

**M/S : médecine sciences**



## **Reprise traductionnelle en aval d'un codon stop prématuré et agrégation protéique**

## **Translational restart downstream of a premature stop codon and protein aggregation**

Lara Mourné and Reiner A. Veitia

Volume 22, Number 3, mars 2006

Vieillessement

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/012769ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences  
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (print)  
1958-5381 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Mourné, L. & Veitia, R. A. (2006). Reprise traductionnelle en aval d'un codon stop prématuré et agrégation protéique. *M/S : médecine sciences*, 22(3), 232–234.

Tous droits réservés © M/S : médecine sciences, 2006

This document is protected by copyright law. Use of the services of Érudit (including reproduction) is subject to its terms and conditions, which can be viewed online.

<https://apropos.erudit.org/en/users/policy-on-use/>

**érudit**

This article is disseminated and preserved by Érudit.

Érudit is a non-profit inter-university consortium of the Université de Montréal, Université Laval, and the Université du Québec à Montréal. Its mission is to promote and disseminate research.

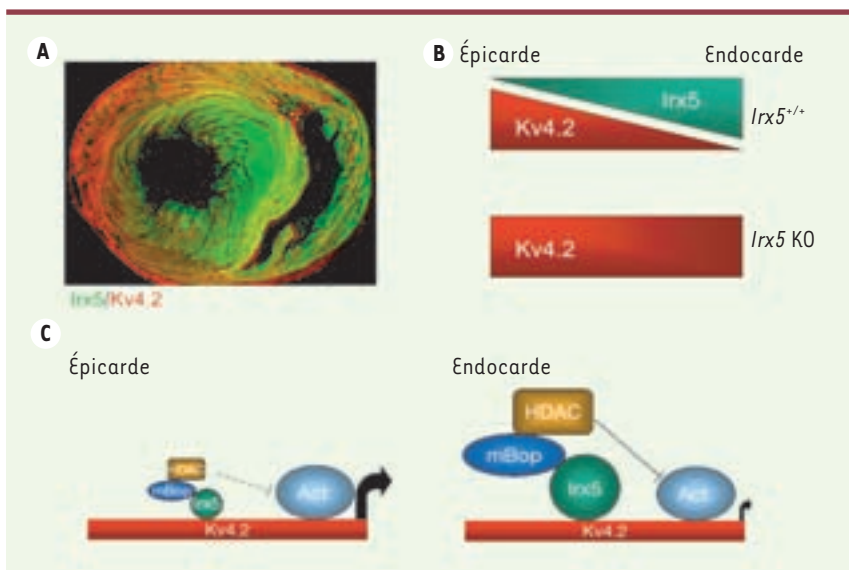
<https://www.erudit.org/en/>

Puisque *Irx5* est exprimé dans un gradient, ce mécanisme forme un gradient inverse de  $I_{T0}$ , qui permet la relaxation du cœur de façon ordonnée à la fin de chaque contraction. Sans cette fine régulation, des arythmies s'ensuivent. Voilà pourquoi toute perturbation de ce mécanisme pourrait être à la source des arythmies qu'on trouve chez des patients qui souffrent d'insuffisance cardiaque ou de toute autre maladie qui prédispose aux arythmies cardiaques.

Un détail important restait à élucider : le cœur de la souris n'est pas identique à celui de mammifères plus grands comme l'homme ou le chien, surtout en ce qui concerne la nature moléculaire du courant  $I_{T0}$ . Mais en examinant la distribution de *Irx5* dans le myocarde du chien, nous avons observé que son gradient est semblable à celui de la souris, ce qui suggère que son rôle pourrait être important aussi pour réguler le gradient de repolarisation ; une obser-

vation comparable pourrait éventuellement être perçue chez l'homme. Nous avons donc découvert un mécanisme important de la régulation de gènes cardiaques, et plus particulièrement de la régulation du gradient de repolarisation cardiaque. Cette découverte est essentielle pour comprendre comment ces gradients sont formés et bien sûr pour commencer à savoir comment, dans un cœur malade, cette régulation est interrompue, conduisant ainsi à des arythmies parfois mortelles. ♦

***Irx5*: a transcription factor that regulates the cardiac repolarization gradient**



**Figure 1.** A. Gradients de *Irx5* (vert) et *Kv4.2* (rouge) dans un cœur de souris normale (adapté de [2]). B. Représentation des gradients opposés de *Irx5* et *Kv4.2*, indiquant l'augmentation de l'expression de *Kv4.2* chez les souris *Irx5*<sup>-/-</sup>. C. Mécanisme d'action de *Irx5* (voir texte).

