

Calstabine

INTRODUCTION

Bien souvent au cours de son développement la recherche utilisa des produit chimique comme la ciclosporine. Une avancée dans l'utilisation de produit chimique fut la mise au point d'un produit codifié comme FK-506 aussi connu comme Fujimycine ou **Tacrolimus** (dont le nom tacrolimus est formé à partir de **T**sukuba **mac**rolide **imm**uno**sup**pressant. Cela va permettre d'isoler en 1990 du sang périphérique humain une protéine nommée dans un premier temps comme « FK-506 binding protein » aussi référencée comme FKBP puis comme 12 kDa FKBP pour finir par être désigné **sous le nom de Calstabine**.

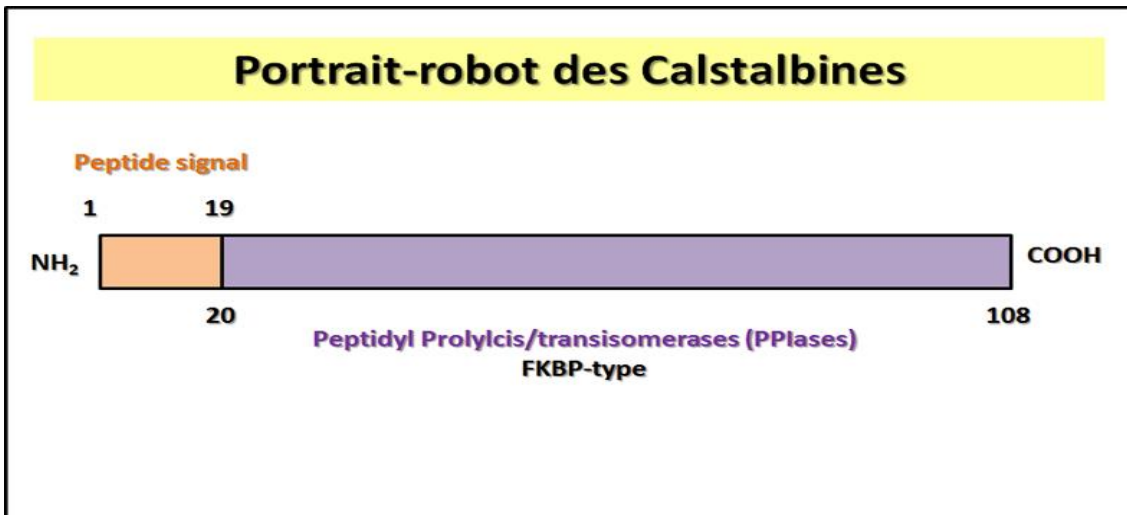
Ainsi en 1990, il va être découvert selon ce travail, [la présence d'un ADN complémentaire codant pour une protéine de liaison avec l'immunosuppresseur FK506 dans des cellules T humaines](#). L'utilisation d'un peptidylprolyl cis-trans isomérase distincte de la cyclophiline nouvellement synthétisé sous **le nom de Tacrolimus**. L'ADN isolé contenait un cadre de lecture ouvert codant pour 108 résidus d'acides aminés. Les 40 premiers résidus de la séquence d'acides aminés déduite étaient identiques à ceux de la séquence amino-terminale rapportée du FKBP bovin, indiquant que la séquence d'ADN isolée représente le gène codant pour le FKBP. L'analyse assistée par ordinateur de la séquence d'acides aminés déduite indique que la FKBP ne présente aucune homologie interne et n'a pas de similarité de séquence significative avec d'autres séquences d'acides aminés de protéines connues, y compris la cyclophiline. Ce résultat suggère que deux protéines catalytiquement similaires, la cyclophiline et la FKBP, ont évolué indépendamment. Dans une analyse par transfert de Nord, des espèces d'ARNm d'environ 1,8 kilobase qui se sont **hybridées avec l'ADNc de la FKBP humaine ont été détectées dans les ARN poly(A)+ provenant de cellules cérébrales, pulmonaires, hépatiques et placentaires et de leucocytes**. L'induction des cellules T leucémiques Jurkat avec le 12-myristate 13-acétate de phorbol et l'ionomycine n'a pas affecté le niveau de l'ARNm du FKBP. L'analyse par transfert de Southern de l'ADN génomique humain digéré par différentes enzymes de restriction suggère l'existence de seulement quelques copies de la séquence d'ADN codant pour le FKBP. Ceci contraste avec le résultat selon lequel jusqu'à 20 copies du gène de la cyclophiline et d'éventuels pseudogènes peuvent être présents dans le génome des mammifères.

Par ailleurs dans ce travail on trouve des informations nouvelles sur [le clonage moléculaire et la surexpression de la protéine humaine de liaison au FK506, FKBP](#). Le puissant agent immunosuppresseur FK506 est très efficace pour prévenir le rejet des greffes d'organes chez l'homme. Comme la ciclosporine A, le FK506 inhibe la transcription des gènes d'activation précoce des cellules T, apparemment en modulant l'activité de régulateurs transcriptionnels tels que le facteur nucléaire des cellules T activées. Une découverte remarquable est que les protéines de liaison prédominantes (immunophilines) pour la ciclosporine A et le FK506, respectivement la cyclophiline et le FKBP, sont des peptidyl-prolyl-cis-trans-isomérases qui sont puissamment et sélectivement inhibées par leurs ligands respectifs. Il est rapporté ici **l'ADN complémentaire et les séquences d'acides aminés dérivées de la FKBP humaine provenant des cellules Jurkat, ainsi que la surexpression efficace dans**

