



**HAL**  
open science

## **Arpp19 et ENSA, deux inhibiteurs de la phosphatase PP2A-B55 contrôlent de manière différentielle le cycle cellulaire**

Khaled Hached, Perrine Goguet-Rubio, Sophie Charrasse, Thierry Lorca,  
Anna Castro

### ► To cite this version:

Khaled Hached, Perrine Goguet-Rubio, Sophie Charrasse, Thierry Lorca, Anna Castro. Arpp19 et ENSA, deux inhibiteurs de la phosphatase PP2A-B55 contrôlent de manière différentielle le cycle cellulaire. *Médecine/Sciences*, 2019, 35 (6-7), pp.504-506. 10.1051/medsci/2019104 . hal-02413996

**HAL Id: hal-02413996**

**<https://hal.umontpellier.fr/hal-02413996v1>**

Submitted on 17 Oct 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Arpp19 et ENSA, deux inhibiteurs de la phosphatase PP2A-B55 contrôlent de manière différentielle le cycle cellulaire

Khaled Hached, Perrine Goguet-Rubio, Sophie Charrasse, Thierry Lorca, Anna Castro

Centre de recherche de biologie cellulaire de Montpellier (CRBM), CNRS UMR 5237, Université de Montpellier, 1919, route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5, France.

[thierry.lorca@crbm.cnrs.fr](mailto:thierry.lorca@crbm.cnrs.fr)

[anna.castro@crbm.cnrs.fr](mailto:anna.castro@crbm.cnrs.fr)

► La mitose est un événement cellulaire dont l'organisation temporelle précise assure la transmission rigoureuse du matériel génétique d'une cellule mère à deux cellules filles. L'entrée d'une cellule en mitose est induite par la phosphorylation massive de protéines, qui résulte d'un équilibre entre la kinase cycline B/cdk1 (*cyclin-dependent kinase 1*) et la phosphatase PP2A-B55. Pendant la phase G2, la cycline B est synthétisée et se lie à la cdk1 endogène. Ce complexe est immédiatement phosphorylé sur les résidus Thr14 et Tyr15 de la sous-unité catalytique cdk1 par les kinases Myt1 et Wee1, ce qui maintient la kinase sous une forme inactive [11] (→).

(→) Voir la nouvelle de A. Gharbi-Ayachi et al., *m/s* n° 4, avril 2011, page 352

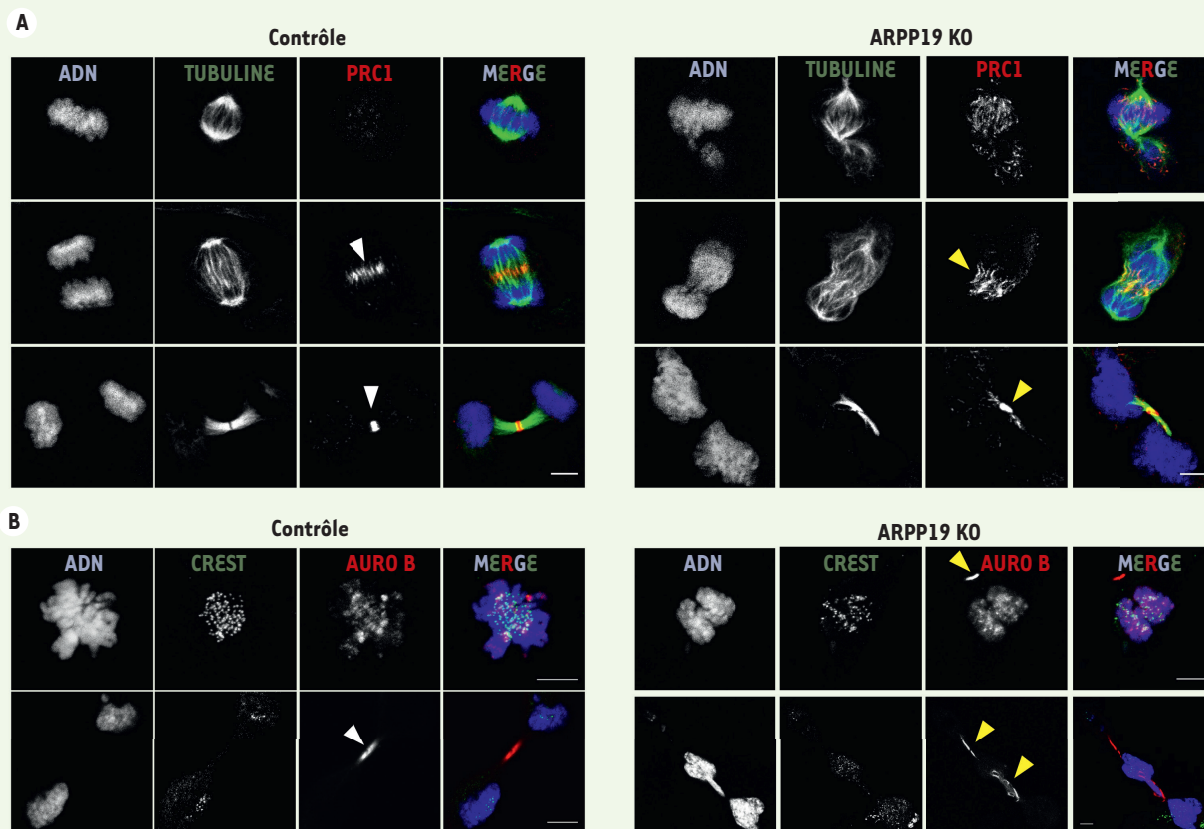
À la transition G2-M, ces résidus sont déphosphorylés par la phosphatase Cdc25, et le complexe cycline B/cdk1 atteint sa pleine activité. Cependant, bien qu'elle soit totalement active, cette kinase ne pourra phosphoryler des substrats mitotiques que si la phosphatase PP2A-B55 est inhibée [1]. Les mécanismes de contrôle de l'activité de PP2A-B55 n'ont été découverts que récemment. Nous avons participé à la découverte de la voie de signalisation contrôlant cette activité au cours du cycle cellulaire. Nous avons en effet montré que la kinase Greatwall contrôle indirectement l'activité de PP2A-B55 et est essentielle au déclenchement de la mitose [2, 11]. Des études ultérieures réalisées dans