## RÉFÉRENCES

1. Bruneau BG. Transcriptional regulation of vertebrate cardiac morphogenesis. *Circ Res* 2002 ; 90 : 509-19.
2. Costantini D, Arruda EP, Agarwal P, et al. The homeodomain transcription factor *Irx5* establishes the mouse cardiac ventricular repolarization gradient. *Cell* 2005 ; 123 : 347-58.
3. Tomaselli GF, Zipes DP. What causes sudden death in heart failure? *Circ Res* 2004 ; 95 : 754-63.
4. Oudit GY, Kassiri Z, Sah R, et al. The molecular physiology of the cardiac transient outward potassium current ( $I_{to}$ ) in normal and diseased myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2001 ; 33 : 851-72.
5. Antzelevitch C. Cellular basis and mechanism underlying normal and abnormal myocardial repolarization and arrhythmogenesis. *Ann Med* 2004 ; 36 (suppl 1) : 5-14.
6. Gottlieb PD, Pierce SA, Sims RJ, et al. Bop encodes a muscle-restricted protein containing MYND and SET domains and is essential for cardiac differentiation and morphogenesis. *Nat Genet* 2002 ; 31 : 25-32.

## NOUVELLE

### Reprise traductionnelle en aval d'un codon stop prématuré et agrégation protéique

Lara Moumné, Reiner A. Veitia

Inserm U567,  
Institut Cochin-Université Paris V-Paris VII,  
24, rue du Faubourg Saint-Jacques,  
75014 Paris, France  
[veitia@cochin.inserm.fr](mailto:veitia@cochin.inserm.fr)

> Classiquement, une mutation stop précoce dans un gène est considérée comme une mutation nulle pour deux raisons : d'une part, le court fragment peptidique produit, correspondant au début de la protéine, n'est en général

pas suffisant pour assurer la fonction ; d'autre part, les mutations stop prématurées sont connues pour déclencher la dégradation des ARNm par un système de surveillance des transcrits aberrants, le *nonsense mediated decay* (NMD) [1]. Le

NMD a été montré dans le cas des gènes poly-exoniques lorsque la mutation stop se trouve en amont de la dernière jonction exonique. Cependant, une mutation stop précoce n'est pas toujours nulle. En effet, il existe plusieurs mécanismes per-



mettant d'assurer la traduction malgré la présence d'un stop prématuré, comme la ré-initiation traductionnelle. Ce mécanisme permet la synthèse d'un fragment protéique à partir d'un site d'initiation en aval du codon stop précoce. Si le cadre de lecture est conservé, le produit qui en résulte correspond à la protéine délétée de sa région amino-terminale. Il a été montré que ce processus permet de « sauver » l'expression de certains gènes [2]. Par ailleurs la ré-initiation traductionnelle a la particularité de diminuer l'efficacité du NMD [3].

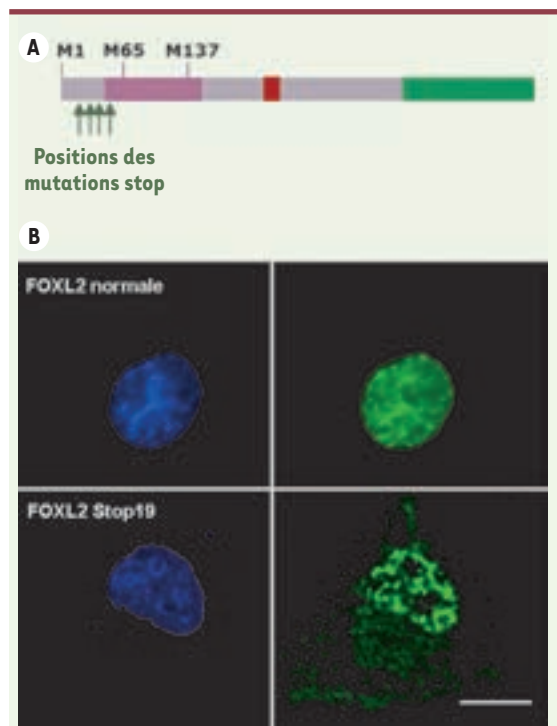
Depuis quelques années, notre équipe s'intéresse au BPES (*blepharophimosis ptosis epicanthus inversus syndrome*), comportant des malformations cranio-faciales (essentiellement palpébrales)

