

Génétique humaine

M. Jean-Louis MANDEL, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

Enseignement

Les 6 cours prévus au Collège de France au printemps 2006 sur le thème de la génétique des maladies communes ont dû être annulés en raison des manifestations ayant entraîné la fermeture du Collège. Ces cours seront reportés au mois de novembre 2006. Ce sujet a toutefois été abordé dans des cours à l'Université de Strasbourg (ULP). Des cours ou conférences sur le syndrome X fragile ont été donnés à Lyon (Université Claude Bernard), à Braga, Portugal (Universidade do Minho) et à Strasbourg.

Colloque « Apport de la génétique humaine à la compréhension des maladies communes : stratégies actuelles et exemples » (24 avril 2006)

Un colloque qui devait faire suite aux cours prévus initialement sur le même thème s'est déroulé le 24 avril 2006 dans l'amphithéâtre Guillaume Budé sur le thème d'une très grande actualité de l'analyse génétique des maladies communes, dites multifactorielles. Ces maladies, qui recouvrent pratiquement toute la pathologie humaine, de la cardiologie à la psychiatrie, la rhumatologie ou l'ophtalmologie résultent de l'interaction de facteurs génétiques multiples et de facteurs environnementaux (mode de vie, alimentation, exposition à des agents chimiques ou infectieux, etc.). Il a réuni des conférenciers européens de très haut niveau et a été suivi par plus de 80 auditeurs.

La première conférence, par Lon Cardon (Université d'Oxford, Wellcome Trust Centre for Human Genetics) a porté sur les récentes avancées technologiques permettant d'explorer l'ensemble du génome en recherchant des polymorphismes de type SNP associés à un phénotype donné (whole genome association study ou WGA). Il est actuellement possible de tester (si on en a les moyens financiers) 500 000 SNPs pour chaque individu (cas ou contrôle) d'une cohorte, en utilisant

les techniques de puces ADN haute densité. Ces approches permettent d'éviter les problèmes liés aux stratégies d'études de gènes candidats (sur la base d'hypothèses physiopathologiques) et qui ont généré une énorme confusion dans la littérature (L. Cardon a cité les chiffres de plus de 36 000 études publiées, dont 1 % seulement ont vu leurs résultats confirmés !). Toutefois, le nombre énorme de polymorphismes testés pose de très difficiles problèmes pour établir la validité statistique de différences de fréquence entre cas et contrôles, entre les écueils des faux positifs (résultats dus au hasard) et des faux négatifs (rejet de différences réelles). L. Cardon a discuté des stratégies proposées, et a notamment émis un avis critique sur les stratégies par étapes successives sur des cohortes partielles (test de 500 000 SNPs sur quelques centaines de cas, puis des 5 000 SNPs les plus significatives sur un millier de cas, et éventuellement validation finale des 50 SNPs continuant à montrer des différences entre cas et contrôles, sur une 3^e population. Ce type de stratégie risque d'éliminer, par défaut de puissance statistique dans la première étape, la possibilité de reconnaître une partie importante des facteurs génétiques de risque. Mark Lathrop (Centre National de Génotypage, Évry) a montré les diverses stratégies technologiques utilisées au CNG, et a illustré les exemples de pathologies qui y sont actuellement étudiées, notamment pour le diabète. Enfin, Ian Craig (King's College de Londres, Institute of Psychiatry) a illustré une stratégie « économique » de tests d'ADN « poolés », à la recherche de SNPs associées à des variations de facultés cognitives (retard mental léger/population normale ou comparaison de groupes aux extrêmes de la courbe de QI) ou aux difficultés d'apprentissage de la lecture (reading disability). Dans les deux cas, des SNPs associées à des effets faibles ont été repérées, mais ne permettant pas d'identifier à l'heure actuelle le gène en cause.

