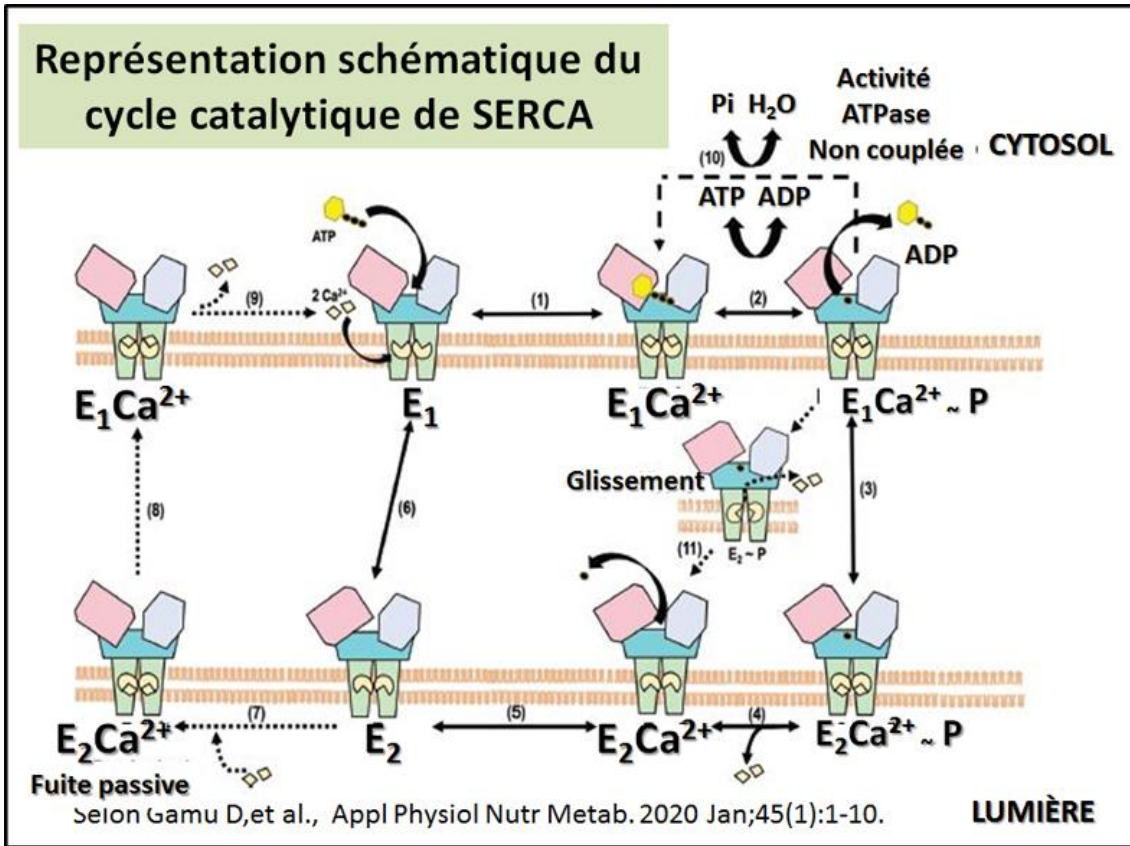


En 2020, dans cette étude il est indiqué [le rôle du phospholamban et de la GSK3 dans la régulation de la fonction SERCA du cœur des rongeurs](#). Le phospholamban (PLN) est un inhibiteur bien connu de la pompe SERCA et sa régulation de SERCA2a - l'isoforme SERCA cardiaque prédominante - contribue de manière significative à la bonne fonction cardiaque. La glycogène synthase kinase 3 (GSK3) est une sérine/thréonine kinase impliquée dans plusieurs voies métaboliques, et il est ainsi démontré qu'elle régule la fonction SERCA. Dans cette mini-revue, il est mis en évidence les mécanismes sous-jacents de la régulation de la fonction SERCA par GSK3, en discutant plus particulièrement des modifications de l'expression de SERCA2a et de PLN et de sa protection potentielle contre le stress oxydatif. En fin de compte, les récentes découvertes dont la discussion fait mention pourraient avoir des implications cliniques dans le traitement et la prévention des cardiomyopathies et de l'insuffisance cardiaque. Une **illustration schématique de la régulation de SERCA2a médiée par GSK3 et des effets de l'administration de lithium dans le muscle cardiaque des rongeurs est présentée ci-contre**. Les flèches vertes indiquent l'activation, et les lignes d'inhibition rouges indiquent l'inhibition. La GSK3 active se lie au promoteur génétique de l'ATP2A2, inhibant la transcription de SERCA2a (1). En conséquence, l'expression de SERCA2a diminue dans la membrane du réticulum sarco-plasmique (SR) (2). La GSK3 active inhibe le facteur de choc thermique 1 (HSF-1) (3), ce qui entraîne une augmentation de l'expression de la protéine de choc thermique 70 (Hsp70) (4). Hsp70 se lie à la structure SERCA2a (5) pour prévenir les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (6). GSK3 peut être naturellement inhibé par la voie de la phosphoinositide