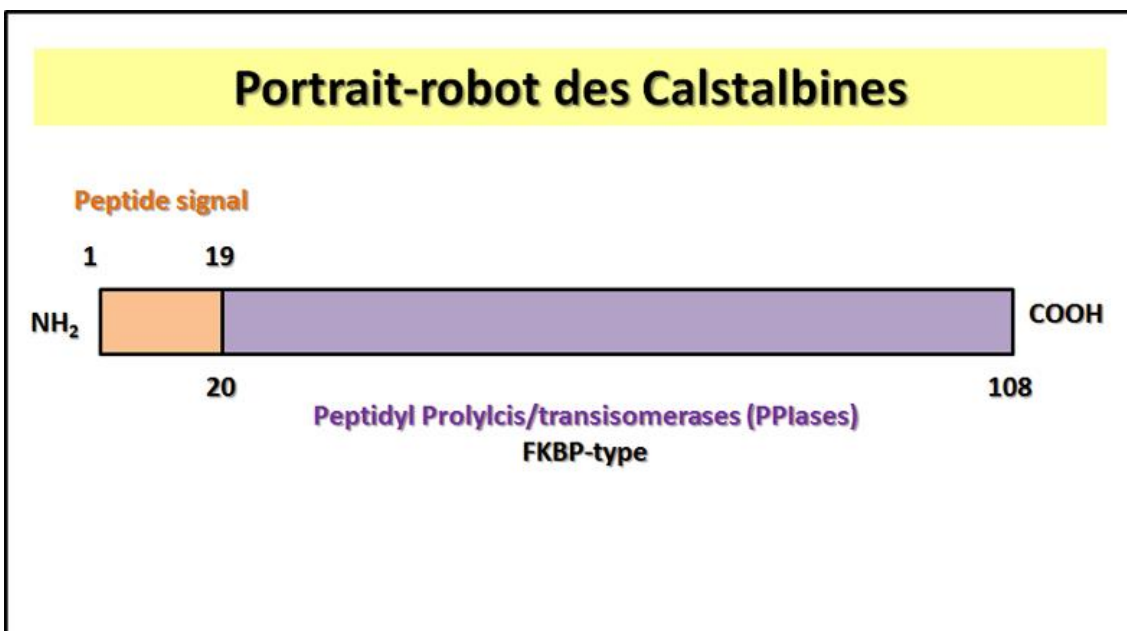
Escherichia coli de la FKBP humaine recombinante pleinement active. La séquence d'ADNc du FKBP humain présente une similarité significative avec un cadre de lecture ouvert dans le génome de *Neisseria meningitidis*. Avec l'ensemble de ces données on a pu dresser un tableau des séquences relatives à cette protéine d'abord connue comme [FKBP-12](#). Ce fut alors sous une autre terminologie que l'on identifia 2 protéines relativement similaires et portant le nom d'identification de FKBP1A et FKBP1B . Plus tard on parlera des formes spécifiques **nommées Calstabine 1 et 2**

Tableau récapitulatif des différentes séquences des Calstabines			
Protéine	PM	Locus gène	Distribution
FKBP1A Calstabine-1	12 kDa	20p13	Muscles et non Musculaire
FKBP1B Calstabine-2	12kDa	2p23.3	Muscle cardiaque

En 1994, c'est la confirmation dans cette étude du [clonage moléculaire et de l'expression d'un nouveau gène humain hautement homologue de la protéine 12kDa de liaison au FK506 humain \(hFKBP-12\) et la caractérisation de deux transcrits épissés alternativement](#). Il a été ainsi isolé un nouveau gène codant pour une protéine hautement homologue à la protéine 12kDa de liaison au FK506 humain (hFKBP-12) à partir d'une bibliothèque d'ADNc du cerveau fœtal humain et déterminé la séquence complète de l'ADNc. Le clone d'ADNc contenait le cadre de lecture ouvert de 324 nucléotides codant pour 108 acides aminés et a révélé une identité de 76 % dans la séquence d'ADN et de 88 % dans la séquence d'acides aminés prédite avec la hFKBP-12. **La séquence d'ADN et d'acides aminés de ce gène, désigné OTK4, présentait également une homologie avec d'autres FKBP dans des espèces allant de l'homme aux procaryotes.** Puis les données obtenues permettent de dresser le premier portrait-robot des Calstabines.

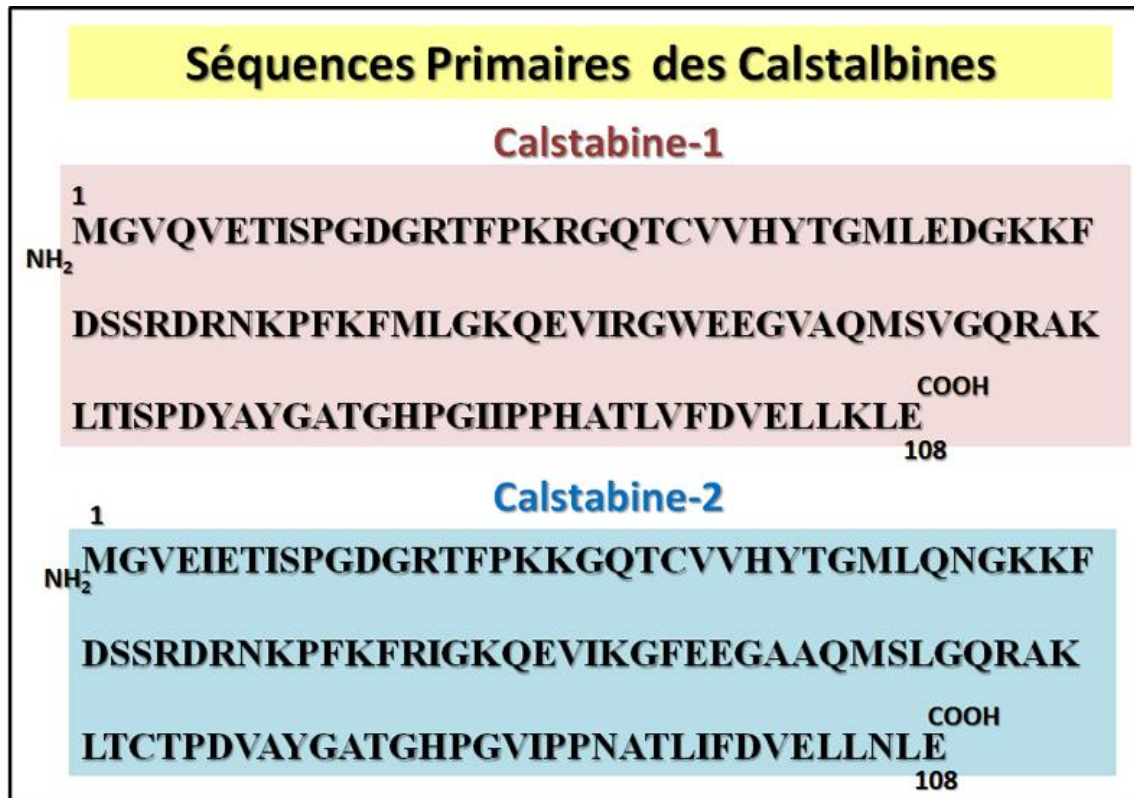


La protéine recombinante, produite dans E.coli transformé par un vecteur d'expression pGEX2T contenant l'ADNc OTK4 et purifiée, a montré une activité peptidyl-prolyl cis-trans isomérase comme les autres protéines FKBP. Une forme épissée alternativement du transcrit trouvé dans la bibliothèque d'ADNc contenait une insertion de 45 pb qui incluait un codon stop. Bien que la fonction biologique de la version tronquée d'OTK4 soit inconnue, les deux transcrits étaient exprimés de manière ubiquitaire dans les tissus humains examinés par la méthode de PCR à transcription inverse (RT-PCR). Puis les données obtenues permettent de dresser le premier portrait-robot des Calstalbines.