La deuxième partie du colloque a porté sur des exemples de pathologies où des gènes de prédisposition ont été clairement identifiés, afin de discuter l'apport de ces approches à la compréhension des mécanismes de ces maladies, et les difficultés d'en tirer, à l'heure actuelle, des stratégies préventives ou de meilleure prise en charge thérapeutique. Françoise Clerget-Darpoux (INSERM U535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif) a pris comme exemple les composantes génétiques liées au locus HLA dans les maladies autoimmunes (spondylarthrite ankylosante, maladie céliaque, polyarthrite rhumatoïde, diabète de type 1, sclérose en plaques), identifiées au cours des 30 dernières années, et a montré que malgré la puissance des méthodes actuelles, de nombreuses questions restent posées quant aux mécanismes physiopathologiques de ces prédispositions, la nature exacte des variants génétiques fonctionnellement importants (l'étude de populations différentes conduisant à la remise en cause de certaines hypothèses, dans le cas du diabète de type 1), ou les mécanismes de sévérité accrue chez des patients double-hétérozygotes pour certains haplotypes (cas de la maladie céliaque ou du diabète de type 1). Jean-Pierre Hugot (INSERM U458, Hôpital Robert Debré, Paris) dont l'équipe avait montré en 2001 la forte implication du gène *Nod2/Card15* dans la maladie de Crohn, a décrit les travaux internationaux réalisés depuis, qui ont abouti à montrer

l'implication des mécanismes d'immunité innée dans cette pathologie, et ont permis la création de modèles souris. On retrouve au moins une mutation du gène *Nod2/Card15* chez les patients avec maladie de Crohn, et le risque relatif est de 2-4 pour les porteurs d'une mutation, et peut atteindre 10 pour les porteurs de 2 mutations. Toutefois, à l'heure actuelle, il n'existe pas de conséquence clinique de ces découvertes, la réponse thérapeutique à l'anticorps monoclonal infliximab étant similaire chez les patients avec ou sans mutation, et l'identification du gène n'a pas encore abouti à un développement thérapeutique. Laurent Abel (INSERM U550, Necker-Enfants Malades, Paris) a présenté les approches génétiques dans le domaine de la susceptibilité aux maladies infectieuses, et notamment aux mycobactéries. Il a montré la complémentarité des approches monogéniques, dans des formes à transmission mendélienne rares mais très sévères d'hypersensibilité aux mycobactéries. L'analyse de ces familles, notamment familles consanguines, a permis l'identification de 5 gènes impliqués dans les mécanismes de défense contre les infections (récepteurs interleukine, interféron γ). Pour l'analyse de la sensibilité à la lèpre, c'est une approche d'analyse de liaison génétique dans des petites familles, puis d'étude d'association ciblée sur un locus sur le chromosome 6 (dans des populations du vietnam et du brésil), qui a permis l'identification inattendue de variants situés dans la région promotrice régulatrice commune à 2 gènes (*PARK2*, une ubiquitine ligase impliquée dans la maladie de Parkinson, et *PACRG*, qui semble également impliqué dans les mécanismes d'ubiquitination).

Bernhard Weber (Université de Regensburg) a présenté les résultats très récents de son laboratoire et d'autres équipes internationales démontrant de manière très inattendue la très forte composante génétique de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (AMD), une cause très importante de perte de vision chez les personnes âgées (elle touche 4-6 % des personnes à 80 ans). Une méta-analyse de résultats de 6 études de liaison a permis à B. Weber d'identifier une région candidate en 10q26, puis l'étude d'association avec des polymorphismes de cette région, sur une cohorte de plus de 1 000 patients très bien documentés cliniquement, a permis d'identifier un polymorphisme de type faux-sens dans un gène de fonction complètement inconnue (*LOC387715*), dont la présence d'une copie augmente le risque (odds ratio) par un facteur de 2,7 environ, et d'environ 8 pour les homozygotes (ces derniers représentant 5 % de la population générale). En parallèle, 5 autres équipes ont identifié le rôle aussi important d'un polymorphisme faux-sens dans le gène *CFH* codant pour le facteur H du complément, et impliquant ainsi des mécanismes d'inflammation dans cette maladie. Les 2 gènes semblent agir de manière additive, créant 9 génotypes possibles, avec 0, 1, 2, 3 ou 4 allèles à risque. La présence de 3 allèles (4 % de la population) confèrerait un risque accru (OR) de 16-20 par rapport à l'absence de tels allèles, et de 50 en cas de présence de 4 allèles (fréquence de 1/120 dans la population). Des facteurs de risque environnemental (exposition au soleil, et surtout tabac) étant connus pour cette pathologie, des études sont en cours pour analyser les interactions gènes-environnement

dans cette pathologie dont l'importance augmente en raison du vieillissement des populations.