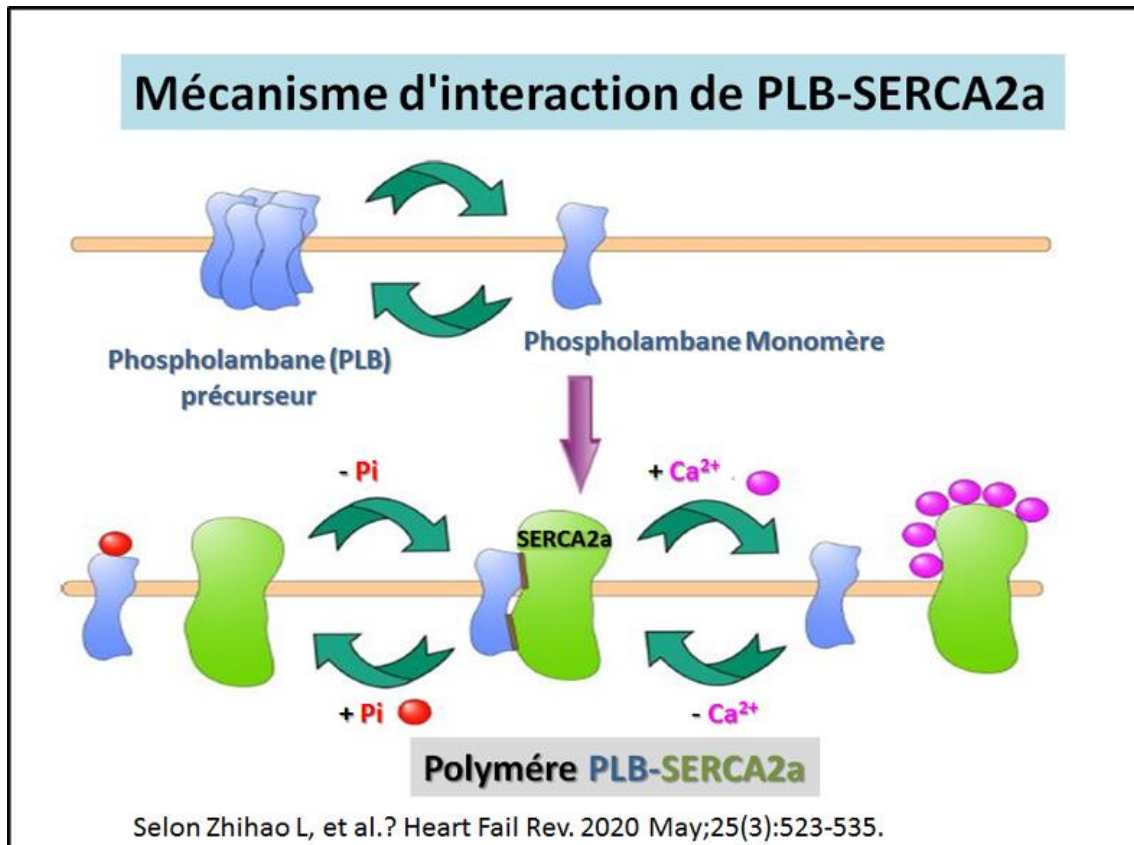
3-kinase (PI3K)/Akt (7). GSK3 peut également être inhibé de manière exogène par l'administration de lithium, à la fois directement par compétition avec le cofacteur Mg et indirectement par activation d'Akt (8). Le lithium pourrait également réguler la fonction SERCA de manière indépendante de la GSK3 en inhibant l'inositolmonophosphatase (IMPase) et en activant la voie de la kinase du récepteur extracellulaire (ERK) (9). Cela induit une activité autophagique (10) qui pourrait éventuellement provoquer la dégradation du phospholamban (PLN) (11), entraînant une moindre inhibition de SERCA2a (12).



Dans cette étude il est confirmé que [le réticulum sarcoplasmique et la SERCA forment un nœud pour la thermogénèse adaptative musculaire](#). Il est particulièrement discuté des avancées dans la compréhension de la thermogénèse à cycle Ca^{2+} au sein du muscle squelettique, en se concentrant sur SERCA et ses régulateurs protéiques, dont on pensait auparavant qu'ils ne modulaient que la contractilité musculaire. La principale nouveauté porte sur la consommation d'ATP par les pompes SERCA qui représente une grande partie de la dépense énergétique au repos dans le muscle et est régulée dynamiquement par des interactions avec de petites protéines régulatrices de SERCA. L'efficacité de SERCA est en corrélation significative avec le métabolisme au repos, de sorte que les individus ayant un taux métabolique au repos plus élevé ont un pompage SERCA Ca^{2+} moins efficace sur le plan énergétique dans le muscle (c'est-à-dire un rapport de couplage plus faible). Le cycle futile du Ca^{2+} est un mécanisme polyvalent de production de chaleur utilisé à la fois par le muscle squelettique et la graisse beige. Cette illustration qui figure ci-contre, présente une **représentation schématique du cycle catalytique de SERCA** illustrant les réactions couplées et non couplées.