deux laboratoires, dont le nôtre, ont permis d'identifier Arpp19 (*cAMP-regulated phosphoprotein 19*) et ENSA (*alpha endosulfine*), deux protéines de la même famille codées par des gènes paralogues, comme substrats de Greatwall. Phosphorylés par Greatwall à la transition G2-M, Arpp19 et ENSA s'associent à PP2A-B55 inhibant son activité phosphatase [3, 4]. Bien que, lorsqu'elles sont surexprimées, les protéines Arpp19 et ENSA favorisent de manière similaire l'entrée en mitose de cellules arrêtées en phase G2, leur rôle physiologique précis restait inconnu. En raison de la faible abondance de Arpp19 dans la cellule, son rôle dans le contrôle du cycle cellulaire a même été mis en doute [4, 5]. Récemment, nous avons montré que l'inhibition de la phosphatase PP2A-B55 par ENSA était essentielle à la progression normale de la phase S [6]. Dans des cellules humaines, la suppression d'ENSA entraîne en effet une diminution du nombre de fourches de réplication actives et une extension du temps de réplication de l'ADN, en raison de la déphosphorylation et de la déstabilisation du facteur de réplication Treslin.

Afin de mieux comprendre les rôles physiologiques de Arpp19 et ENSA, nous avons construit des souris invalidées de façon conditionnelle (*conditional knock-out*, cKO) pour ces deux protéines. Pour cela, nous avons inséré des séquences lox dans les gènes codant Arpp19 et ENSA, ce qui induit l'excision de ces

séquences lorsque la recombinaison Cre est exprimée. De manière inattendue, l'invalidation d'*Arpp19* entraîne un arrêt précoce du développement embryonnaire, avant la gastrulation [7]. À l'inverse, les embryons dont le gène *ENSA* a été invalidé se développent normalement, au moins jusqu'au stade embryonnaire E8,5 après la gastrulation. Ce résultat indique donc qu'*Arpp19*, mais pas *ENSA*, est un gène essentiel au développement précoce de l'embryon.