Joseph Emmerich (INSERM U765, Hôpital G. Pompidou, Paris) a présenté les connaissances très avancées dans le domaine des prédispositions génétiques au thromboembolisme veineux et pulmonaire, des pathologies également d'une très grande fréquence, liées à un état d'hypercoagulation. Des mutations rares à effet majeur ont été retrouvées, mais surtout des polymorphismes fréquents (notamment Facteur V Leiden, et polymorphisme dans le gène du facteur II) qui chacun augmente le risque par un facteur de 4 à 5, et agissent en interaction avec des facteurs d'environnement (dont la pilule contraceptive). Toutefois, même si le risque relatif lié à ces facteurs génétiques est élevé, le risque absolu reste faible, et ne semble pas justifier une recherche systématique dans la population, d'autant que la thérapeutique préventive (anticoagulant au long cours) présente des risques très significatifs. L'utilité dans la pratique médicale du test de ces facteurs génétiques est donc limitée à l'heure actuelle aux approches de prévention secondaire, chez des patients ayant eu un premier épisode de thromboembolisme.

Philippe Beaune (INSERM UMRS 775, Centre Universitaire des Saints-Pères, Paris) a présenté plusieurs aspects du domaine en évolution rapide de la pharmacogénétique (génétique de la réponse aux médicaments, réponse positive ou effets indésirables). L'importance potentielle de la prévention des effets indésirables (dont on estime qu'ils sont responsables de 100 000 morts par an aux USA) est évidente. P. Beaune a montré des exemples dans le domaine de la réponse aux chimiothérapies (gène TPMT, thymidylate synthase, gène UGT1A1), et dans celui des anticoagulants de type warfarine. Dans ce dernier cas, des variants dans 3 gènes rendent compte de 50 % de la variabilité de réponse qui présente des conséquences cliniques importantes. Toutefois, la discussion qui a suivi a montré qu'il n'y avait pas à l'heure actuelle de consensus quant à l'utilisation en pratique médicale pour le suivi thérapeutique, des données génétiques.

Il est évident que les maladies multifactorielles résultent d'une interaction entre facteurs génétique et facteurs de l'environnement, et qu'il est donc capital d'étudier ces deux aspects et leurs effets combinés (certains facteurs génétiques peuvent ne se révéler que par rapport à un facteur d'environnement). Toutefois, ce type d'analyse demande des cohortes encore plus grandes que pour l'analyse des seuls facteurs génétiques, et des études prospectives pour éviter les biais liés aux études rétrospectives. Bette Liu (Cancer Epidemiology Unit, Oxford) a présenté l'impressionnant projet Biobank entrepris au Royaume-Uni, décidé en 2002, et qui se propose de suivre 500 000 personnes âgées de 40 à 69 ans. L'étape initiale pour chaque participant comporte la réponse à un questionnaire (antécédents médicaux, « life style »), des analyses cliniques et biologiques, et la conservation de prélèvements sanguins (notamment pour les études génétiques) et d'urine. La cohorte sera suivie (morbidité, mortalité) par le système de santé anglais. Des systèmes informatiques élaborés sont mis en place pour ce projet qui implique la participation de 20 universités, et des budgets considérables. Il est à prévoir

là aussi que les problèmes statistiques d'analyse de la masse de données qui sera générée nécessiteront de nouvelles approches, mais de tels projets, poursuivis de manière différente dans quelques autres pays (mais pas en France) apporteront sans doute des contributions essentielles à la compréhension des facteurs de risque associés aux pathologies les plus fréquentes.

Recherche

Le groupe de recherche en génétique humaine fait partie du département de Pathologie Moléculaire de l'IGBMC (Institut de Génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104 du CNRS, INSERM et Université Louis Pasteur de Strasbourg/Unité INSERM 596). Des aspects de recherche clinique sont également développés dans le laboratoire hospitalier de diagnostic génétique du CHRU de Strasbourg, dirigé par J.L. Mandel.