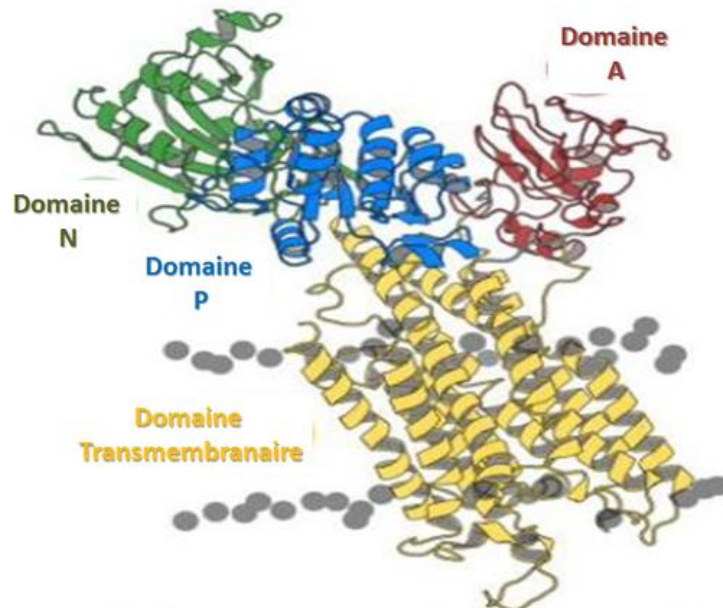


De nouveaux détails figurent dans [cette analyse sur la protéine SERCA2a](#) : une protéine clé dans le cycle du Ca²⁺ de l'insuffisance cardiaque. Les troubles de la fonction SR entraînent le dysfonctionnement du cycle du Ca²⁺ et de la fonction des cellules myocardiques. L'ATPase 2a du sarcoplasme/réticulum endoplasmique Ca²⁺ (SERCA2a) est un sous-type de SERCA exprimé dans le cœur, qui agit comme médiateur de la contraction des cardiomyocytes et du retour du Ca²⁺ dans le cytoplasme vers le SR. Le taux d'absorption du Ca²⁺ par le SR détermine le taux de relaxation du myocarde. La régulation de l'activité de SERCA2a contrôle la contractilité et la relaxation du cœur, affectant ainsi la fonction cardiaque. L'expression et l'activité de SERCA2a sont réduites dans les cœurs défaillants. La thérapie génique par augmentation de l'expression de SERCA2a dans le cœur s'est avérée efficace. En outre, SERCA2a est régulé par une variété de facteurs, y compris des micropeptides transmembranaires, des protéines kinases et des modifications post-traductionnelles (PTM). Dans cette revue, la discussion porte sur des facteurs de régulation de SERCA2a et cela fournis de nouvelles perspectives sur les traitements futurs et l'orientation de la recherche sur l'insuffisance cardiaque. En outre, la thérapie génique pour SERCA2a est récemment apparue comme une option thérapeutique et sera donc abordée dans cette revue. Le schéma, présenté ci-contre, montre le **mécanisme d'interaction de PLB-SERCA2a**. **Le pentamère PLB peut être dépolymérisé en un monomère, ce qui est un processus réversible. Le monomère PLB peut inhiber la liaison de SERCA2a** ; il y a deux cas qui peuvent inhiber l'inhibition de SERCA2a par PLB : le premier cas est la phosphorylation de PLB et le deuxième cas est le calcium avec une concentration croissante de Ca²⁺. La liaison du Ca²⁺ à SERCA2a va lever l'inhibition de la PLB. SERCA2, ATPase 2 du calcium du réticulum sarcoplasmique/endoplasmique ; PLB, phospholambane.