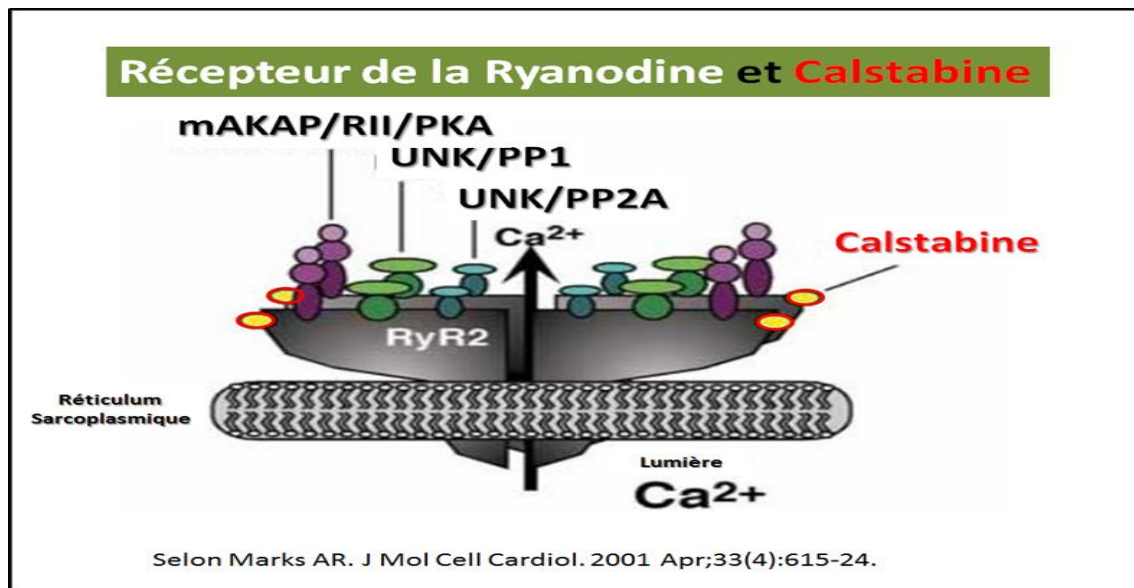


En 2001, il est présenté dans cette étude l'existence des [enzymes auxiliaires de repliement des récepteurs : le rôle fonctionnel des peptidyl prolyl cis/trans isomérases](#). Les **peptidyl prolyl cis/trans isomérases (PPIases) accessoires des récepteurs de type FKBP et cyclophiline forment des hétérocomplexes de récepteurs de différentes stabilités**. On a découvert que les PPIases s'associent à d'autres constituants des hétérocomplexes de récepteurs par l'intermédiaire de sites actifs dirigés vers la proline ou de domaines supplémentaires des enzymes. Les **PPIases à domaine unique FKBP12 et FKBP12.6**

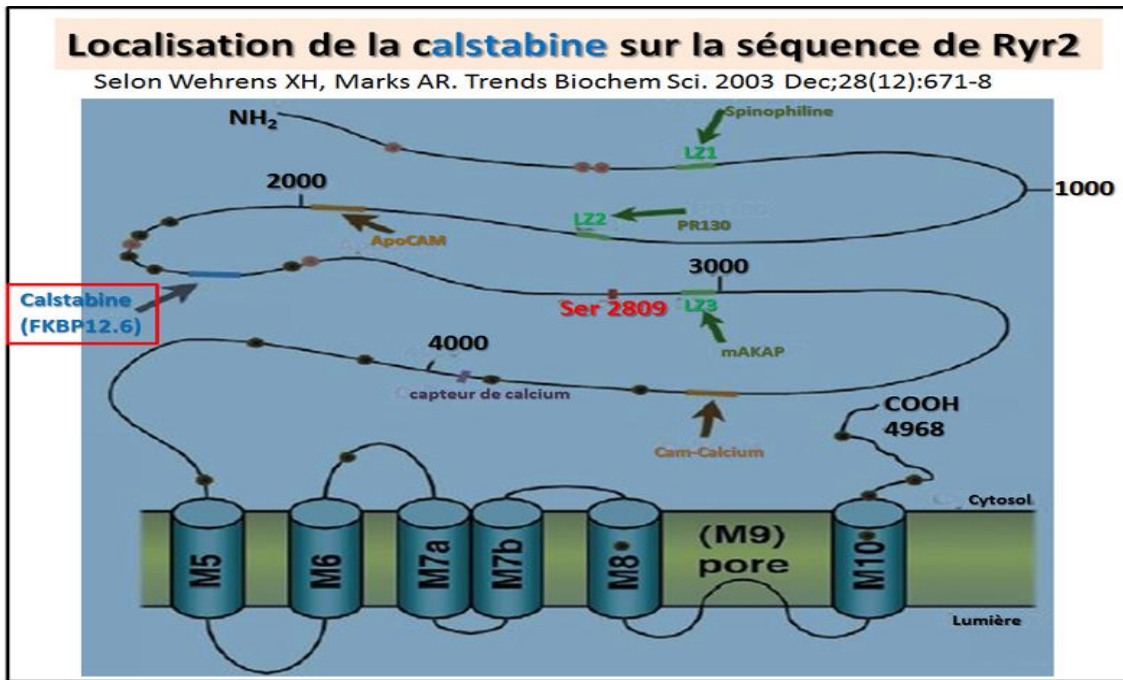
(calstabine) interagissent avec les protéines kinases des récepteurs et les canaux calciques au niveau de leurs sites actifs. En revanche, les récepteurs nucléaires hétéro-oligomères contiennent des PPIases multi-domaines comme FKBP51, FKBP52 ou la cyclophiline 40 qui interagissent directement avec la chaperonne hsp90 via les modules de répétition tétra-peptidique des enzymes auxiliaires de repliement. Les PPIases jouent un rôle essentiel dans l'arrangement fonctionnel des composants au sein des hétérocomplexes de récepteurs. Avec l'ensemble de ces données on a pu obtenir la séquence primaire des protéines référencée comme FKBP-1A et FKBP-1B respectivement référencée actuellement comme Calstabine-1 et Calstabine-2.