Nous avons ensuite étudié plus en détail les conséquences de la suppression d'*Arpp19* sur des fibroblastes embryonnaires de souris (MEF) et avons montré qu'*Arpp19* est essentielle à la survie et à la prolifération de ces cellules. Lorsqu'elles sont privées d'*Arpp19*, ces cellules dépassent la phase S, entrent sans retard en mitose, mais présentent ensuite d'importants défauts lors de la progression de cette dernière, en particulier une perte de condensation des chromosomes. L'ADN, normalement condensé à l'entrée en mitose, se décondense ensuite au cours de la prométaphase ou au début de l'anaphase, ce qui entraîne un défaut de la séparation des chromosomes, et une durée considérablement prolongée de la mitose. Nous avons également observé des pontages dans l'ADN, des défauts d'alignement et de ségrégation des chromosomes, ainsi qu'un nombre significatif de cellules multinucléées ou possédant des micronoyaux. Ces défauts



**Figure 1. Localisation des protéines de cytokinèse PRC1 et Aurora B dans les fibroblastes embryonnaires de souris suite à l'inactivation du gène *Arpp19*.** Les cellules ont été privées (ARPP19 KO) ou non (contrôle) de la protéine Arpp19 par une infection adénovirale avec des vecteurs codant la recombinase Cre ou la *green fluorescent protein* (GFP). Les localisations de PRC1 et de la  $\beta$ -tubuline (**A**) ou d'Aurora B et des kinétochores (CREST) (**B**) ont été analysées par immunofluorescence à l'aide des anticorps correspondants. L'ADN apparaît en bleu. La pointe de flèche blanche signale une localisation correcte des protéines correspondantes dans le sillon de cytokinèse, tandis que la pointe de flèche jaune indique une localisation anormale des protéines et des sillons de la cytokinèse. Barre d'échelle : 5  $\mu$ m.

ne résultent pas d'un défaut du point de contrôle de l'assemblage du fuseau mitotique, puisque ces cellules s'arrêtent en prométaphase en présence de nocodazole, un poison des microtubules, et présentent une localisation normale, au kinétochore, des protéines impliquées dans ce point de contrôle, telles que BUBR1 (*Bub1-related kinase-1*). Inversement, nous avons montré que la suppression d'*Arpp19* favorise une déphosphorylation prématurée de protéines essentielles au maintien de la mitose, et perturbe fortement l'ordre temporel des événements cellulaires lors de la sortie de la mitose. Ainsi, une proportion élevée de cellules présentent

des signes de cytokinèse avant même la ségrégation complète des chromosomes, favorisant ainsi la formation de ponts d'ADN ou conduisant à la multinucléation ou à la présence de micronoyaux. Nous avons pu attribuer ces phénomènes à une déphosphorylation prématurée de plusieurs substrats du complexe cycline B/cdk1. Nous avons en effet montré que la décondensation prématurée de l'ADN dans les cellules privées d'*Arpp19* est associée à une déphosphorylation anormale de l'histone H3 et de la sous-unité CAPD3 (*condensin-2 complex subunit D3*) de la condensine-2. La phosphorylation de CAPD3 par la cycline B/cdk1 est essentielle pour sa phosphorylation

ultérieure par Plk1 (*polo-like kinase 1*) et pour son activité de surenroulement nécessaire à la condensation de l'ADN [8, 9]. Non seulement nous avons montré une déphosphorylation prématurée de CAPD3 dans son site cycline B/cdk1 lors de la progression mitotique, mais nous avons également pu confirmer la diminution de l'activité de la Plk1. Ceci suggère que les défauts de condensation chromosomique dans ces cellules pourraient être induits par la déphosphorylation de cette sous-unité de la condensine. Nos résultats indiquent également une déphosphorylation prématurée de PRC1 (*protein regulator of cytokinesis 1*), un acteur essentiel du contrôle de la

cytotinèse. PRC1 est phosphorylée par la cycline B/cdk1, et cette phosphorylation empêche sa localisation prématurée dans le fuseau mitotique. La liaison de PRC1 dans la zone médiane du fuseau induit la fasciculation<sup>1</sup> des microtubules [10], ce qui favorise la localisation de la kinase Aurora B dans la zone intermédiaire du fuseau, une localisation essentielle pour la formation du sillon de cytotinèse. Nous avons montré que la déphosphorylation précoce de PRC1 par PP2A-B55, résultant de la perte d'Arpp19, conduit à la localisation prématurée de PRC1 et d'Aurora B sur la plaque équatoriale du fuseau mitotique et à la formation anormale du sillon de cytotinèse avant la ségrégation complète des chromosomes (Figure 1). Cela explique le nombre élevé de cellules multinucléées et l'augmentation significative des ponts d'ADN et des micronoyaux observés.