Il est question ici dans ce travail de [lier les états biochimiques et structuraux de SERCA](#) : réalisations, défis et nouvelles opportunités. En conséquence , la SERCA est présentée comme l'un des composants les mieux caractérisés de la machinerie de transport du calcium dans la cellule. Les approches émergentes dans le domaine, y compris la spectroscopie et la simulation moléculaire, permettent maintenant d'intégrer et d'interpréter cette riche information structurale pour comprendre les transitions conformationnelles de SERCA qui se produisent pendant l'activation, l'inhibition et la régulation. Dans cette revue, il est présenté un aperçu des structures cristallines de SERCA, en nous concentrant sur l'identification des paramètres qui facilitent la catégorisation basée sur la structure des principales étapes du cycle catalytique. Cela donne un examen sur l'intégration des données cristallographiques avec différentes approches biophysiques et méthodes computationnelles pour relier les états biochimiques et structuraux de SERCA qui sont peuplés dans la cellule. Enfin, la discussion apporte des défis et des nouvelles opportunités dans ce domaine, y compris l'élucidation structurale de complexes régulateurs de SERCA fonctionnellement importants et nouveaux, la compréhension de la base structurale de la divergence fonctionnelle entre les régulateurs homologues de SERCA, et la réduction de l'écart entre la recherche fondamentale et la recherche translationnelle visant à la modulation thérapeutique de SERCA. Un schéma récent montre la structure tridimensionnelle des domaines N (vert), A (rouge) et P (bleu) cytosoliques et des hélices transmembranaires (TM, jaune) de **la calcium ATPase du réticulum sarcoendoplasmique (SERCA)**.

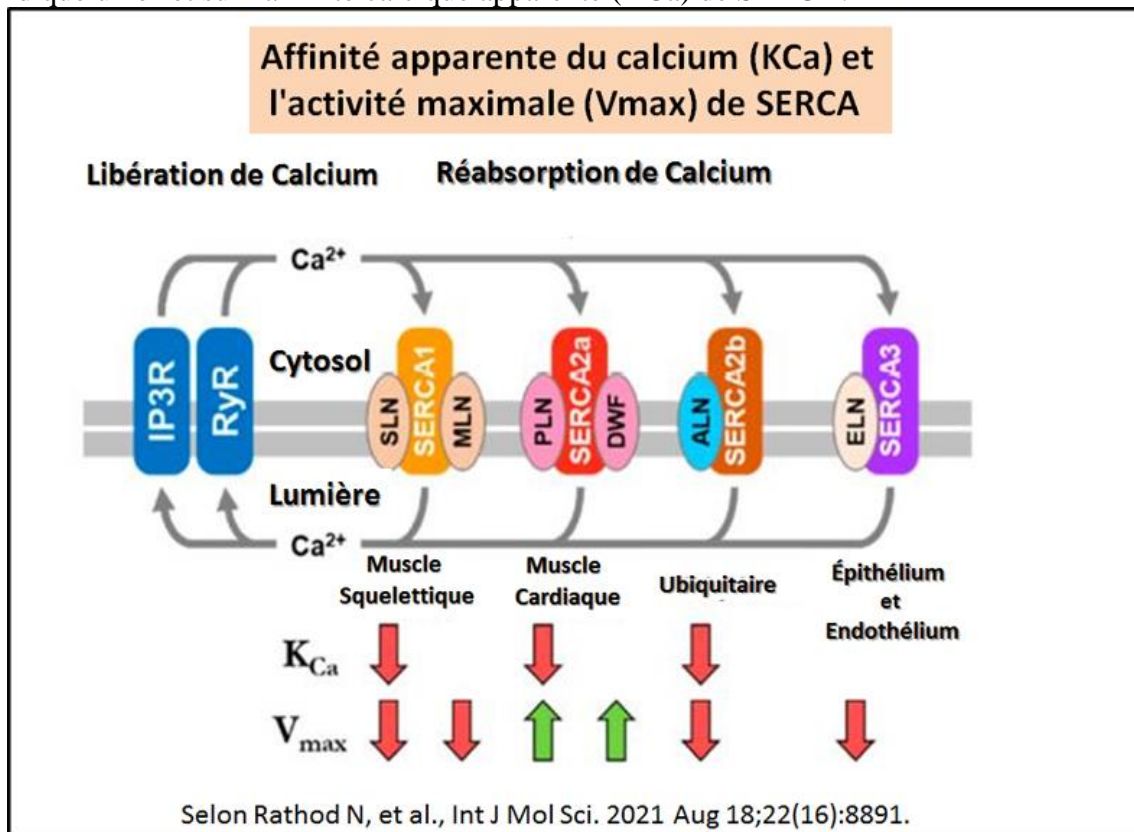
Structure 3D de la calcium ATPase du réticulum sarcoendoplasmique (SERCA).



Selon Aguayo-Ortiz R, Espinoza-Fonseca LM. Int J Mol Sci. 2020 Jun 10;21(11):4146.