Il apparait aussi de nouvelles [données sur les récepteurs de la ryanodine/canaux de libération du calcium dans l'insuffisance cardiaque et la mort cardiaque subite](#). Les canaux sont des tétramères composés de quatre sous-unités RyR ou IP3R. RyR2 est nécessaire au couplage excitation-contraction (EC) dans le cœur. En utilisant la co-sédimentation et la co-immunoprécipitation, nous avons défini un complexe macromoléculaire composé de RyR2, **FKBP12.6**, PKA, les protéines phosphatases PP1 et PP2A, et une protéine d'ancrage mAKAP. Il est ainsi **démonstré que la phosphorylation de la protéine kinase A (PKA) de RyR2 dissocie FKBP12.6 et régule la probabilité d'ouverture du canal (P(o))**. Dans les cœurs humains défaillants, RyR2 est hyperphosphorylé par la PKA, ce qui entraîne une fonction défectueuse du canal en raison d'une sensibilité accrue à l'activation induite par le Ca²⁺. Un schéma montre le modèle de récepteur de la Ryanodine.



En 2003, dans cette étude il est abordé [la fonction et la régulation altérées des récepteurs cardiaques de la ryanodine dans les maladies cardiaques](#). La régulation inadaptée de RyR2 qui entraîne une fuite de la libération de Ca^{2+} dans les SR contribue probablement à l'altération de la contractilité et à la mort cardiaque subite dans l'insuffisance cardiaque. L'hyperphosphorylation de RyR2 par la PKA est associée à une modification de **la stœchiométrie du complexe macromoléculaire du canal qui comprend une déplétion de FKBP12.6 (calstabin2)**. Ces défauts acquis de RyR2 dans l'insuffisance cardiaque peuvent être inversés par un traitement aux b-bloquants. Un défaut transitoire de la fonction RyR2 induit par l'exercice est probablement à l'origine des arythmies et de la mort cardiaque subite chez les patients atteints de TVPC. Les canaux RyR2 mutants ont une affinité de liaison réduite pour le calstabin2, ce qui entraîne une hyperactivité après la phosphorylation de la PKA pendant l'exercice. Les études futures viseront des interventions qui rétablissent le complexe de canaux RyR2-calstabin2 pour traiter les troubles courants que sont l'insuffisance cardiaque et les arythmies ventriculaires. Un schéma **montre les domaines fonctionnels du récepteur de la ryanodine (RyR)**. Le schéma de la protéine RyR2 montre les domaines transmembranaires prévus (cylindres bleus) et le grand domaine N-terminal [75]. Les motifs de la fermeture éclair leucine/isoleucine (Leu/Ile) sur le RyR2 (vert) médient la liaison des protéines phosphatases PP1 et PP2A, et de la protéine kinase A (PKA), par l'intermédiaire des protéines adaptatrices respectives spinophiline, PR130 et MUSCLE A-KINASE ANCHORING PROTEIN (mAKAP), respectivement. Les deux sites de liaison pour l'apocalmoduline (ApoCaM) et la Ca^{2+} -calmoduline (Ca-CaM) sont représentés. Ser2809 indique le site de phosphorylation de la PKA sur le RyR2. Sont également représentés le capteur de Ca^{2+} et le site de liaison proposé pour calstabin2 (FKBP12.6). Les cercles bruns indiquent les mutations de RyR2 liées à la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique (CPVT). Les cercles roses indiquent les mutations liées à la dysplasie/cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit (ARVD/C).



En 2004, il est mis [en évidence que le déficit en calstaine, en récepteurs de la ryanodine semblait corrélé avec la mort cardiaque](#) subite. Les canaux RyR2 mutants présentent une **affinité de liaison réduite pour le calstabin2**. Le mécanisme moléculaire qui déclenche les arythmies induites par l'exercice est probablement une activation sympathique provoquant une libération excessive de Ca²⁺ intracellulaire par les canaux RyR2 mutants. Il est ainsi passé en revue les découvertes récentes qui identifient la fuite diastolique de Ca²⁺ dans le SR comme un mécanisme important de la fonction cardiaque déprimée et **des arythmies déclenchées dans le contexte de la stabilisation de RyR2 par la sous-unité calstabin2**.

Puis selon cette étude de nouvelles [données sont fournies sur la fonction et la régulation des récepteurs cardiaques de la ryanodine dans les maladies cardiaques](#) Le RyR2 appauvri en calstaine peut également déclencher des arythmies cardiaques à l'origine d'une mort cardiaque subite. Chez les patients atteints de tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique (TPCV), les mutations faux-sens de RyR2 entraînent une liaison réduite du calstabin2 à RyR2. L'augmentation de la phosphorylation de RyR2 et la dissociation pathologiquement accrue de calstabin2 pendant l'exercice entraînent une libération aberrante de calcium diastolique, qui peut déclencher des arythmies ventriculaires et une mort cardiaque subite. En conclusion, l'insuffisance cardiaque et la mort cardiaque subite induite par l'exercice ont été liées à des défauts dans la régulation RyR2-calstabin2, ce qui pourrait représenter une nouvelle cible pour la prévention et le traitement de ces formes de maladies cardiaques.

