

**ECOLE DOCTORALE
SCIENCES DE LA VIE, SANTE, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT**

Dossier de demande de contrat de recherche pour la rentrée 2017

Laboratoire d'accueil :

Unité de Nutrition Humaine UMR 1019

Directeur/Directrice de thèse :

Cécile POLGE

Co-Directeur/co-Directrice:

Daniel TAILLANDIER

Titre de la thèse : Régulation d'enzymes d'ubiquitination impliquées dans l'atrophie musculaire

Exposé du sujet proposé:

Une caractéristique commune de plusieurs maladies est un état catabolique menant à une atrophie musculaire. La principale fonction du muscle squelettique est de permettre la locomotion et la posture, mais ce tissu est également le principal réservoir de protéines du corps. Ces protéines peuvent être dégradées pour fournir des acides aminés dirigés vers la néoglucogenèse à des fins énergétiques et, lors de certaines pathologies, vers la synthèse des protéines de la réaction inflammatoire et des protéines des organes vitaux (muscles respiratoires, cœur et cerveau). Cependant, une perte musculaire incontrôlée et prolongée altère le mouvement et a des conséquences métaboliques préjudiciables, conduisant à la fragilité du patient et altérant les traitements. Le développement de stratégies pour prévenir ou limiter la perte de protéines musculaires est donc un défi majeur ; il n'existe actuellement aucun traitement efficace pour cela.

Le système protéolytique ubiquitine protéasome (UPS) est le principal acteur de la dégradation des protéines contractiles lors des fontes musculaires. Le ciblage des substrats vers la dégradation par le protéasome 26S résulte de l'action séquentielle de 3 familles d'enzymes. L'enzyme E1 active l'ubiquitine (Ub) et la transfère à une enzyme de conjugaison E2 (40 membres). En présence d'une ubiquitine ligase E3 (> 700 membres), l'E2 fixe de façon covalente l'Ub sur un résidu lysine du substrat. Les enzymes E2 et E3 confèrent la spécificité de ciblage de l'UPS, une E2 pouvant interagir avec plusieurs E3 et *vice versa*.

Nous avons montré que l'E3 ligase MuRF1 spécifique du muscle est le principal acteur ciblant les protéines contractiles pour leur dégradation, au cours d'un état catabolique (Polge 2011 FASEB J). Ceci est en accord avec le phénotype des souris MuRF1^{-/-} qui sont résistantes à l'atrophie musculaire dans plusieurs situations cataboliques (immobilisation, traitement aux glucocorticoïdes, etc.) (Bodine, Science 2001). MuRF1 semble donc être un bon candidat à inhiber par un traitement pharmacologique pour limiter l'atrophie musculaire. Cependant, MuRF1 cible également vers la dégradation des protéines non contractiles et inhiber complètement MuRF1 aurait donc des effets secondaires. Il est donc nécessaire de savoir comment l'activité de cette E3 ligase est régulée et ce qui fait la spécificité de ciblage des protéines contractiles à dégrader.

Il est probable que seules des paires spécifiques E2-E3 conduiront à la dégradation de substrats spécifiques, comme les protéines contractiles. Nous avons identifié les E2 interagissant avec l'E3 MuRF1 mais d'importantes questions demeurent sur la régulation de ces enzymes. 1) Le substrat peut-il influencer l'association d'une paire E2-MuRF1 ? 2) Le chargement d'une E2 par l'Ub favorise-t-il l'assemblage du complexe E2-MuRF1 ? Existe-t-il une régulation par la co-localisation des partenaires (E2, E3, substrat) en réponse à signal catabolique ?

Le sujet de thèse proposé vise à répondre à ces questions pour 1 ou 2 des couples E2-MuRF1 identifiés. L'influence de ces couples sur la dégradation des protéines contractiles sera testée par co-expression des protagonistes en cellules HEK, suivie de western blot afin d'évaluer la dégradation du substrat. Les autres techniques utilisées seront des techniques d'interaction protéines-protéines (*Résonance plasmonique de surface [Biacore], split-GFP en cellules de mammifères, chromatographie d'exclusion*), ainsi que des techniques de (co-)localisation cellulaire en myotubes (*GFP ou immuno-marquage*).

Publications récentes du laboratoire

1. Aniot, J., Polge, C., Claustre, A., Combaret, L., Bechet, D., Attaix, D., Heng, A.-E., Taillandier, D. (2016). Upregulation of MuRF1 and MAFbx participates to muscle wasting upon gentamicin-induced acute kidney injury. International Journal of Biochemistry and Cell Biology. DOI : 10.1016/j.biocel.2016.04.006

Facteur d'impact (5 ans) : 4.6

2. Deval, C., Capel, F., Laillet, B., Polge, C., Bechet, D., Taillandier, D., Attaix, D., Combaret, L. (2016). Docosahexaenoic acid-supplementation prior to fasting prevents muscle atrophy in mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. DOI : 10.1002/jcsm.12103

Facteur d'impact (5 ans) : 7.5 / Quartile Q1 in category (Medecine, general & internal)