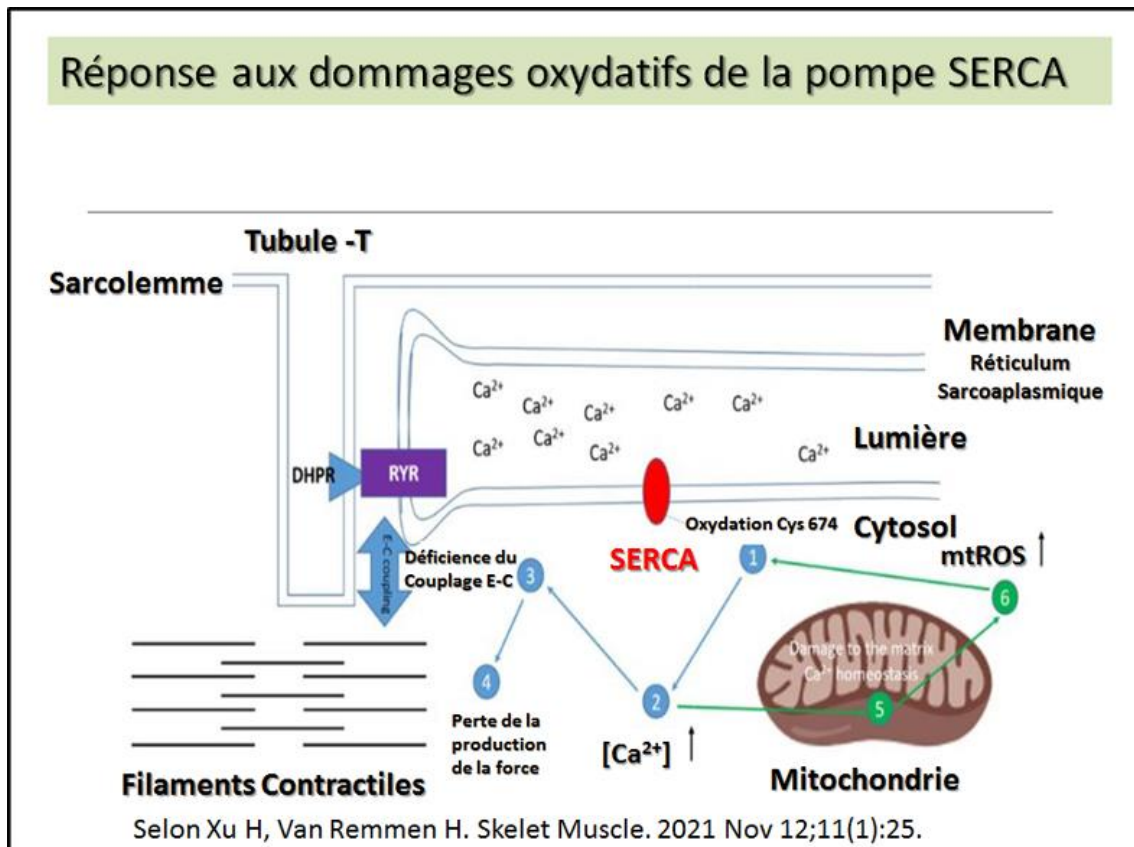
En 2021, cette nouvelle étude indique qu'il n'y a rien de régulier dans les Régulines : [c'est un article qui concerne les propriétés fonctionnelles distinctes des sous-unités régulatrices du peptide transmembranaire de SERCA.](#) Le phospholamban (PLN) et la sarcolipine (SLN) sont les membres originaux et les plus étudiés de la famille des régulines. La PLN et la SLN inhibent les propriétés de transport du calcium de SERCA et sont nécessaires au bon fonctionnement des muscles cardiaques et squelettiques, respectivement. La myoréguline (MLN), le cadre de lecture ouvert nain (DWORF), l'endoréguline (ELN) et l'autre réguline (ALN) sont des régulateurs tissulaires spécifiques de SERCA récemment découverts. Il est fait la comparaison ici entre les propriétés fonctionnelles des sous-unités peptidiques transmembranaires de SERCA de la famille des régulines et ensuite il est fait un examen de leurs mécanismes de régulation dans le contexte des rôles physiologiques et physiopathologiques de ces peptides. Il est ainsi présenté de nouvelles données fonctionnelles pour la NML, l'ELN et l'ALN humaines, démontrant qu'elles sont des inhibiteurs de SERCA avec des conséquences fonctionnelles distinctes. La modélisation moléculaire et les simulations de dynamique moléculaire de SERCA en complexe avec les domaines transmembranaires de la MLN et de l'ALN permettent de comprendre comment la liaison différentielle à la rainure dite inhibitrice de SERCA - formée par les hélices transmembranaires M2, M6 et M9 - peut entraîner des résultats fonctionnels distincts. On trouve ci-contre la représentation schématique des profils d'expression des régulines et des isoformes de SERCA dans différents tissus musculaires et non musculaires chez les vertébrés. **Les effets des différentes régulines sur l'affinité apparente du calcium (KCa) et l'activité maximale (Vmax) de SERCA sont indiqués par des flèches.** Les flèches rouges indiquent une diminution de l'affinité calcique apparente (KCa) ou de l'activité maximale (Vmax), les

flèches vertes indiquent une augmentation de l'activité maximale (V_{max}), aucune flèche n'indique un effet sur l'affinité calcique apparente (K_{Ca}) de SERCA.