En 2005, avec cette étude il est possible [de décrire un renforcement de la liaison de la calstaine aux récepteurs de la ryanodine qui va améliorer les fonctions cardiaque et musculaire squelettique dans l'insuffisance cardiaque](#). L'échocardiographie à 21 jours après l'IM a démontré une augmentation significative de la fraction d'éjection chez les souris WT traitées avec le JTV519 (45,8 +/- 5,1%) par rapport au placebo (31,1 +/- 3,1% ; P < 0,05). Les expériences de co-immunoprécipitation ont révélé une augmentation de la quantité de

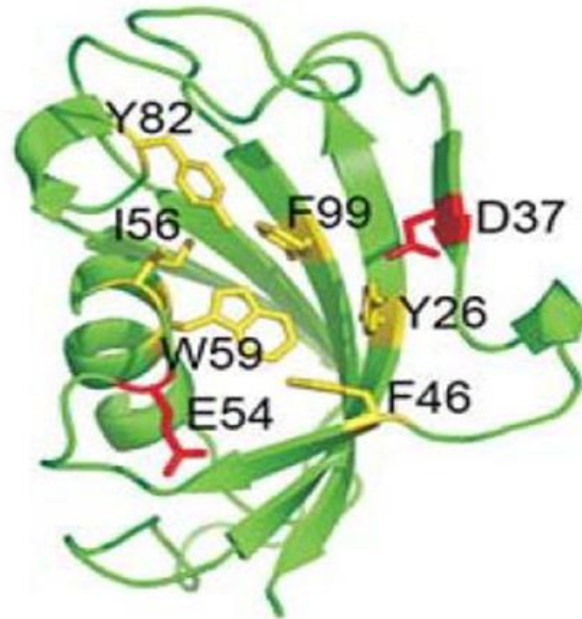
calstabin-2 liée au canal RyR2 chez les souris WT traitées par le JTV519. Cependant, le JTV519 n'a montré aucun de ces effets bénéfiques chez les souris calstabin-2-/- avec IM. De plus, le JTV519 a amélioré la fatigue du muscle squelettique chez les souris WT et calstabin-2-/- avec HF en augmentant la liaison du calstabin-1 à RyR1. L'observation que le traitement avec le JTV519 améliore la fonction cardiaque chez les souris WT **mais pas chez les souris calstabin-2-/- indique que la liaison du calstabin-2 à RyR2 est nécessaire pour les effets bénéfiques dans les cœurs défaillants.** Ce travail permet de conclure que le JTV519 peut fournir un moyen spécifique de traiter la myopathie cardiaque et du muscle squelettique dans l'HF en augmentant la liaison de la calstabin à RyR.

Puis avec cet investigation on va mieux comprendre [la stabilisation de la calstabin 2 ce qui conduit à une nouvelle approche dans la mort cardiaque subite.](#) Les souris déficientes en Calstabin2 ont des cœurs structurellement normaux mais présentent des arythmies cardiaques ventriculaires induites par l'exercice qui provoquent une mort subite. **Le stabilisateur de la calstabin2, JTV519, n'a pas empêché les arythmies chez les souris calstabin2-/-, mais a réduit les arythmies chez les souris calstabin2+/-, ce qui illustre le potentiel anti-arythmique de la stabilisation de la calstabin2.** La tachycardie ventriculaire polymorphe familiale chez l'homme a été liée à des mutants faux-sens dans le gène hRyR2. Dans les cellules HEK293, ces mutants RyR2 ont montré moins de liaison de 35S-calstabin2 que le type sauvage, indiquant une affinité de liaison réduite. Dans la fibrillation auriculaire humaine et l'insuffisance cardiaque, où l'on observe une dissociation excessive de la calstabin2 du récepteur RyR2 in vitro, le JTV519 est capable d'inverser ce phénomène. En conclusion, la calstabin2 est une nouvelle cible importante dans la mort cardiaque subite associée à des cœurs structurellement normaux, et dans le traitement de la fibrillation auriculaire et de l'insuffisance cardiaque.

En 2008, dans cette étude [on va trouver des informations nouvelles sur les protéines de la famille FKBP : des immunophilines aux fonctions biologiques polyvalentes](#). En fait, les implications thérapeutiques des ligands de l'immunophiline dans le traitement des troubles neurodégénératifs se sont accumulées. Le FK506 et ses dérivés sans activité immunosuppressive se lient aux sites actifs conservés des membres canoniques de la FKBP tels que la FKBP12, qui présente une activité PPIase. Ces ligands d'immunophiline montrent une efficacité variable dans des modèles animaux de la maladie de Parkinson, de la démence et des lésions de la moelle épinière, où les immunophilines canoniques fonctionnent comme des chaperons et sont associées au repliement des protéines et à la modulation du stress oxydatif. En revanche, chez les membres non canoniques de la FKBP, comme la FKBP38, le site de liaison au FK506 n'est pas conservé et ne présente ni activité PPIase ni affinité pour le FK506. Il est intéressant de noter que l'inhibition par de petites molécules du membre non canonique de la famille FKBP semble protéger les neurones et induire la prolifération des cellules souches neuronales dans un modèle d'ischémie cérébrale focale chez le rat. À l'heure actuelle, les mécanismes d'action restent peu clairs. Cette revue se concentre sur **les caractéristiques moléculaires des membres canoniques et non canoniques de la famille FKBP** et sur les fonctions biologiques de leurs ligands dans la réalisation d'activités neuroprotectrices et neurotrophiques. comme dans l'article en référence un schéma présente la **structure de FKBP12 liée au tacrolimus (FK506) (PDB ID : 1FKJ). FKBP12 est représenté par un ruban.** Les résidus conservés dans les domaines de la FKBP humaine et pertinents pour la liaison du substrat et la catalyse sont représentés par des bâtonnets et marqués.

Structure du FKBP12 lié au tacrolimus (FK506)

Selon Kang CB, Hong
Dhe-Paganon S, Yoon
Neurosignals. 2008;16(4):



En 2009, il s'agit dans cette étude [du dépistage des stabilisateurs du complexe calstabin1-récepteur de la ryanodine JTV-519 et S-107 dans les analyses de contrôle du dopage](#). Des études récentes ont souligné l'influence de l'exercice sur la stabilité du complexe calstabin1-récepteur de la ryanodine1 du muscle squelettique, qui représente un canal de libération de Ca^{2+} majeur. La modification progressive du récepteur de ryanodine de type 1 du muscle squelettique (RyR1), **combinée à des niveaux réduits de calstabin1 et de phosphodiesterase PDE4D3, a entraîné une fuite de Ca^{2+} qui a été suggérée comme une cause de dommages musculaires et d'altération de la capacité d'exercice**. L'utilisation de dérivés de la 1,4-benzothiazépine, tels que les candidats médicaments JTV-519 et S-107, a permis de renforcer la liaison de la calstabin1 à RyR1 et d'améliorer de manière significative la fonction musculaire squelettique et les performances à l'effort chez les rongeurs. Le mécanisme de remodelage de RyR1 dans des conditions d'exercice s'étant avéré similaire chez la souris et l'homme, on s'attend à un effet comparable du JTV-519 et du S-107 sur les athlètes entraînés, ce qui rend ces composés pertinents pour les contrôles antidopage.

