

Modélisation sur poisson zèbre de la mutation hnRNPA

Acronyme :

hnRNP A proteins in ALS

Investigateur Principal:

Pr Bettina Schmid

Subvention : 150 000€

Durée du projet : deux ans

Laboratoire du Pr B Schmid : (de gauche à droite) :

Katrin Strecker
Frauke van Bebber
Bettina Schmid
Katharina Weininger
Laura Hasenkamp
Sophie Rothhämel
Yu Ohki
Roberto RojasRojas



Résumé du projet de recherche

La grande force de cette équipe est de maîtriser une technologie révolutionnaire (CRISPR/Cas9 system) permettant de manipuler le génome des poissons zèbres non seulement pour supprimer un gène permettant d'étudier sa fonction mais aussi pour introduire des gènes portant les mutations trouvées chez les malades et étudier comment ces mutations induisent une SLA.

Une modification pathologique signant la SLA a été trouvée dans les motoneurons d'un nombre important de malades de forme familiale et sporadique. Il s'agit de la diminution des hnRP comme TDP 43 et FUS dans le noyau et leur agrégation dans le cytoplasme.

Les hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins) sont des protéines de liaisons à l'ARN qui forment des complexes avec l'ARN messager.

L'ARN était initialement considéré comme une molécule passive « messagère » entre les informations stockées dans les gènes et

L'acide ribonucléique ou ARN est une molécule qui est chimiquement similaire à l'ADN et qui contient le même code génétique mais utilise des bases différentes.

Quand l'ADN est transcrit (« lu » biochimiquement) le produit de transcription est l'ARN. A son tour l'ARN est « lu » pour être traduit en acides aminés (les constituant de base des protéines) et ceux-ci s'ajoutent les uns aux autres pour former une chaîne protéique ;

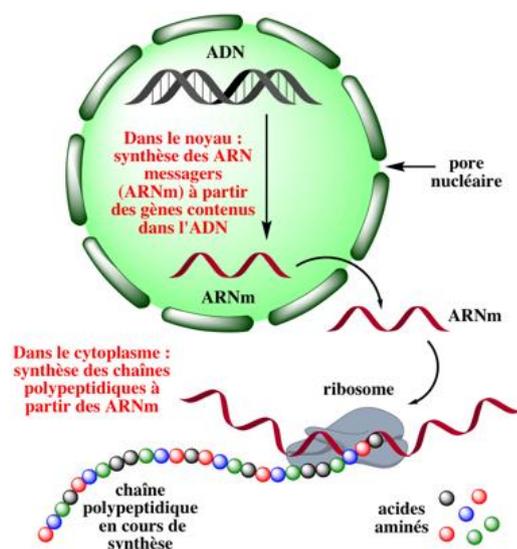


Schéma simplifié

E. Jaspard (2013)

Modélisation sur poisson zèbre de la mutation hnRNPA

les protéines produites par la cellule. Ces dernières décennies, toutefois, il a de plus en plus été démontré que l'ARN joue un rôle fondamental pour décider comment l'information de base stockée dans les gènes doit être régulée pour contrôler les processus métaboliques complexes des organismes supérieurs. En particulier, les neurones de notre cerveau affichent un niveau incroyablement élevé de modifications post-transcriptionnelles au niveau de l'ARN qui leur permet de fonctionner correctement.

Cette présence anormale de protéines hnRNP implique deux mécanismes pathologiques distincts (Figure 1), qui sont actuellement en discussion

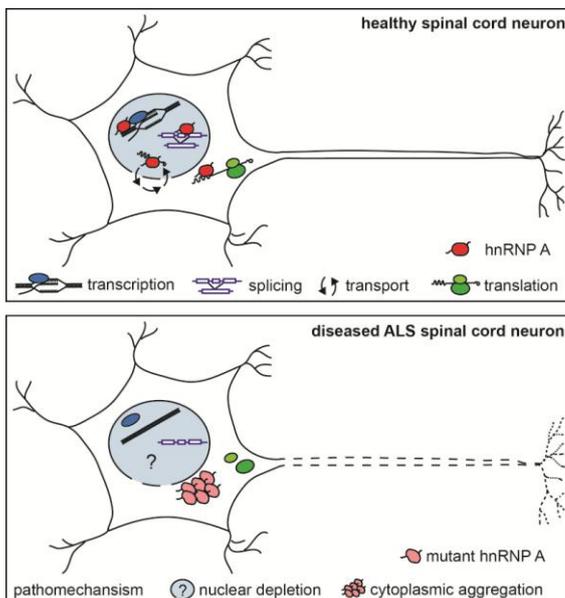


Figure 1 Potential pathomechanisms in ALS

- 1) lors de la maladie, la fonction physiologique de ces protéines pourraient être perdue ou diminuée, altérant divers processus cellulaires essentiels pour la survie de la cellule tels que la transcription, le transport ou la régulation.
- 2) L'agrégation des ces protéines au niveau du cytoplasme, serait toxique pour les cellules par exemple en séquestrant dans ces inclusions des ARN ou des protéines essentiels.