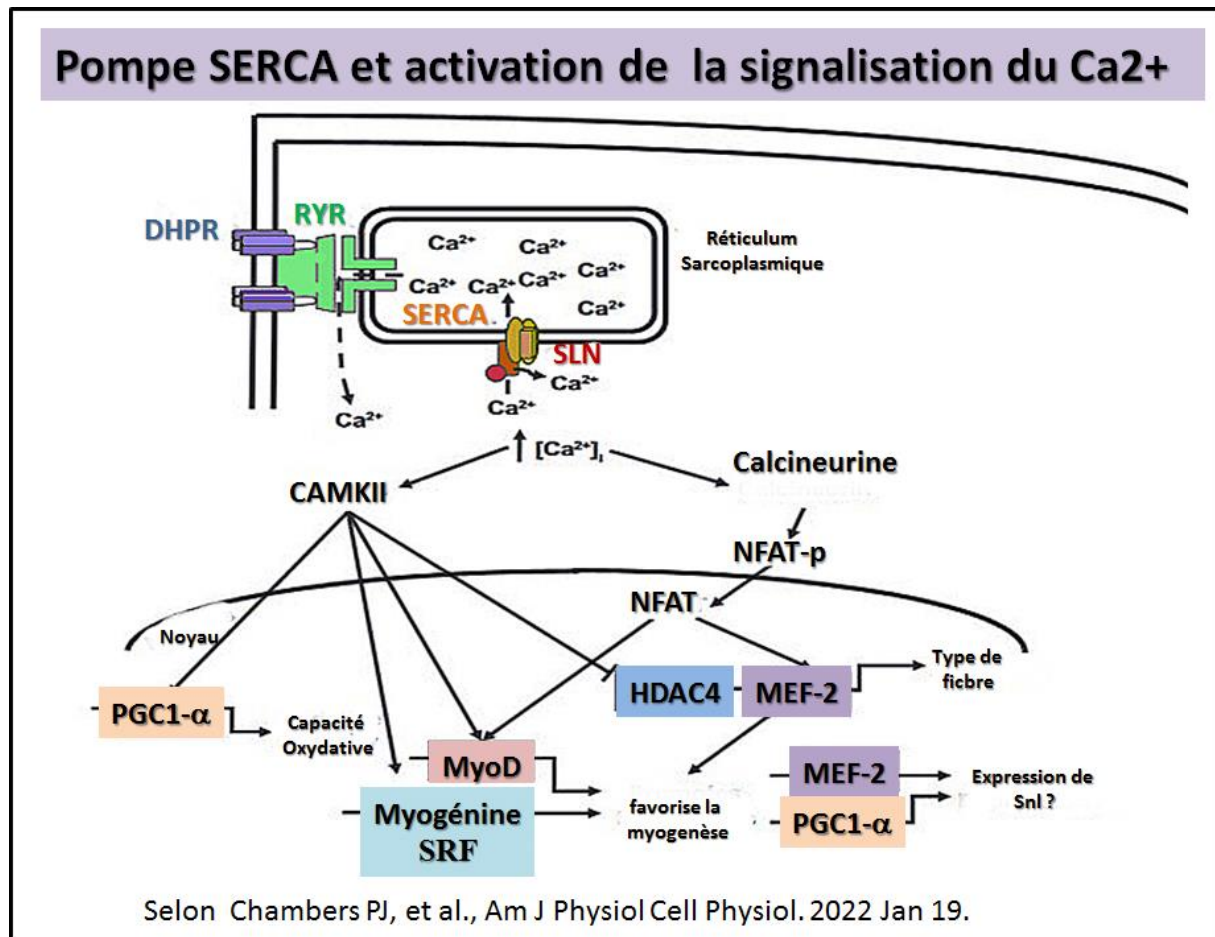
Cette nouvelle approche porte sur [la pompe Calcium ATPasique du réticulum Sarco/Endoplasmique \(SERCA\)](#) : une cible potentielle pour une intervention dans le vieillissement et les pathologies des muscles squelettiques. La fonction de SERCA est étroitement associée à la santé et aux fonctions musculaires, et l'activité de SERCA est susceptible de provoquer une pathogénèse musculaire. Par exemple, il est bien connu que les conditions pathologiques associées au vieillissement, à la neurodégénérescence et à la dystrophie musculaire (DM) dépriment de manière significative la fonction SERCA, ce qui peut altérer l'homéostasie du calcium intracellulaire et contribuer à l'atrophie et à la faiblesse musculaires. Par conséquent, le ciblage de l'activité de SERCA a attiré l'attention comme méthode thérapeutique pour le traitement des pathologies musculaires. Les interventions comprennent l'activation de l'activité de SERCA et la surexpression génétique de SERCA. Cette revue se concentre sur la fonction et les mécanismes de régulation de SERCA et décrit comment ces mécanismes sont affectés dans des conditions pathologiques musculaires, notamment le stress oxydatif élevé induit par le vieillissement, les maladies musculaires ou les troubles neuromusculaires. Il est également abordé dans cette revue les progrès actuels et les approches thérapeutiques visant à cibler SERCA in vivo. Une nouvelle illustration montre le schéma de la **réponse aux dommages oxydatifs de la pompe SERCA**. Un stress oxydatif cytosolique élevé oxyde de manière irréversible le résidu Cys674 de SERCA (étape (1)), ce qui entraîne une réduction de l'activité de SERCA. L'activité réduite de SERCA augmente la concentration cytosolique de Ca^{2+} (étape (2)). La concentration élevée de $[Ca^{2+}]$

