



**HAL**  
open science

## **SP-A restaure l'oligomérisation et la sécrétion de mutants de SFTPA1 et SFTPA2**

Tifenn Desroziers, Yohan Soreze, Serge Amselem, Florence Dastot Le Moal, Valérie Nau, Camille Louvrier, Marie Legendre, Sonia Karabina, Nadia Nathan

► **To cite this version:**

Tifenn Desroziers, Yohan Soreze, Serge Amselem, Florence Dastot Le Moal, Valérie Nau, et al.. SP-A restaure l'oligomérisation et la sécrétion de mutants de SFTPA1 et SFTPA2. Assises de Génétique Humaine et Médicale, Jan 2024, Paris, France. inserm-04405049

**HAL Id: inserm-04405049**

**<https://inserm.hal.science/inserm-04405049>**

Submitted on 19 Jan 2024

**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.



## SP-A restaure l'oligomérisation et la sécrétion de mutants de *SFTPA1* et *SFTPA2*

Tifenn Desroziers<sup>1</sup>, Yohan Soreze<sup>1</sup>, Serge Amselem<sup>1,2</sup>, Florence Dastot Le Moal<sup>2</sup>, Valérie Nau<sup>2</sup>, Camille Louvrier<sup>1,2</sup>, Marie Legendre<sup>1,2</sup>, Sonia Karabina<sup>1</sup>, Nadia Nathan<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Inserm/UMRS\_933 Laboratoire des maladies génétiques d'expression pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

<sup>2</sup>APHP-Sorbonne Université, Département de génétique moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

<sup>3</sup>APHP-Sorbonne Université, Service de Pneumologie Pédiatrique et Centre de Référence des maladies respiratoires rares RespiRare, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

### Introduction

- ❖ La protéine A du surfactant (SP)-A est composée de SP-A1 et SP-A2 (codées respectivement par *SFTPA1* et *SFTPA2*) oligomérisées en hexamères de SP-A1 et SP-A2<sup>1</sup>.
- ❖ Les variants hétérozygotes de *SFTPA1* et *SFTPA2* sont associés à des fibroses et des adénocarcinomes pulmonaires<sup>2</sup>.
- ❖ Cette étude a pour but d'analyser l'effet des variants de *SFTPA1* et *SFTPA2* sur la localisation subcellulaire, l'oligomérisation et la sécrétion de SP-A.

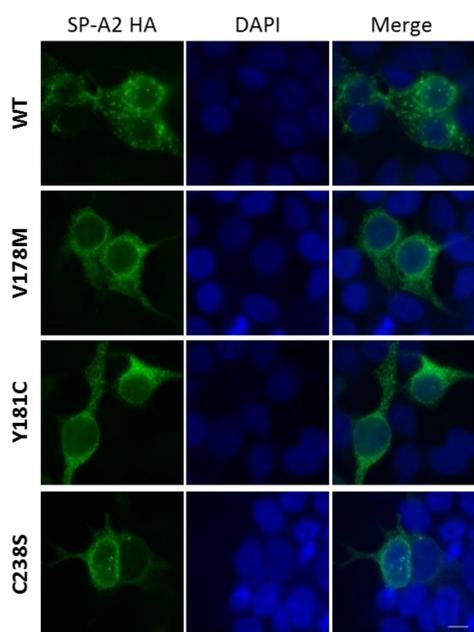
### Méthodes

- ❖ La localisation subcellulaire de SP-A est étudiée par immunofluorescence (IF) après transfection de cellules HEK293.
- ❖ L'analyse par western blot (WB) du profil d'oligomérisation et de la sécrétion des protéines extraites est menée après co-transfection selon les combinaisons suivantes de vecteurs d'expression de *SFTPA1* ou *SFTPA2* wt (wild type) ou m (muté) ou vecteur vide (vv) porteurs de Tags différents: [SFTPA1\_wt + vv], [SFTPA2\_wt + vv], [SFTPA1\_m + vv], [SFTPA2\_m + vv], [SFTPA1\_wt + SFTPA2\_wt], [SFTPA1\_wt + SFTPA1\_m], [SFTPA1\_wt + SFTPA2\_m], [SFTPA2\_wt + SFTPA2\_m] ou [SFTPA2\_wt + SFTPA1\_m].
- ❖ L'étude de la spécificité des interactions entre SP-A\_m et SP-A\_wt est menée par co-immunoprécipitation (co-IP) puis analysée par WB.