En 2011, il est indiqué dans cette [étude que les protéines de la famille FKBP sont à considérer comme de nouveaux biomarqueurs prometteurs du cancer](#). Après que la dérégulation de leur expression ait été observée dans les tissus cancéreux, il est devenu de plus en plus clair que les membres de FKBP jouaient un rôle important dans la tumorigenèse et la réponse aux chimiothérapies et radiothérapies et que les membres de **FKBP pouvaient agir comme oncogènes ou suppresseurs de tumeurs selon le type de tissu**. De nombreuses données issues d'études in vitro et cliniques ouvrent la voie à de nouveaux rôles prometteurs pour les FKBP en tant que biomarqueurs de diagnostic, de pronostic ou de suivi thérapeutique du cancer.

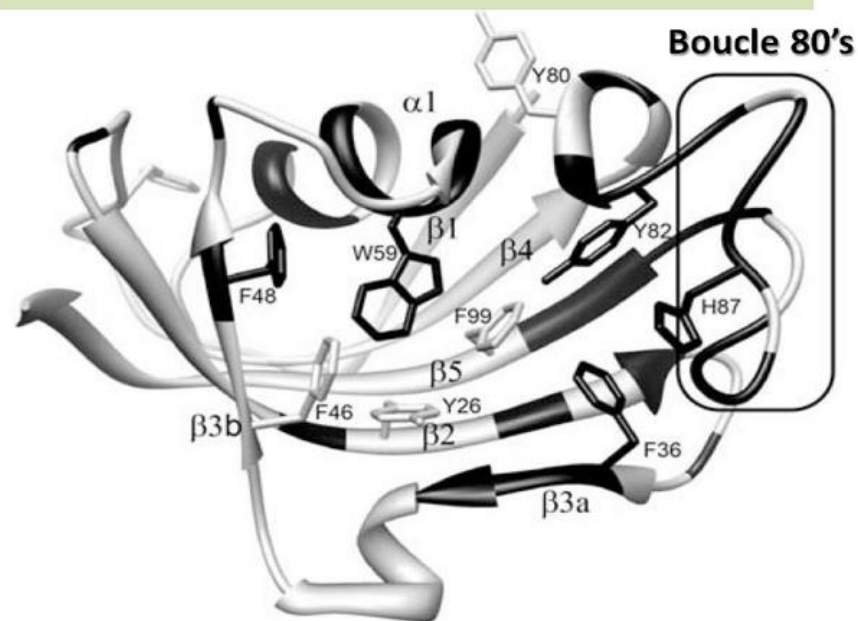
En 2012, il est effectué avec ce travail [un dépistage négatif des mutations des gènes calstabin 1 et 2 chez les patients atteints de cardiomyopathie dilatée](#). Il a été testé l'hypothèse selon laquelle les mutations des calstabines peuvent provoquer une cardiomyopathie dilatée chez l'homme en examinant 186 patients atteints de cardiomyopathie dilatée idiopathique

pour détecter des altérations génétiques dans les gènes **des calstabines 1 et 2 (FKBP12 et FKBP12.6)**. **Aucun variant faux-sens n'a été trouvé.** Cinq variations non codantes ont été trouvées mais sans lien avec la maladie. En conclusion : Ces données corroborent d'autres études suggérant que **les mutations des gènes FKBP12 et FKBP12.6 ne sont pas couramment liées aux maladies cardiaques.**

En 2015, une nouvelle investigation rapporte que [l'inhibition de la voie du mévalonate améliore la régulation négative de FKBP12.6 induite par l'anoxie et le dysfonctionnement du traitement du calcium intracellulaire dans les cellules H9c2.](#) Des cardiomyocytes H9c2 en culture ont été exposés à une anoxie aiguë après un prétraitement avec différents médicaments qui antagonisent spécifiquement cinq composants clés de la voie du mévalonate, notamment la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA réductase, la farnésyl pyrophosphate synthase, la Rho-kinase, Rac1 et la farnésyltransférase Ras. Il a été ensuite évalué les effets de la voie du mévalonate sur la mort cellulaire induite par l'anoxie, l'expression du canal de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique (récepteur 2 de la ryanodine) et de son régulateur, la protéine 12.6 de liaison au FK506, ainsi que la libération fonctionnelle du calcium à partir des réserves de calcium intracellulaire. Ces expériences ont confirmé le rôle des protéines prénylées dans la régulation du dysfonctionnement des cardiomyocytes, notamment via les voies de signalisation liées à RhoA et Ras. En outre, ces données ont démontré que l'inhibition de la voie du mévalonate pouvait améliorer **le dysfonctionnement de la gestion du calcium médié par l'anoxie avec l'expression régulée à la hausse de la protéine 12.6 de liaison au FK506** et, par conséquent, ont fourni des preuves que la protéine 12.6 de liaison au FK506 est un "stabilisateur" du récepteur 2 de la ryanodine.

Alors il est étudié en détail dans cette analyse [la dynamique conformationnelle dans les domaines de la famille de protéines FKBP.](#) Contrairement à leurs étroites similitudes structurales, ces quatre domaines FKBP présentent une diversité substantielle dans leur flexibilité conformationnelle. Un certain nombre de **transitions conformationnelles distinctes ont été caractérisées pour le FKBP12, s'étendant sur des périodes de 20 s à 10 ns**, et dans chaque cas, il a été démontré que cette dynamique diffère nettement du comportement conformationnel d'un ou plusieurs des trois autres domaines FKBP. La conception d'inhibiteurs basée sur la flexibilité des protéines pourrait s'appuyer sur les transitions qui sont significativement peuplées dans une seule des protéines ciblées. Les similitudes et les différences entre ces quatre protéines permettent de mieux comprendre comment les effets dynamiques se propagent à travers les domaines FKBP et comment ces transitions intramoléculaires peuvent être couplées à des transitions à plus grande échelle qui sont essentielles aux complexes de signalisation dans lesquels ces domaines FKBP fonctionnent. Un schéma représente **la distribution structurale des résidus présentant un doublement de la résonance amide dû à un échange conformationnel lent dans le domaine FKBP12.** Les résidus qui produisent des doublements de leurs résonances amides **sont indiqués en noir.** Les chaînes latérales aromatiques qui seront discutées plus en détail dans l'article en référence et sont également indiquées.