L'activité des équipes sous la responsabilité de Jean-Louis Mandel a porté sur l'étude des mécanismes génétiques et physiopathologiques de maladies monogéniques neurologiques ou musculaires :

- 1) Syndrome de retard mental avec chromosome X fragile et fonction de la protéine FMRP.
- 2) Myopathie myotubulaire et analyse fonctionnelle d'une nouvelle famille de phosphoinositides phosphatases : les myotubularines.
- 3) Maladies neurodégénératives liées à des expansions de polyglutamine (maladie de Huntington, ataxie spinocérébelleuse SCA7).
- 4) En collaboration avec le Pr. Hélène Dollfus, nous menons une étude génétique du syndrome de Bardet-Biedl.

L'équipe dirigée par le Pr. Michel Koenig s'intéresse aux mécanismes physiopathologiques de l'ataxie de Friedreich (avec H. Puccio), et à l'identification de gènes impliqués dans d'autres formes d'ataxies récessives.

L'équipe du Dr. André Hanauer étudie les bases moléculaires du syndrome de Coffin-Lowry (retard mental syndromique lié au chromosome X) et s'attache à identifier des gènes associés à d'autres formes de retard mental lié à l'X.

Le Dr. Stanislas du Manoir et son équipe développent des stratégies d'étude des réarrangements chromosomiques (amplifications, délétions) présents dans des tumeurs solides, dans le but notamment d'identifier des oncogènes impliqués dans la progression tumorale ou des marqueurs génomiques associés au pronostic vital.

1) Syndrome de retard mental avec chromosome X fragile et fonction de la protéine FMRP (équipe codirigée par H. Moine et J.L. Mandel).

Ce syndrome, la forme la plus fréquente de retard mental monogénique, est caractérisé par une mutation instable, une expansion de répétition CGG méthylée

entraînant une répression transcriptionnelle du gène cible FMR1 codant pour la protéine FMRP. Cette protéine lie des ARN, notamment au sein de complexes ribonucléoprotéiques liés aux polysomes, et aurait un rôle de régulation de la traduction ou du transport de certains ARN messagers. Afin de mieux caractériser la fonction et les mécanismes d'action de cette protéine, nous avons entrepris depuis plusieurs années d'identifier et caractériser des ARN messagers se liant à FMRP et pouvant constituer des cibles de son action (en collaboration avec le Dr. H. Moine, alors à l'IBMC, Strasbourg), ce qui a permis de montrer en 2001 qu'une structure ARN particulière en « G-quartet » liait FMRP avec une forte affinité (Schaeffer *et al.*, 2001). Hervé Moine a rejoint l'équipe en septembre 2005, et en assume la codirection. Les travaux récents suggèrent que l'interaction de FMRP avec son propre ARNm, au niveau d'un G-quartet présent dans la région codante (exon 15), pourrait moduler l'épissage alternatif du gène FMR1. En effet, ce G-quartet présente des propriétés d'« enhancer » d'épissage (résultats non publiés). Des études d'autres ARN messagers constituant des cibles potentielles de FMRP sont également poursuivies (cf. rapport 2005, Castets *et al.*, 2005).