cytosolique est préjudiciable au couplage E-C (étape (3)) et induit finalement le déclin de la force musculaire (étape (4)). Un $[Ca^{2+}]$ cytosolique élevé entraîne également une altération de l'homéostasie mitochondriale du Ca^{2+} (étape (5)), ce qui conduit à une augmentation de la génération et de la libération de mtROS dans le cytosol (étape (6)), et le mtROS élevé déclenchera une oxydation supplémentaire de SERCA (étape (1)) exacerbant les dommages provoqués par le stress oxydatif.



En 2022, dans cette analyse on va trouver des [données nouvelles sur le rôle du SERCA et de la sarcolipine \(SLN\) dans le remodelage musculaire adaptatif](#). Ainsi, la SLN joue un rôle direct dans la modification de la relaxation des muscles squelettiques et de la dépense énergétique. Il est intéressant de noter que l'expression du SLN est dynamique pendant les périodes d'adaptation musculaire, en ce sens que de fortes augmentations du contenu du SLN sont observées en réponse au développement, à l'atrophie, à la surcharge et à la maladie. Plusieurs groupes ont suggéré que les augmentations du SLN, en particulier dans les muscles dystrophiques, sont délétères car elles peuvent réduire la fonction musculaire et exacerber des niveaux intracellulaires de Ca^{2+} déjà aberrants. Cependant, il existe également des preuves significatives qui montrent que l'augmentation de la teneur en SLN est un mécanisme adaptatif bénéfique qui protège la **pompe SERCA et active la signalisation du Ca^{2+}** et le remodelage adaptatif pendant les périodes de stress cellulaire. Dans cette revue, il est abordé tout d'abord le rôle de la SLN dans le muscle sain, à la fois pendant le développement et la surcharge, où il a été démontré que la SLN active la signalisation Ca^{2+} pour promouvoir la biogénèse mitochondriale, les changements de type de fibre et l'hypertrophie musculaire. Ensuite, en ce qui concerne les maladies musculaires, il est fait un résumé sur les divergences dans la littérature quant à la nature adaptative ou inadaptée de la régulation ascendante de la SLN. Cette revue est la première à proposer le concept d'hormèse de la SLN dans les maladies musculaires, selon lequel une quantité trop importante ou trop faible de SLN est préjudiciable à la santé musculaire. Enfin, les mécanismes sous-jacents qui activent

la régulation à la hausse de la SLN sont discutés, en reconnaissant spécifiquement une boucle de rétroaction positive potentielle entre la SLN et les molécules de signalisation du Ca^{2+} . Il est présenté le mécanisme spéculé pour la modulation de l'expression génétique Ca^{2+} -dépendante par la sarcolipine (SLN). La régulation de la signalisation du Ca^{2+} par la SLN peut affecter le profil métabolique du muscle, stimuler la masse musculaire et modifier les propriétés contractiles du muscle squelettique en activant la protéine kinase II dépendante du Ca^{2+} /calmoduline (CAMKII) et la calcineurine (Cn). Les élévations du calcium intracellulaire ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) activent la déphosphorylation de la Cn et la translocation du facteur d'activation nucléaire T (NFAT) dans le noyau où il stimule l'activité du facteur d'amplification des myocytes 2 (MEF2) pour déterminer le profil des fibres. La localisation nucléaire du NFAT-p favorise également la myogénèse en stimulant le MEF2 et le facteur 1 de différenciation des myoblastes (MyoD). De même, l'apparition de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ active CAMKII, qui dirige le métabolisme oxydatif du muscle en favorisant l'activité de la PGC1 α et régule la différenciation du muscle squelettique par l'intermédiaire du facteur de réponse au sérum (SRF), de la myogénine et de l'histone désacétylase (HDAC)-4. Bien qu'il existe probablement une régulation supplémentaire, MEF2 et la PGC1 α ont été impliqués dans la promotion de l'expression de SLN.



