

## **I- Généralités sur la kinase des chaînes légères de myosine (MLCK)**

### **1-1-Généralités sur la MLCK**

La kinase des chaînes légères de myosine (MLCK) est une protéine d'une séquence d'acides aminés de 1176 résidus, dont la majorité des séquences possèdent une grande probabilité pour former une hélice  $\alpha$ . La MLCK (EC: 2, 7, 11, 8) (Donald et al., 1985), est une phosphotransférase qui appartient à la famille des protéines kinases de type serine/thréonine (Donald et al., 1985; Sells et Chermoff, 1997). La MLCK est une enzyme activée par le complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline (Kamm et Stull, 1989), pour phosphoryler la serine-19 et la thréonine-18 des chaînes légères de myosine de 20KDa (RLC) (Ikebe et al., 1988). Par l'intermédiaire du domaine catalytique de la MLCK activée, la myosine devient capable d'interagir avec les filaments d'actine (Somlyo et Somlyo, 1994). La phosphorylation de la serine-19 par la MLCK est la plus dominante par contre la thréonine-18 est seulement phosphorylée à une forte concentration de MLCK (Ikebe et Hartshorne, 1985; Ikebe et al., 1986). Ce mode de régulation est accepté comme une voie intracellulaire pour l'induction de la contraction du muscle lisse (Stull et James, 2004). Récemment, deux nouvelles protéines de MLCK ont été identifiées: SPEG et la MLCK Obscurine, La MLCK-obscurine est une protéine associée au sarcomère ( Raeker et al., 2004).

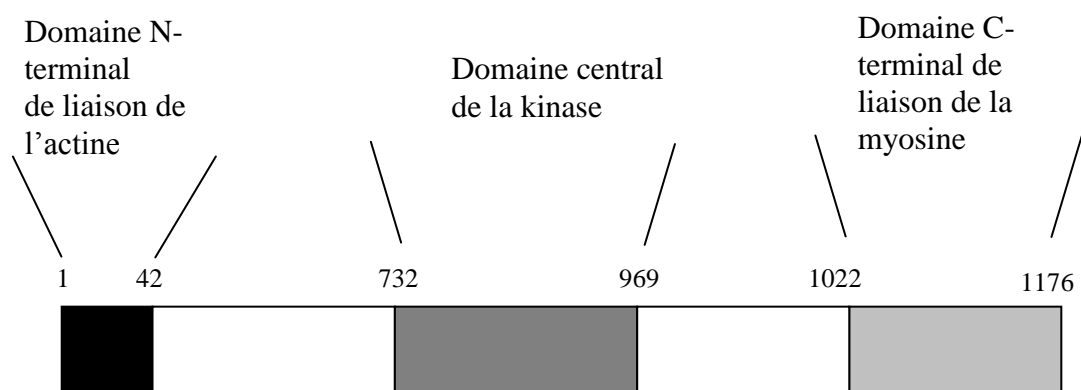
### **1-2- Structure de la MLCK**

La MLCK est généralement composée d'un domaine N-terminal de liaison de l'actine (actin-binding domain), un domaine central de la kinase (Kinase Domain), et un domaine C-terminal de liaison de myosine (myosin-binding domain) (Kishi et al., 1998) (Fig. 1).

Le domaine central de kinase est le mieux caractérisé, ce domaine active l'interaction actine-myosine du muscle lisse par la phosphorylation de la chaîne légère de myosine (Ye et al., 1999). Cette phosphorylation est due à l'augmentation de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  dans les muscles lisses (Nakamura et al., 1999). Ce domaine catalytique de la MLCK se trouve au voisinage du domaine régulateur qui lie le complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline (Ye et al., 1999).

Le domaine N-terminal constitue le domaine de liaison de l'actine. Dans la forme  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline-dépendante, la MLCK se lie au filament d'actine grâce à la séquence méthionine1-proline 41 ( Kishi et al., 1998 ). Le site de liaison de l'actine,  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline-indépendant, est localisé entre le site  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline-dépendant et le domaine catalytique (Ye et al., 1999).

Le domaine C-terminal de la MLCK est constitué d'un domaine nommé la télokinase (Ito et al., 1989). Etant donné que la télokinase se lie à la myosine, la télokinase est indépendante



**Figure 1.** La structure de la MLCK (Kron et Spudich, 1986).

de l'expression de la MLCK, parce que la télokinase est liée à la myosine épaisse (Nakamura et al., 1999).

### **1-3-Les isoformes de la MLCK**

Le gène de la MLCK du muscle lisse et de la cellule non musculaire produit deux types de kinases, un isoforme de poids moléculaire élevé (MLCK longue) et un isoforme de poids moléculaire bas (MLCK courte), avec un taux d'expression différente dans les muscles lisses et les cellules non musculaires (Poperechnaya et al., 2000).

#### **A- La MLCK courte**

La MLCK courte (short MLCK) est une kinase de poids moléculaire bas, environ 130KDa. La MLCK courte est l'enzyme la mieux connue comme une MLCK du muscle lisse (Bao et al., 2002). Plusieurs muscles lisses renferment les deux isoformes court et long, particulièrement dans l'endothélium (Smith et al., 2002). Ils sont présents dans les cellules matures. La courte chaîne est exprimée dans le muscle lisse pendant l'embryogenèse et dans certaines cellules non musculaires (Stull et al., 1998). Au cours de l'interphase de cellules Hela, la MLCK courte se trouve dans le cytoplasme (Poperechnaya et al., 2000). *In vitro*, la MLCK courte et longue ont des valeurs comparables de  $K_m$  et  $V_{max}$  (Birukov et al., 2001); ce qui indique que l'extension de N-terminal n'est pas nécessaire pour l'activité catalytique (Natalya et al., 2003).