Nous avons également caractérisé des interacteurs protéiques susceptibles de moduler l'action de FMRP. Les protéines CYFIP1 et 2, ont été identifiées comme interacteurs cytoplasmiques de FMRP, mais également comme interacteurs de la GTPase Rac1. L'étude de leur homologue unique (dCYFIP) dans la drosophile a montré l'existence d'une voie Rac1-CYFIP-FMRP (Schenck *et al.*, 2003). dCYFIP et ses homologues de mammifères font partie du complexe protéique WAVE/SCAR, régulé par Rac1 (cf. Schenck *et al.*, 2004), qui joue un rôle important dans le remodelage dynamique du cytosquelette d'actine. La régulation de la nucléation de l'actine cytosquelettique est impliquée dans les phénomènes de maturation et de plasticité synaptiques, dont les observations neuroanatomiques indiquent qu'ils sont affectés dans le cerveau de patients atteints de syndrome X fragile, ou dans des souris avec gène FMR1 invalidé (anomalies discrètes de la forme et du nombre des épines dendritiques). Les outils développés pour l'étude des protéines CYFIP de souris nous ont permis de participer à des travaux du groupe de P. Greengard, sur le rôle de la phosphorylation de la protéine WAVE sur le contrôle de la polymérisation de l'actine et la morphologie des épines dendritiques (Kim *et al.*, 2006). Nous avons également participé à une étude structurale du domaine N-terminal de FMRP, par l'équipe de A. Pastore (Londres) (Ramos *et al.*, 2006) qui a montré que ce domaine est une plateforme pour des interactions protéine-protéine comportant des motifs de type Tudor, et impliquée notamment dans l'interaction avec la protéine 82-FIP que nous avons identifiée antérieurement (Bardoni *et al.*, 2003). Les projets actuels comportent la caractérisation des complexes moléculaires associés à FMRP et de leur rôle fonctionnel, notamment par rapport à l'activité du complexe RISC (RNA induced silencing complex), et à l'étude dynamique des interactions CYFIP-FMRP.

Dans le cadre de l'application de nouveaux diagnostics moléculaires pour le retard mental, nous avons testé le gène récemment identifié PQBP1 codant pour

une « polyglutamine binding protein » sur une population de 829 patients avec retard mental, pour laquelle une recherche de mutation du syndrome X fragile avait été initialement demandée. Une seule famille avec une mutation tronquante a été identifiée, qui rétrospectivement a montré des symptomatologies décrites chez des patients porteurs de mutations dans ce gène. L'identification dans 3 familles (dont 2 non-européennes) d'une délétion en phase affectant une répétition imparfaite d'un motif de 7 acides aminés a posé le problème de la signification pathologique éventuelle, ce variant n'ayant pas été identifié dans une population contrôle européenne. Toutefois, des analyses plus poussées ont montré que ce variant était détecté (avec une faible fréquence) dans une population contrôle d'origine indienne, et il semble donc non strictement associé à une déficience mentale. Ceci illustre l'utilité d'une analyse clinique poussée permettant d'orienter les recherches de mutations, et la difficulté de discriminer entre variant rare et mutation à effet pathologique.

2) Myopathies myotubulaires/centronucléaires et analyse fonctionnelle d'une nouvelle famille de phosphoinositides phosphatases : les myotubularines (équipe codirigée par J. Laporte et J.L. Mandel, avec A. Buj-Bello).

La myopathie myotubulaire est une myopathie congénitale très sévère liée au X, qui entraîne une hypotonie néonatale et une mortalité précoce des enfants atteints. Nous avons identifié en 1996 le gène *MTM1* muté dans cette maladie, et montré (en collaboration avec B. Payrastré, Toulouse) qu'il codait pour une nouvelle phosphatase, la myotubularine, spécifique de phosphoinositides (PtdIns3P et PtdIns(3,5)P₂) et impliquée dans la production de PtdIns5P (Tronchère *et al.*, 2004). Des analyses fonctionnelles de la myotubularine suggèrent un rôle dans les mécanismes d'endocytose, et le PtdIns3P est par ailleurs connu comme un signal de ciblage de protéines vers la membrane des endosomes.

La myotubularine est le membre fondateur d'une nouvelle famille protéique spécifique des eucaryotes et conservée des levures à l'homme. Chez l'homme, il existe 14 gènes répartis en 6 sous-familles. Chacune de ces sous-familles est représentée par un seul orthologue dans le nématode *C. elegans* et dans la drosophile. De manière étonnante, 3 de ces sous-familles correspondent à des phosphatases inactives (des résidus essentiels à l'activité catalytique ne sont pas conservés). Les phosphatases inactives (ou dead-phosphatases) réguleraient les phosphatases actives en formant des hétérodimères (Nandurkar *et al.*, 2003, Laporte *et al.*, 2003). D'autre part, les mutations d'une phosphatase active (*MTMR2*) ou d'une phosphatase inactive (*MTMR13*), entraînent toutes deux un phénotype de neuropathie périphérique autosomique récessive avec démyélinisation (maladie de Charcot Marie Tooth, formes *CMT4B1* et *CMT4B2*). Afin de caractériser au plan fonctionnel cette famille, nous avons entrepris, en collaboration avec le Dr. M. Labouesse (IGBMC), une étude dans le nématode *C. elegans*. Des expériences préliminaires suggèrent des défauts d'endocytose pour certains mutants myotubularines. Grâce à la caractérisation de mutants de la kinase *PIKfyve/fab1p* (qui transforme le