Potentiel échange conformationnel lent dans le domaine FKBP12



Selon LeMaster DM, Hernandez G. *Curr Mol Pharmacol*. 2015;9(1):5-26.

En 2016

[Calstabin 2: An important regulator for learning and memory in mice.](#)

Yuan Q, Deng KY, Sun L, Chi S, Yang Z, Wang J, Xin HB, Wang X, Ji G. *Sci Rep*. 2016 Feb 18;6:21087. doi: 10.1038/srep21087.

We found that Calstabin2 knockout (KO) mice showed significantly reduced performance in Morris Water Maze (MWM), long-term memory (LTM) contextual fear testing, and rotarod test when compared to wild type (WT) littermates. Indeed, genetic deletion of Calstabin2 reduced long-term potentiation (LTP) at the hippocampal CA3-CA1 connection, increased membrane excitability, and induced RyR2 leak. Finally, we demonstrated that the increase in cytoplasmic calcium activated Ca(2+) dependent potassium currents and led to neuronal apoptosis in KO hippocampal neurons. Thus, these results suggest that neuronal RyR2 Ca(2+) leak due to Calstabin2 deletion contributes to learning deficiency and memory impairment.

[Total chemical synthesis, refolding, and crystallographic structure of fully active immunophilin calstabin 2 \(FKBP12.6\).](#)

Bacchi M, Jullian M, Sirigu S, Fould B, Huet T, Bruyand L, Antoine M, Vuillard L, Ronga L, Chavas LM, Nosjean O, Ferry G, Puget K, Boutin JA. *Protein Sci*. 2016 Dec;25(12):2225-2242. doi: 10.1002/pro.3051. Epub 2016 Oct 13. PMID: 27670942

We synthesized the enzyme using the native chemical ligation approach and obtained several tens of milligrams. The polypeptide was refolded properly, and we characterized its biophysical properties, measured its catalytic activity, and then crystallized it in order to obtain its tridimensional structure after X-ray diffraction. The refolded enzyme was compared to the recombinant, wild-type enzyme. In addition, as a first step of validating the whole process, we incorporated exotic amino acids into the N-terminus. Surprisingly, none of the changes altered the catalytic activities of the corresponding

mutants. Using this body of techniques, avenues are now open to further obtain enzymes modified with exotic amino acids in a way that is only barely accessible by molecular biology, obtaining detailed information on the structure-function relationship of enzymes reachable by complete chemical synthesis.

[Extension of Health Span and Life Span in Drosophila by S107 Requires the calstabin Homologue FK506-BP2.](#)

Kreko-Pierce T, Azpurua J, Mahoney RE, Eaton BA. J Biol Chem. 2016 Dec 9;291(50):26045-26055. doi: 10.1074/jbc.M116.758839. Epub 2016 Nov 1. PMID: 27803160
9;291(50):26045-26055. doi: 10.1074/jbc.M116.758839. Epub 2016 Nov 1. PMID: 27803160

The oxidation-dependent dissociation of the Calstabin protein from the ryanodine receptor has been shown to result in reduced muscle function in mammals. The S107 molecule is able to reestablish this binding resulting in improved muscle function. We find that S107 is able to restore motor function in aging Drosophila to young levels, and this effect of S107 is absent in calstabin (FK506-BP2) mutants. Interestingly, FK506-BP2 mutant flies have reduced sensitivity to the effects of age and oxidative stress on motor function between 7 and 35 days of age. Muscle expression of FK506-BP2 in FK506-BP2 mutants completely restores the sensitivity of motor function to both age and oxidative stress, supporting the idea that the age-dependent decline in motor function in Drosophila requires FK506-BP2 function within the muscle. Although FK506-BP2 mutant flies are found to have less sensitivity to oxidative stress, FK506-BP2 mutants do not live longer than wild type. These results demonstrate that the deleterious effects of oxidation on motor function early in life are the result of a singular event that does not compromise survival.

En 2018, il est réalisé une [analyse comparative des protéines de la famille FKBP avec une évaluation, de la structure et la fonction chez les mammifères et Drosophila melanogaster.](#) Cette revue permet d'évaluer les rôles fonctionnels des protéines de la famille FKBP, et de résumer systématiquement les similitudes et les différences entre les protéines FKBP chez la drosophile et les mammifères. **Des thérapeutiques spécifiques ciblant les voies de signalisation cellulaires seront également discutées.**

Puis c'est une étude générale sur [les ligands des protéines de la famille des FKBP, à savoir où en sommes-nous et où allons-nous ?](#) Ces dernières années, de nombreux membres de la famille des protéines de liaison au FK506 (FKBP) ont été de plus en plus liés à diverses maladies. Le domaine de liaison des FKBP ne diffère que par quelques résidus d'acides aminés, mais leurs rôles biologiques sont polyvalents. Les ligands de haute affinité avec une sélectivité entre homologues proches sont rares. Cette revue donne un aperçu **des ligands les plus importants développés pour les FKBP et met en évidence une perspective pour les développements futurs.** Plus précisément, les FKBP humaines et les maladies qui y sont associées seront abordées, ainsi que les FKBP microbiennes dans le contexte de la thérapeutique antibactérienne et antifongique. La dernière section donne un aperçu des ligands de haute affinité en tant qu'outils chimiques et dimérisateurs.

En 2019, une nouvelle étude rapporte [l'expression dynamique de DmFKBP12/Calstabin pendant le développement embryonnaire précoce de Drosophila melanogaster.](#) En tant que

régulateur critique du complexe DmRyR-FKBP, l'expression de DmFKBP12 chez la drosophile fluctue temporellement et géographiquement avec la formation des systèmes d'organes. Ces résultats indiquent que DmFKBP12 et la signalisation calcique associée aux RyR jouent un rôle essentiel dans le développement réussi de *Drosophila melanogaster*. **Des études supplémentaires sur les différences entre le RyR-FKBP12 des mammifères et le DmRyR-FKBP12 de la drosophile peuvent être exploitées pour développer des pesticides sûrs.**

En 2021, de nouvelles données apparaissent sur [le stabilisateur du récepteur de la ryanodine S107 qui ne parvient pas à soutenir la neurogenèse des neurones moteurs in vitro](#). Il a été étudié si le S107, un composé stabilisateur de RyR (Rycal), est bénéfique pour la survie et la neuritogenèse des motoneurones de la moelle épinière in vitro. Il a été utilisé un modèle de tranche de moelle épinière et la lignée cellulaire NSC-34, semblable aux motoneurones. Les effets de la S107 ont été testés par coloration vitale à l'iodure de propidium/diacétate de fluorescéine, détermination de l'indice mitotique par incorporation de BrdU et paramètres de germination des neurites. Les résultats ont montré que **le S107 (i) n'a pas d'effet sur la gliose résultant de la préparation des tranches, (ii) n'a pas d'effet sur la survie et la prolifération des motoneurones et (iii) altère la germination des neurites, qu'il s'agisse d'un processus de différenciation (cellules NSC-34) ou de régénération (tranches de moelle épinière)**. Ces résultats soulignent la nécessité d'une homéostasie flexible du Ca²⁺ fournie par le RE pour la ré-initiation de la neuritogenèse.