Chaque mécanisme ou la combinaison des deux pourraient être responsables de la dégénérescence des cellules neuronales.

Des mutations touchant ces protéines sont retrouvées dans environ 1/3 des mutations des formes familiales et dans les formes sporadiques. Cette surreprésentation importante des anomalies sur les protéines impliquées dans le métabolisme de l'ARN suggère que leur dysfonctionnement contribue à la SLA. Les malades portant des mutations très récemment identifiées pour hnRNP A1, A2B1 développent une SLA présentant ces caractéristiques typiques de déplétion au dans le noyau et agrégation cytoplasmique.

Dans le projet financé par la Fondation Thierry Latran Bettina Schmid va mettre au point les modèles de poisson zèbre utiles pour caractériser au niveau moléculaire les conséquences des mutations hnRN. Des modèles avec suppression des gènes seront établis et de façon très innovante, des modèles avec introduction des gènes humains mutés.

Cette étude permettra d'étudier les conséquences de ces mutations au niveau cellulaires (déplétion et agrégation) mais aussi au niveau de l'évolution de la SLA.

Modélisation sur poisson zèbre de la mutation hnRNPA

L'équipe espère comprendre la façon dont ces mutations sont toxiques afin de pouvoir concevoir des meilleures stratégies thérapeutiques.

De plus les modèles établis et caractérisés seront un outil extraordinaire pour servir de base à un screening in vivo de composés thérapeutiques.

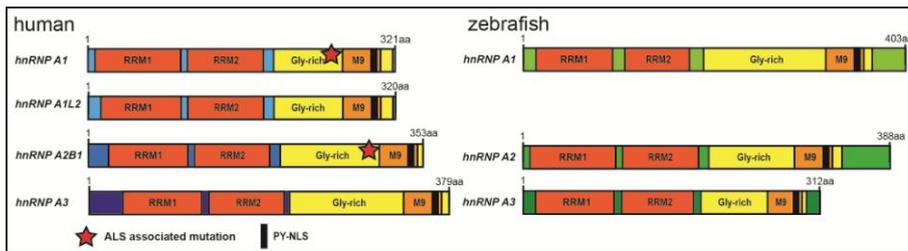


Figure 2 *hnRNP A1, hnRNP A2B1 and hnRNP A3 genes are conserved*

Figures 2 et 3 : Les protéines hnRNP sont extrêmement bien conservées entre les humains et les poissons zèbres permettant une analyse pertinente pour la recherche clinique

			M9
human	hnRNP A1	...GGGSYD	DTGNYNQSSNFGP...
	hnRNP A2B1	...GSGNYD	DTGNYNQQPSNYGP...
	hnRNP A1L2	...GGGNYD	DTGNYNQSSNFGP...
	hnRNP A3	...GGGNYD	DTGNYSQQQSNIYG...
zebrafish	hnRNP A1	...GGGNYD	DTGNYSQQQSNIYG...
	hnRNP A2	...GGGDYD	DTGNYNQSSSNIYG...
	hnRNP A3	...GGGNYD	DTGNYGGQSNIYG...

Figure 3 Conserved Aspartate (D) adjacent M9

Le Pr Bettina Schmid, biologiste, elle travaille dans le centre spécialisé sur les maladies neurodégénératives au sein du Ludwig-Maximilians-Universität, de Munich. Elle dirige le laboratoire de recherche sur le poisson zèbre.

Les publications du Pr Bettina Schmid les plus importantes pour cette recherche sont :

- ❖ Kim HJ, Kim NC, Wang YD, Scarborough EA, Moore J, Diaz Z, et al. Mutations in prion-like domains in hnRNPA2B1 and hnRNPA1 cause multisystem proteinopathy and ALS. *Nature*. 2013;495(7442):467-73.
- ❖ Mori K, Lammich S, Mackenzie IR, Forne I, Zilow S, Kretzschmar H, et al. hnRNP A3 binds to GGGGCC repeats and is a constituent of p62-positive/TDP43-negative inclusions in the hippocampus of patients with C9orf72 mutations. *Acta neuropathologica*. 2013;125(3):413-23.
- ❖ Hruscha A, Krawitz P, Rechenberg A, Heinrich V, Hecht J, Haass C, et al. Efficient CRISPR/Cas9 genome editing with low off-target effects in zebrafish. *Development*. 2013;140(24):4982-7.
- ❖ Schmid B, Hruscha A, Hogl S, Banzhaf-Strathmann J, Strecker K, van der Zee J, et al. Loss of ALS-associated TDP-43 in zebrafish causes muscle degeneration, vascular dysfunction, and reduced motor neuron axon outgrowth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(13):4986-91.