Enfin, nous pouvons également attribuer ces phénotypes à une formation prématurée de l'enveloppe nucléaire. Nous avons mis en évidence le rôle essentiel d'Arpp19 et de la phosphatase PP2A-B55 dans le profil temporel de la déphosphorylation de protéines de l'enveloppe nucléaire telles que les lamines A/C et les nucléoporines. Nous avons montré que l'absence d'Arpp19 dans les fibroblastes embryonnaires favorise une déphosphorylation prématurée des lamines A/C et des nucléoporines par PP2A-B55, ce qui

se traduit par leur localisation précoce sur les chromosomes et par conséquent par un réassemblage prématuré de l'enveloppe nucléaire.

En résumé, nos résultats indiquent qu'Arpp19, mais pas ENSA, joue un rôle essentiel dans la multiplication des cellules durant le développement embryonnaire précoce chez la souris, notamment en contrôlant la division mitotique. Inversement, nous avons établi qu'ENSA, mais pas Arpp19, contrôle la phase S dans les cellules embryonnaires. Ces résultats mettent en évidence les rôles différents de ces deux protéines codées par des gènes paralogues dans le contrôle de la division cellulaire. Ils soulèvent également de nouvelles questions concernant les mécanismes de contrôle conférant de manière différentielle à ces deux protéines leurs modes d'activation dans le temps et dans l'espace. ♦

### Arpp19 and ENSA, two PP2A-B55 phosphatase inhibitors that differentially control the cell cycle

#### REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par le Labex EpiGenMed, programme « Investissement d'avenir ».

(ANR-10-LABX-12-01), Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) « Equipes FRM 2015 », La Ligue Nationale Contre le Cancer « Equipe Labellisée ». K.H. a été soutenu par la Fondation ARC et le programme Labex EpiGenMed, et P.G.R. par le programme Labex EpiGenMed et la Fondation de France.


#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Ferrell JE. Feedback loops and reciprocal regulation: recurring motifs in the systems biology of the cell cycle. *Curr Opin Cell Biol* 2013 ; 25 : 676-86.
2. Vigneron S, Brioudes E, Burgess A, et al. Greatwall maintains mitosis through regulation of PP2A. *EMBO J* 2009 ; 28 : 2786-93.
3. Gharbi-Ayachi A, Labbe JC, Burgess A, et al. The substrate of Greatwall kinase, Arpp19, controls mitosis by inhibiting protein phosphatase 2A. *Science* 2010 ; 330 : 1673-7.
4. Mochida S, Maslen SL, Skehel M, et al. Greatwall phosphorylates an inhibitor of protein phosphatase 2A that is essential for mitosis. *Science* 2010 ; 330 : 1670-3.
5. Cundell MJ, Bastos RN, Zhang T, et al. The BEG (PP2A-B55/ENSA/Greatwall) pathway ensures cytokinesis follows chromosome separation. *Mol Cell* 2013 ; 52 : 393-405.
6. Charrasse S, Gharbi-Ayachi A, Burgess A, et al. EnsA controls S-phase length by modulating Treslin levels. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 206.
7. Hached K, Goguet P, Charrasse S, et al. ENSA and ARPP19 differentially control cell cycle progression and development. *J Cell Biol* 2019 ; 218 : 541-58.
8. St-Pierre J, Douziech M, Bazile F, et al. Polo kinase regulates mitotic chromosome condensation by hyperactivation of condensin DNA supercoiling activity. *Mol Cell* 2009 ; 34 : 416-26.
9. Abe S, Nagasaka K, Hirayama Y, et al. The initial phase of chromosome condensation requires Cdk1-mediated phosphorylation of the CAP-D3 subunit of condensin II. *Genes Dev* 2011 ; 25 : 863-74.
10. Jiang W, Jimenez G, Wells NJ, et al. PRC1: a human mitotic spindle-associated CDK substrate protein required for cytokinesis. *Mol Cell* 1998 ; 2 : 877-85.
11. Gharbi-Ayachi A, Burgess A, Vigneron S, et al. Greatwall, un nouveau gardien de la mitose. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 352-4.

<sup>1</sup> Bundling en anglais.



**Tarifs d'abonnement m/s - 2019**

**Abonnez-vous**

**à médecine/sciences**

**> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales**

---

**Bulletin d'abonnement page 594 dans ce numéro de m/s**

---