#### **B- La MLCK longue**

C'est une kinase de poids moléculaire élevé, environ 210 KDa (Bao et al., 2002). Cependant, la MLCK longue (long MLCK) est la moins fréquente et contient de 922 à 934 résidus d'acides aminés en plus de la MLCK courte sur le côté N-terminal (Kamm et Stull, 2001). La chaîne longue de la MLCK est exprimée dans plusieurs muscles lisses et dans les cellules en cultures (Blue et al., 2002), et aussi dans les cellules non musculaires chez l'embryon et l'adulte (Stull et al., 1998).

### **1-4- Distribution de la MLCK**

La MLCK du muscle lisse (MLCK<sub>sm</sub>) se distingue par sa sélectivité du substrat, la chaîne régulatrice, et par sa distribution qui n'est pas seulement dans les muscles lisses, mais aussi dans les cellules non musculaires (Lamb et al., 1988).

#### **A- Distribution de la MLCK dans les cellules musculaires lisses et striées**

Chez les vertébrés, il existe deux gènes pour la MLCK (Stull et al., 1998). Un gène de la MLCK du muscle lisse et un gène de la MLCK du muscle strié qui code le domaine

catalytique de kinase et le segment régulateur qui contient des séquences d'auto-inhibiteurs et de séquences de liaison au complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline (Stull et al., 1998).

Le tissu musculaire lisse, normalement, a une forme de kinase courte qui contient un domaine catalytique et un segment régulateur qui diffèrent de ceux de la MLCK du muscle strié (Kristine et al., 2000). La MLCK longue normalement n'est pas exprimée dans les tissus du muscle lisse adultes mais elle se trouve dans les cellules musculaires lisses embryonnaires et dans les cellules non musculaires (Birukov et al., 1998). Cependant, la forme courte est exprimée aussi dans les muscles lisses pendant l'embryogenèse (Fisher et al., 1995). La MLCK du muscle lisse se trouve dans tous les tissus adultes, alors que la kinase du muscle strié est spécifique du tissu (Herring et al., 2000).

D'autres kinases sont liées à la famille de la MLCK (Champagne et al., 1998). La Titine, est un gabarit moléculaire pour l'assemblage du sarcomère et l'élasticité passive dans les muscles striés de vertébrés. Elle contient un seul domaine de kinase. La kinase de Titine a deux mécanismes d'activation qui impliquent la phosphorylation de la tyrosine dans le site actif suivie par la liaison du complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmoduline (Mayans et al., 1996; Champagne et al., 1998), qui conduit à la phosphorylation de la théléthonine, une protéine du disque Z nécessaire pour la formation du sarcomère (Kristine et al., 2000).

### **B- Distribution de la MLCK dans les cellules musculaires squelettique et cardiaque**

La seule MLCK classique détectée dans les tissus cardiaques est purifiée à partir des myocytes cardiaques est identique à la MLCK 130KDa du muscle lisse. Cette dernière est exprimée aussi dans les tissus musculaires squelettiques de l'adulte et dans les cellules musculaires squelettiques différenciés (Paul Herring et al., 2000).

Durant la différenciation des muscles squelettiques, la MLCK 220KDa est plus abondante que la MLCK classique détectée dans les myoblastes des muscles squelettiques différenciés (Lazar et Garcia, 1999). La MLCK 220KDa joue un rôle spécifique dans les myoblastes, pour phosphoryler la myosine squelettique fœtale ou bien la myosine des cellules non musculaires, à pour bute pour réguler son activité durant la division et la migration cellulaire (Lazar et Garcia, 1999).

La MLCK 130KDa du muscle lisse se trouve dans tous les tissus adultes, y compris les muscles squelettique et cardiaque et représente la majeure MLCK détectable dans les muscles cardiaques. Donc, la MLCK des muscle lisse n'est pas spécifique du tissu. L'expression de ces isoformes dans les muscles striés est pour régler l'activité motrice de la myosine II non musculaire et l'activité de la myosine cardiaque (Paul Herring et al., 2000).

**C- Distribution de la MLCK dans les cellules non musculaires**

Dans les cellules non musculaires, plusieurs isoformes de MLCK sont présentes. Un isoforme de poids moléculaire élevé: MLCK de cellule endothéliale: MLCK<sub>1</sub>. Quatre nouveaux isoformes de MLCK ont été identifiés: (MLCK 2, 3a, 3b et 4). La structure fondamentale de l'ADN qui code pour l'isoforme MLCK<sub>2</sub> est identique à celui de la MLCK<sub>1</sub> (Garcia et al., 1997), à l'exception d'une suppression des nucléotides 1428-1634 (MLCK<sub>2</sub>). La séquence du nucléotide de l'isoforme MLCK<sub>3a, 3b</sub> et une séquence partielle de MLCK<sub>4</sub> sont identiques à la MLCK<sub>1</sub> à l'exception de la suppression des nucléotides 1428-1634 et 5081-5233 (MLCK<sub>3b</sub>) et des nucléotides 4534-4737 (MLCK<sub>4</sub>). Les isoformes de la MLCK (2,3 et 4) de cellule non musculaires se trouvent dans le tissu humain adulte et les tissus fœtaux humains (poumons, foie, cerveau et reins) et dans les cellules endothéliales humaines (Garcia et al., 1997). Des études immunocytochimiques démontrent la présence d'un isoforme de MLCK de haut poids moléculaire dans l'endothélium cardiaque humain adulte (Lazar et Garcia, 1999).