En 2023, il est présenté [dans cette étude un nouveau criblage basé sur l'apprentissage automatique qui permet d'identifier les statines en tant qu'inhibiteurs de la pompe à calcium SERCA.](#) Ici figure une nouvelle approche de criblage de petites molécules qui combine l'augmentation des données et l'apprentissage automatique pour identifier les médicaments approuvés par la FDA qui interagissent avec la pompe à calcium (Sarcoplasmic reticulum

Ca²⁺-ATPase, SERCA) du muscle squelettique (SERCA1a) et du muscle cardiaque (SERCA2a). Cette approche utilise des informations sur les effecteurs de petites molécules pour cartographier et sonder l'espace chimique des cibles pharmacologiques, permettant ainsi de cribler avec une grande précision de grandes bases de données de petites molécules, y compris des médicaments approuvés et en cours d'investigation. Il a été choisi SERCA parce qu'il joue un rôle majeur dans le cycle excitation-contraction-relaxation dans le muscle, et qu'il représente une cible majeure dans le muscle squelettique et cardiaque. Le modèle d'apprentissage automatique a prédit que SERCA1a et SERCA2a sont des cibles pharmacologiques pour sept statines, un groupe d'inhibiteurs de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMG-CoA) approuvés par la FDA et utilisés en clinique comme médicaments hypolipémiants. Il est validé les prédictions de l'apprentissage automatique en utilisant des tests ATPase in vitro pour montrer que plusieurs statines approuvées par la FDA sont des inhibiteurs partiels de SERCA1a et SERCA2a. Des simulations atomistiques complémentaires prédisent que ces médicaments se lient à deux sites allostériques différents de la pompe. **Ces résultats suggèrent que le transport de Ca²⁺ médié par la SERCA peut être ciblé par certaines statines (par exemple, l'atorvastatine), fournissant ainsi une voie moléculaire pour expliquer la toxicité associée aux statines rapportée dans la littérature.** Ces études montrent l'applicabilité de l'augmentation des données et du criblage basé sur l'apprentissage automatique en tant que plateforme générale pour l'identification des interactions hors cible, et l'applicabilité de cette approche s'étend à la découverte de médicaments.

En 2024 cette analyse révèle que [le remplacement de Lys27 par asparagine dans la myoreguline, a un effet régulateur du SERCA](#) : **Un modulateur de l'affinité pour le Ca(2+) ou un commutateur de l'activité catalytique ?** La myoreguline (MLN) est une protéine qui régule l'activité de la Ca²⁺-ATPase du réticulum sarcoplasmique (SERCA) sans affecter son affinité pour le Ca²⁺. Le résidu Lys27 de la MLN est situé à un endroit où d'autres régulateurs de la SERCA contrôlent l'affinité pour le Ca²⁺. **Il fut donc effectué des simulations atomistiques et des expériences d'activité ATPase pour déterminer si le remplacement de Lys27 par de l'asparagine, un résidu conservé dans divers régulateurs SERCA musculaires, permettrait à MLN de moduler à la fois l'affinité pour le Ca²⁺ et l'activité catalytique de la SERCA.** Ces résultats indiquent que le remplacement de Lys27 par Asn augmente de manière significative la puissance inhibitrice de MLN, mais n'affecte pas l'affinité de SERCA pour le Ca²⁺. Il est suggéré que le site de SERCA modulant l'affinité pour le Ca²⁺ agit également comme un commutateur d'activité catalytique. Par conséquent, ce site est un élément clé contribuant à la divergence fonctionnelle entre les régulateurs homologues de SERCA. Cette étude ouvre la voie à de futures recherches pour explorer comment la fonction biologique diverge au cours de l'évolution de la famille des régulateurs SERCA.

En conclusion

Pour suivre l'évolution des connaissances sur les **protéines baptisées avec le sigle «SERCA»** il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

1.) La SERCA 1 ; ATPase, Ca(2+)-TRANSPORTING and TRUNCATED ISOFORM, FAST-TWITCH 1; [ATP2A1](#) avec son lot de références historiques.
2.) la SERCA 2 ; ATPase, Ca(2+)-TRANSPORTING, SLOW-TWITCH; [ATP2A2](#) avec son lot de références historiques.

3. La SERCA 3; SARCOPLASMIC RETICULUM Ca(2+)-ATPase 3; UBIQUITOUS;
[ATP2A3](#) avec son lot de références historiques.

Pathologies associées :

Avec SERCA 1

BRODY DISEASE; [BROD](#)

Avec SERCA 2

ACROKERATOSIS VERRUCIFORMIS; [AKV](#)

DARIER-WHITE DISEASE; [DAR](#)

Avec SERCA 3

Actuellement pas de pathologie associée