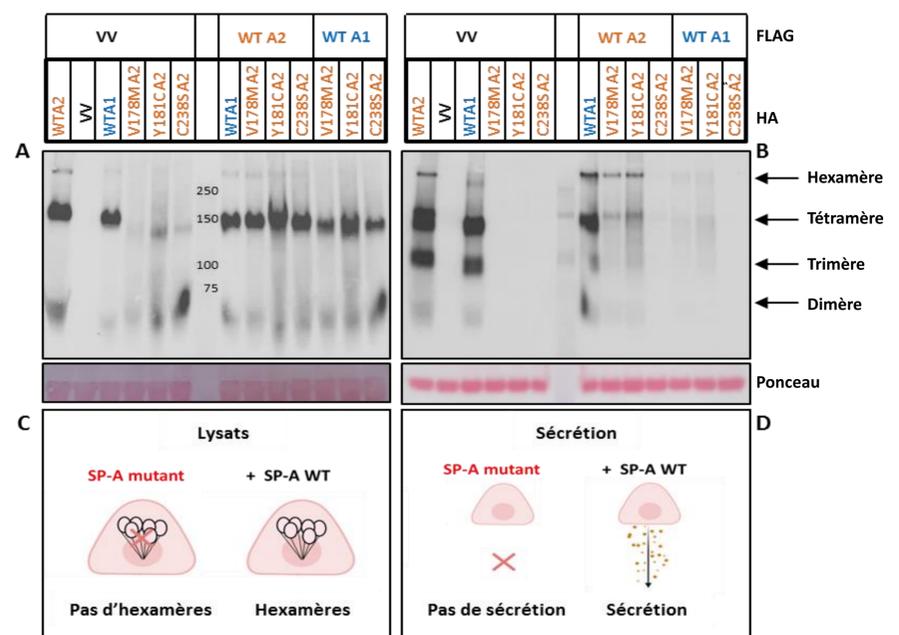
### Résultats

#### Localisation protéique subcellulaire

Les protéines SP-A2\_wt sont décelables dans des vésicules de sécrétion alors que le marquage cellulaire associé aux protéines SP-A2\_m est diffus dans le cytoplasme sans marquage vésiculaire (Figure 1). Les mêmes résultats sont observés pour SP-A1.



**Figure 1 : Localisation subcellulaire de SP-A2.**  
Les protéines SP-A2 HA WT et mutées (V178M, Y181C, C238S) sont détectées par IF avec l'anticorps anti-HA DyLight 488 (vert). Les noyaux sont marqués au DAPI (bleu). Barre d'échelle = 10µm.



**Figure 2: Impact de SP-A\_wt sur SP-A2\_m.**  
Les protéines du lysat (A) et du surnageant (B) sont analysées par WB avec l'anticorps anti-HA HRP. Les résultats sont résumés en C et D.

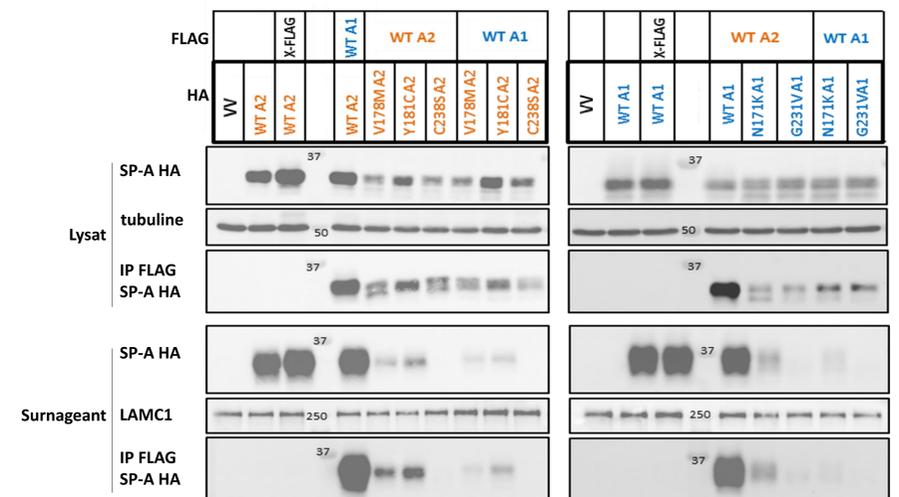
#### Implication de SP-A WT dans le sauvetage de SP-A mutée

En WB, le profil d'oligomérisation de SP-A2\_m est anormal avec la formation de tétramères sans hexamères décelables et l'absence de sécrétion de SP-A2\_m (Figure 2 A et B partie gauche). Ces observations sont similaires avec SP-A1.

La co-transfection [SFTPA2\_wt + SFTPA2\_m] conduit à l'augmentation de l'expression de SP-A2\_m, à la restauration des hexamères et d'une sécrétion pour deux des trois variants testés (Figure 2 A et B partie droite). Les mêmes résultats ont été retrouvés avec la co-transfection [SFTPA2\_wt + SFTPA1\_m].

La co-transfection [SFTPA1\_wt + SFTPA2\_m] conduit aussi à l'augmentation de l'expression de SP-A2\_m, sans toutefois restaurer la formation des hexamères ni une sécrétion significative de SP-A2\_m. Les mêmes résultats ont été retrouvés avec la co-transfection [SFTPA1\_wt + SFTPA1\_m].

Les expériences de co-IP ont par ailleurs confirmé la spécificité des interactions SP-A\_wt/SP-A\_m (Figure 3).



**Figure 3: Etude d'interaction SP-A\_wt et SP-A\_m.**  
Co-IP de SP-A avec des billes FLAG et révélation par WB avec l'anticorps anti-HA HRP. Les échantillons analysés proviennent du lysat et du surnageant.

### Conclusion et perspectives

- ❖ Cette étude révèle une interaction spécifique de SP-A\_wt et SP-A\_m associée, lors de la co-expression avec SP-A2\_wt, à une augmentation de l'expression de SP-A1\_m ou SP-A2\_m, mais aussi à la restauration d'un profil d'oligomérisation en hexamères et à une sécrétion.
- ❖ Dans une perspective thérapeutique, ces résultats permettent d'envisager l'adjonction de SP-A2 exogène dans des modèles cellulaires surexprimant SP-A1\_m ou SP-A2\_m.



#### Références

- Voss, T., Eistetter, H., Schäfer, K. P. & Engel, J. Macromolecular organization of natural and recombinant lung surfactant protein SP 28–36: Structural homology with the complement factor C1q. *J. Mol. Biol.* **201**, 219–227 (1988).
- Van Moorsel, C. H. M. et al. *SFTPA2* Mutations in Familial and Sporadic Idiopathic Interstitial Pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **192**, 1249–1252 (2015).