

## Poster P.04.26

### PHOSPHORYLATION-MEDIATED CHANGES OF ANDROGEN RECEPTOR STRUCTURE AND FUNCTION IN SPINAL AND BULBAR MUSCULAR ATROPHY PATHOGENESIS

Piol D.<sup>[1]</sup>, Tosatto L.<sup>[2]</sup>, Minervini G.<sup>[1]</sup>, Lia F.<sup>[1]</sup>, Basso M.<sup>[2]</sup>, Tosatto S.<sup>[1]</sup>, Pandey U.<sup>[3]</sup>, Pennuto M.\*<sup>[4]</sup>, Zuccaro E.<sup>[4]</sup>

<sup>[1]</sup>University of Padova ~ Padova ~ Italy, <sup>[2]</sup>University of Trento ~ Trento ~ Italy, <sup>[3]</sup>University of Pittsburg ~ Pittsburg ~ United States of America, <sup>[4]</sup>~ Italy

Kennedy disease, also known as spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA), is an X-linked neuromuscular disorder characterized by the progressive dysfunction and loss of lower motor neurons. SBMA is caused by the expansion of a CAG tandem repeat encoding a polyglutamine (polyQ) tract in the gene coding for androgen receptor (AR). Although the structure and function of AR are well known, the relationship between primary-secondary-ternary structure, post-translational modifications (PTMs), and its native function-transcription factor- remains elusive. By undertaking a multidisciplinary approach spanning from experimental biology to biophysics and computational biology, we obtained evidence that phosphorylation at specific sites modifies not only the structure of the highly disordered amino-terminal domain, but also of its native function. We obtained evidence that phosphorylation of polyQ-AR by cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) at serine 96 increases toxicity, leading to polyQ-AR stabilization and aggregation. Moreover, crossing SBMA flies and mice with CDK2 null models ameliorated SBMA phenotype. To gain insights into the role of this phosphorylation, we performed structural analysis of phosphomimetic and phosphodeficient mutants at this site, identifying structural variations that lead to changes in AR function. Kinase and phosphatase screenings allowed us to establish new protein networks that link AR phosphorylation with function. These observations have great impact on the understanding of the molecular mechanisms by which polyQ-AR exerts its toxic function in neurons and other disease-related tissues.

Modifiche post-traduzionali del recettore degli androgeni ne influenzano la struttura e funzione e hanno ripercussione sulla malattia di Kennedy

La malattia di Kennedy, nota anche come atrofia muscolare spinale e bulbare (SBMA), è una malattia neuromuscolare caratterizzata dalla disfunzione progressiva e dalla perdita dei motoneuroni inferiori. SBMA è causato dall'espansione di una ripetizione in tandem CAG che codifica un tratto di poliglutammina (poliQ) nel gene codificante per il recettore degli androgeni (AR). Sebbene la struttura e la funzione di AR siano ben note, la relazione tra la struttura primario-secondaria-ternaria, le modifiche post-traduzionali (PTM) e la sua funzione nativa rimane sfuggente. Adottando un approccio multidisciplinare che spazia dalla biologia sperimentale alla biofisica e alla biologia computazionale, abbiamo ottenuto prove che la fosforilazione in siti specifici modifica non solo la struttura del dominio amino-terminale altamente disordinato, ma anche della sua funzione nativa. Abbiamo ottenuto prove che la fosforilazione del poliQ-AR da parte della chinasi 2 ciclina-dipendente (CDK2) aumenta la tossicità, portando alla stabilizzazione e aggregazione del poliQ-AR. Inoltre, l'incrocio di mosche e topi SBMA con modelli in cui CDK2 è stato eliminato migliora il fenotipo SBMA. Per ottenere approfondimenti sul ruolo di questa fosforilazione, abbiamo eseguito un'analisi strutturale dei mutanti fosfomimetici e fosfodeficienti in questo sito, identificando le variazioni strutturali che portano a cambiamenti nella funzione di AR. Gli screening di chinasi e fosfatasi ci hanno permesso di stabilire nuove reti proteiche che collegano la fosforilazione con la funzione. Queste osservazioni hanno un grande impatto sulla comprensione dei meccanismi molecolari con cui il poliQ-AR esercita la sua

funzione tossica nei neuroni e in altri tessuti correlati alla malattia.

2016 Polanco MJ, Parodi S, Piol D, Stack C, Chivet M, Contestabile A, Miranda HC, Lievens PMJ, Espinoza S, Jochum T, Rocchi A, Grunseich C, Gainetdinov RR, Cato ACB, Lieberman A, La Spada AR, Sambataro F, Fischbeck KH, Gozes I, Pennuto M\*. CDK2 inhibition by PACAP/AC/PKA signaling reduces polyglutamine-expanded androgen receptor phosphorylation and toxicity in SBMA. *Sci Transl Med* 8:370ra181.

Malattia di Kennedy

Coordinator: Maria Pennuto

Duration (N. Years): 5

Starting year: 2013

**Telethon Project (nr):**

TCP12013

**Disease Name:**

Spinal and Bulbar Muscular Atrophy (SBMA)

**Keywords:**

Polyglutamine, androgen receptor, phosphorylation