associées dans certains cas à une insuffisance ovarienne prématurée. Il s'agit d'une maladie génétique rare à transmission autosomique dominante causée par les mutations du gène *FOXL2* [4]. *FOXL2* est un gène mono-exonique codant pour un facteur de transcription à domaine *forkhead*. *FOXL2* comporte en outre une polyalanine (14 résidus), de fonction inconnue, qui est retrouvée essentiellement dans des facteurs se liant à l'ADN ou à l'ARN (Figure 1A). Différents types de mutations ont été identifiés dans la séquence codante de *FOXL2*. L'expansion de la polyalanine de 14 à 24 résidus est la plus fréquente puisqu'elle est retrouvée dans 30 % des cas de BPES [5]. Au niveau protéique, l'expansion de la polyalanine entraîne l'agrégation

de *FOXL2* et sa rétention dans le cytoplasme alors que la protéine sauvage (14 alanines) se localise uniquement dans le noyau de façon diffuse [6]. Ce phénomène d'agrégation liée à des expansions de répétitions homopolymériques est bien connu pour les protéines à polyglutamine [7] et a récemment été décrit dans d'autres protéines à polyalanine [8]. Nous nous sommes récemment intéressés à un autre type de mutations de *FOXL2*, les mutations stop précoces [9]. Étant donné qu'il est dépourvu d'introns, *FOXL2* n'est *a priori* pas soumis au mécanisme de NMD. Nous nous sommes alors demandé si le mécanisme de reprise de la traduction pouvait se produire lorsque *FOXL2* contient un codon stop précoce. Pour répondre à cette question, nous avons exprimé dans des cellules de mammifère (COS-7) des formes de *FOXL2*

contenant des codons stop précoces, en fusion avec la GFP (*green fluorescent protein*) en position carboxy-terminale. En cas de ré-initiation traductionnelle, la protéine de fusion produirait une fluorescence verte des cellules. Nous avons testé la ré-initiation pour quatre codons stop en position 19, 31, 41 et 53 (cette dernière mutation étant décrite pour un patient BPES) (Figure 1A). L'observation des cellules au microscope nous a permis de voir que, pour toutes les positions, la traduction d'une protéine de fusion a lieu. De façon inattendue, les protéines de fusion observées ne se répartissent pas de façon diffuse et uniquement nucléaire comme la protéine sauvage. En effet, elles sont fortement agrégées dans les noyaux de toutes les cellules qui les expriment (Figure 1B). De plus, 70 % des cellules présentent une localisation cytoplasmique de la protéine. En estimant la taille des protéines de fusion, nous avons montré que, pour les mutations stop 19 et 31, la traduction reprend essentiellement au niveau du codon AUG 65 et dans une moindre mesure en AUG 137. L'efficacité de la ré-initiation a été estimée à environ 25 % dans les deux cas. En revanche, dans le cas des mutations stop 41 et 53, il n'y a pas de ré-initiation en AUG 65 et une faible expression de la protéine démarquant en 137 est détectée. Cette faible expression est également observée avec la forme sauvage de *FOXL2* et semble correspondre à un site d'entrée interne des ribosomes. Ces résultats suggèrent que le phénomène de ré-initiation dépend de la position du codon stop précoce. On peut ainsi définir une position critique entre les codons 31 et 41 à partir de laquelle il ne peut plus y avoir de ré-initiation traductionnelle efficace.

De façon surprenante, les protéines de fusion dépourvues des 64 premiers acides aminés s'agrègent. Cela suggère que certains de ces acides aminés sont impliqués dans la solubilité de *FOXL2*. Pour mieux comprendre ce phénomène, nous avons réalisé une série de délétions dans la région amino-terminale et quantifié l'agrégation. Cela nous a permis de



**Figure 1. A. Représentation schématique de la protéine *FOXL2*.** Le cadre violet représente le domaine *forkhead* de liaison à l'ADN. Le cadre rose représente la polyalanine. Le cadre vert représente la GFP. Les positions 19, 31, 41 et 53 des codons stop sont indiquées par des flèches. M1, M65 et M137 sont les méthionines respectivement codées par les codons AUG 1, AUG 65 et AUG 137. **B. Microscopie à fluorescence des cellules COS-7 exprimant les formes de *FOXL2* sauvage (en haut) et Stop19 (en bas).** En bleu (Hœchst, à gauche), coloration des noyaux. En vert (à droite), protéines de fusion avec la GFP (échelle : 16 µm).

montrer que ce sont les 18 premiers acides aminés du domaine *forkhead* qui seraient impliqués dans la solubilité. Ces 18 acides aminés font partie de la première hélice de ce domaine. Nous avons ensuite cherché à déterminer les régions protéiques responsables de l'agrégation de la protéine dépourvue de sa région amino-terminale. Nous avons d'abord montré que la GFP n'induisait pas l'agrégation. Des expériences de délétions de différentes régions nous ont permis de montrer que : (1) le *forkhead* seul tronqué de ces 18 premiers acides aminés ne s'agrège pas, ce qui suggère l'implication d'autres régions de la protéine dans l'agrégation ; (2) la polyalanine et la région carboxy-terminale ne sont pas impliquées dans l'agrégation. Il semble donc que c'est la région située entre le domaine *forkhead* et la polyalanine qui est réellement déterminante pour l'agrégation.