3. Polge, C., Koulmann, N., Claustre, A., Jarzaguët, M., Serrurier, B., Combaret, L., Béchet, D., Bigard, X., Attaix, D., Taillandier, D. (2016). UBE2D2 is not involved in MuRF1-dependent muscle wasting during hindlimb suspension. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. DOI : 10.1016/j.biocel.2016.06.019

Facteur d'impact (5 ans) : 4.6

4. Polge, C./ Leulmi, R., Jarzaguët, M., Claustre, A., Combaret, L., Béchet, D., Heng, A.-E., Attaix, D., Taillandier, D. (2016). UBE2B is implicated in myofibrillar protein loss in catabolic C2C12 myotubes. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 7 (3), 377-87. DOI : 10.1002/jcsm.12060

Facteur d'impact (5 ans) : 7.6 / Quartile Q1 in category (Medecine, general & internal)

5. Polge, C., Attaix, D., Taillandier, D. (2015). Role of E2-Ub-conjugating enzymes during skeletal muscle atrophy. *Frontiers in Physiology*, 6, n.p. DOI : 10.3389/fphys.2015.00059

Facteur d'impact (5 ans) : 3.9

6. Polge, C., Heng, A.-E., Combaret, L., Bechet, D., Taillandier, D., Attaix, D. (2013). Recent progress in elucidating signalling proteolytic pathways in muscle wasting: Potential clinical implications. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23 (1), S1-S5. DOI : 10.1016/j.numecd.2012.08.008

Facteur d'impact (5 ans) : 4.1 / Notoriété à 2 ans : Excellente (nutr.diet.)

7. Polge, C., Uttenweiler-Joseph, S., Leulmi, R., Heng, A.-E., Burlet-Schiltz, O., Attaix, D., Taillandier, D. (2013). Deciphering the ubiquitin proteome: Limits and advantages of high throughput global affinity purification-mass spectrometry approaches. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 45 (10), 2136 - 2146. DOI : 10.1016/j.biocel.2013.05.031

Facteur d'impact (5 ans) : 4.6 / Notoriété à 2 ans : Correcte (biochem.mol.biol. ; cell biol.)

8. Klaus, A./ Polge, C., Zorman, S., Auchli, Y., Brunisholz, R., Schlattner, U. (2012). A two-dimensional screen for AMPK substrates identifies tumor suppressor fumarate hydratase as a preferential AMPK α 2 substrate. *Journal of Proteomics*, 75 (11), 3304-3313. DOI : 10.1016/j.jprot.2012.03.040 (Co-premier auteur)

Facteur d'impact (5 ans) : 4.3 / Notoriété à 2 ans : Excellente (biochem.res.methods)

9. Attaix, D., Taillandier, D. (2012). The missing link: Mu1 signals mitophagy and muscle wasting. *Cell Metabolism*, 16 (5), 551-552. DOI : 10.1016/j.cmet.2012.10.013

Facteur d'impact (5 ans) : 17.551 / Notoriété à 2 ans : Exceptionnelle (cell biol. ; endocrinol.metab.)

Fiche de présentation

UMR INRA 1019 Unité de Nutrition Humaine (A. Mazur)

Directrice de thèse : Cécile Polge (CR1), co-directeur Daniel Taillandier (DR2)

cecile.poge@inra.fr

Régulation d'enzymes d'ubiquitination impliquées dans l'atrophie musculaire

Une caractéristique commune à plusieurs maladies est un état catabolique menant à une atrophie musculaire. Celle-ci résulte de la dégradation des protéines contractiles par le système protéolytique ubiquitine protéasome (UPS). Un défi majeur pour limiter l'atrophie est donc de réduire la perte des protéines contractiles. Les protéines sont dégradées après marquage par une chaîne d'ubiquitine (Ub) suite à une cascade enzymatique (E1-E2-E3). Les enzymes E2 (40 membres) et E3 (> 700 membres) confèrent la spécificité de ciblage de l'UPS, une E2 pouvant interagir avec plusieurs E3 et vice versa. Seules des paires spécifiques E2-E3 conduiront à la dégradation de substrats spécifiques, comme les protéines contractiles. Nous avons montré que MuRF1, E3 ligase spécifique du muscle, est le principal acteur ciblant les protéines contractiles du muscle pour leur dégradation au cours d'états cataboliques (Polge 2011). Nous avons identifié les E2 interagissant avec MuRF1 mais d'importantes questions demeurent quant à la régulation de ces enzymes. Le sujet de thèse propose d'étudier la régulation de 2 couples E2-MuRF1

identifiés. L'influence de ces couples sur la dégradation des protéines contractiles sera testée par co-expression des protagonistes en cellules HEK. Ces travaux feront appel à des techniques de pointe d'interaction protéines-protéines (SPR- Biacore, split-GFP en cellules de mammifères, triple hybride ...) ainsi que des techniques de (co-)localisation cellulaire sur myotubes en culture.

Polge et al. (2016). UBE2B is implicated in myofibrillar protein loss in catabolic C2C12 myotubes. *J. Cachex. Sarco. Muscle*

Polge et al. (2011) Muscle actin is polyubiquitinated in vitro and in vivo and targeted for breakdown by the E3 ligase MuRF1. *FASEB J*