L'étude présentée ici porte sur [les récepteurs de la Ryanodine squelettique qui apparaissent comme impliqués dans l'altération de la différenciation myogénique chez les patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne](#). La suppression de l'expression de RYR1 à l'aide d'un si-ARN spécifique dans un contrôle sain a induit un retard de différenciation similaire. Dans les myotubes DMD, la concentration intracellulaire de Ca²⁺ au repos a augmenté, mais la libération de Ca²⁺ médiée par RYR1 n'a pas été modifiée par rapport aux myotubes témoins. L'incubation avec le stabilisateur d'interaction RYR-calstabinine S107 a réduit la concentration de Ca²⁺ au repos dans les myotubes DMD à des valeurs de contrôle et **a amélioré la liaison de calstabinine1 au complexe RYR1**. Le S107 a également amélioré la différenciation myogénique dans la DMD. En outre, la concentration intracellulaire de Ca²⁺ était corrélée à la fibrose endomysiale, qui est le seul paramètre myopathologique associé à un mauvais résultat moteur chez les patients atteints de DMD. Cela suggère une relation potentielle entre le dysfonctionnement de RYR1 et la déficience motrice. Cette étude met en évidence la fuite de Ca²⁺ médiée par RYR1 dans les myotubes humains DMD et son rôle clé dans la déficience de la différenciation myogénique. **La stabilisation de RYR1 pourrait constituer une stratégie thérapeutique complémentaire intéressante dans la DMD.**

En 2022, dans ce travail on trouve [des données sur le stabilisateur de l'interaction entre le récepteur de la ryanodine et la calstabinine S107 protège les neurones de l'hippocampe des altérations synaptiques GABAergiques induites par les oligomères Aβ42](#). La forme oligomérique du peptide amyloïde bêta 42 (Aβ42) contribue au développement des anomalies synaptiques et des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer. À ce jour, les connaissances sur la façon dont l'Aβ42 modifie les paramètres élémentaires de la fonction synaptique GABAergique sont insuffisantes. Il

est constaté que l'Abeta42 augmentait la fréquence et l'amplitude des courants GABAergiques miniatures ainsi que l'amplitude des courants postsynaptiques inhibiteurs évoqués. Lorsque on se concentre sur la dépression d'impulsion appariée (PPD) pour établir si la probabilité de libération du GABA était affectée par l'Abeta42, il n'est pas observé de changement significatif. En revanche, une étude plus détaillée des effets présynaptiques induits par l'Abeta42 au moyen d'une analyse de fluctuation de probabilité multiple et d'une analyse d'amplitude cumulative a montré une augmentation à la fois de la taille du pool facilement libérable responsable de la libération synchrone et du nombre de sites de libération. Il est également cherché à savoir si les récepteurs de la ryanodine (RyRs) contribuaient à exacerber. Il est observé que le stabilisateur de l'interaction RyR-calstabine S107 restaurait les paramètres synaptiques à des valeurs comparables à celles mesurées dans des conditions de contrôle. En conclusion, ces résultats clarifient les mécanismes de potentialisation des synapses GABAergiques induits par l'Abeta42. Il est suggéré également que les RyRs sont impliqués dans le contrôle de l'activité synaptique au cours de la phase précoce de l'apparition de la MA et que leur stabilisation pourrait représenter une nouvelle approche thérapeutique pour le traitement de la MA. **POINTS CLÉS : L'accumulation du peptide bêta-amyloïde 42 (Abeta42) est une caractéristique clé de la maladie d'Alzheimer (MA) et provoque des dysfonctionnements synaptiques. À ce jour, les effets de l'accumulation d'Abeta42 sur les synapses GABAergiques sont mal compris. Les résultats rapportés ici suggèrent que, de manière similaire à ce qui est observé sur les synapses glutamatergiques, l'Abeta42 modifie les synapses GABAergiques en ciblant les récepteurs de la ryanodine et en provoquant un dérèglement du calcium.** Les déficiences GABAergiques peuvent être rétablies par le stabilisateur de l'interaction récepteur de ryanodine-calstabine S107. Sur la base de cette recherche, la stabilisation des RyRs pourrait représenter une nouvelle stratégie pharmaceutique pour prévenir ou retarder la maladie d'Alzheimer.

En 2024, cet article donne [un Aperçu sur la structure de l'interaction de la protéine non structurale 1 du SRAS-CoV-2 avec la cyclophiline humaine et la FKBP1 pour réguler la production d'interféron.](#) La pandémie de maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) causée par le coronavirus SARS-CoV-2 et l'apparition perpétuelle de nouveaux variants justifient l'étude des détails moléculaires et structuraux du processus d'infection et de la modulation de la défense de l'hôte par les protéines virales. Cette lettre fait état des approches expérimentales et informatiques combinées pour fournir des informations clés sur la base structurale et fonctionnelle de l'association de Nsp1 avec différentes cyclophilines et FKBP dans la régulation de l'infection par le COVID-19. **Il est démontré la stabilité en temps réel et la dynamique fonctionnelle du complexe Nsp1-CypA/FKBP1A et étudié la réorientation d'inhibiteurs potentiels susceptibles de bloquer ces interactions.** Dans l'ensemble, nous avons fourni des informations sur le rôle inhibiteur de Nsp1 dans la production d'interféron en aval, un aspect clé de la défense de l'hôte qui prévient l'infection par le SARS-CoV-2 ou une famille apparentée de coronavirus.

En conclusion

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

1.) La FK506-BINDING PROTEIN 1A; [FKBP1A](#) soit la **Calstabine** avec son lot de références historiques.

2.) la FK506-BINDING PROTEIN 1B; [FKBP1B](#) soit la **Calstabine2** avec son lot de références historiques.

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