En conclusion, nous avons montré qu'une mutation stop dans *FOXL2*, en fonction de sa position, peut entraîner un phénomène de ré-initiation traductionnelle et conduire à la synthèse d'une protéine

fortement agrégée. De plus, nous avons montré que la protéine ainsi produite est capable de retenir une fraction de la protéine normale dans les agrégats nucléaires, suggérant un possible effet dominant négatif de la protéine tronquée [9]. Pour l'instant, l'absence de mutations stop identifiées en amont du codon 31 chez des patients BPES ne permet pas de vérifier cette hypothèse. Ces résultats élargissent le spectre des mutations pouvant conduire à des agrégats protéiques. L'agrégation avait précédemment été montrée pour des expansions de polyglutamine et de polyalanine ainsi que pour des substitutions d'acides aminés [7, 8]. Par ailleurs, ces résultats pointent l'importance du phénomène de ré-initiation et ses conséquences. En effet, dans certains cas, une reprise de la traduction peut sauver un phénotype. Dans d'autres cas, elle pourrait conduire à la synthèse de protéines toxiques ou ayant un effet dominant négatif. Dans les cas de mutations stop précoces associées à des phénotypes inattendus, il apparaît fondamental d'explorer la possibilité d'une ré-initiation traduc-

tionnelle. ♦

### Translational restart downstream of a premature stop codon and protein aggregation

#### RÉFÉRENCES

1. Maquat LE. Nonsense-mediated mRNA decay. *Curr Biol* 2002 ; 12 : R196-7.
2. Howard MT, Malik N, Anderson CB, et al. Attenuation of an amino-terminal premature stop codon mutation in the *ATRX* gene by an alternative mode of translational initiation. *J Med Genet* 2004 ; 41 : 951-6.
3. Zhang J, Maquat LE. Evidence that translation reinitiation abrogates nonsense-mediated mRNA decay in mammalian cells. *EMBO J* 1997 ; 16 : 826-33.
4. Crisponi L, Deiana M, Loi A, et al. The putative forkhead transcription factor *FOXL2* is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 159-66.
5. De Baere E, Beysen D, Oley C, et al. *FOXL2* and BPES : mutational hotspots, phenotypic variability, and revision of the genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 2003 ; 72 : 478-87.
6. Caburet S, Demarez A, Moumné L, et al. A recurrent polyalanine expansion in the transcription factor *FOXL2* induces extensive nuclear and cytoplasmic protein aggregation. *J Med Genet* 2004 ; 41 : 932-6.
7. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med* 2004 ; 10(suppl) : S10-7.
8. Albrecht A, Mundlos S. The other trinucleotide repeat : polyalanine expansion disorders. *Curr Opin Genet Dev* 2005 ; 15 : 285-93.
9. Moumné L, Fellous M, Veitia RA. Deletions in the polyAlanine-containing transcription factor *FOXL2* lead to intranuclear aggregation. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 3557-64.

## NOUVELLE

### Découverte d'un nouveau mécanisme de résistance innée contre le cytomégalovirus L'union fait la force

Agnieszka Kielczewska, Nassima Fodil, Silvia M. Vidal

Centre de recherche sur la résistance de l'hôte et Département de génétique humaine, Université McGill, Duff Medical Building, 3775, rue University, Montréal (Québec), H3A 2B4 Canada. [silvia.vidal@mcgill.ca](mailto:silvia.vidal@mcgill.ca)

> L'infection par le cytomégalovirus (CMV) demeure un risque important de malformations congénitales pour les nouveau-nés ; elle constitue aussi une cause de maladies graves chez des patients présentant des déficits immunitaires des cellules T cytotoxiques, en particulier les receveurs de greffes ou les individus infectés

par le VIH [1]. Une vulnérabilité à l'infection par le CMV se manifeste aussi chez des patients souffrant de déficiences des cellules *natural killer* (NK) [2, 3], attestant l'importance de ces cellules dans l'opposition au CMV. En tant que lymphocytes cytotoxiques de l'immunité innée, les cellules NK constituent le premier

front de résistance contre l'infection virale [3]. Elles font la différence entre cellules normales et anormales grâce à des récepteurs inhibiteurs et activateurs qui modulent aussi leur activité cytotoxique. Les ligands des récepteurs NK inhibiteurs sont des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH, *HLA* chez