PtdIns3P en PtdIns(3,5)P2, tous 2 substrats de la myotubularine), nous avons montré dans cet organisme que le PtdIns(3,5)P2 est impliqué dans la maturation terminale des lysosomes et probablement dans la récupération des membranes à partir des vésicules (Nicot *et al.*, 2006).

Afin de comprendre la spécificité musculaire de la myotubularine, nous avons caractérisé sa localisation dans des fibres musculaires grâce à un anticorps spécifique. La localisation en partie membranaire est confirmée par le fait que la surexpression de la myotubularine dans le muscle produit une altération des membranes (A. Buj-Bello, en préparation). Nous avons commencé l'identification d'interacteurs musculaires de la myotubularine par des approches de protéomique et criblage double hybride dans la levure. L'analyse du transcriptome du muscle de souris déficientes en myotubularine (en collaboration avec A. Beggs, Harvard) a révélé des altérations précoces par rapport à l'apparition de la pathologie musculaire, qui indiquent des pistes physiopathologiques très prometteuses.

Nous avons aussi poursuivi une approche de thérapie génique à l'aide de vecteur AAV (adeno-associated virus), en collaboration avec le Généthon (Évry), et une autre approche thérapeutique par surexpression de l'IGF-1, un activateur de la croissance musculaire. Des résultats prometteurs ont été obtenus pour l'approche thérapie génique, mais indiquent une toxicité potentielle de la surexpression de myotubularine. L'approche AAV doit permettre également, en testant les gènes homologues les plus proches (MTMR1 et R2), de mieux comprendre la spécificité fonctionnelle de MTM1 dans le muscle, en discriminant entre les alternatives de spécificité d'expression ou liée à la structure de la protéine.

Nous avons initié la recherche de gènes impliqués dans les myopathies centronucléaires récessives, qui présentent une pathologie musculaire identique à la myopathie myotubulaire, mais avec une sévérité en général moindre, et un début plus tardif. Les familles que nous avons recrutées étant peu informatives pour une analyse de liaison, nous avons opté pour une recherche de gènes candidats identifiés par analyse bioinformatique, complétée dans les familles consanguines, par cartographie d'homozygotie sur puces SNPs. Deux gènes candidats fonctionnels montrent des variations de séquences chez les patients. Le premier est une nouvelle phosphatase à phosphoinositides qui partage la même spécificité que la myotubularine et les 2 altérations faux-sens trouvées à l'état hétérozygote abolissent ou diminuent l'activité enzymatique (Tosch *et al.*, 2006 ; collaboration avec B. Payrastra). Dans le deuxième gène, nous avons trouvé 3 variants à l'état homozygote dans des familles consanguines, dont un codon stop ; leurs effets sur la fonction de la protéine sont en cours d'analyse. Enfin, en collaboration avec P. Guicheney (Paris) puis avec V. Biancalana (Strasbourg), nous avons identifié des mutations dans la dynamine 2, une protéine impliquée dans l'endocytose, chez des patients atteints de la forme dominante des myopathies centronucléaires (Bitoun *et al.*, 2005 et non publié).

Nous poursuivons aussi l'analyse du gène *Cxorf6*, adjacent du gène *MTM1*, qui est un candidat sérieux pour des formes d'ambiguïté génitale externe (hypospade), car nous l'avons trouvé délété chez deux patients atteints à la fois de myopathie myotubulaire et d'hypospade, en collaboration avec l'équipe de T Ogata (Japon) et après avoir exclu l'implication du gène *MTMR1* qui se situe dans la même région (Zanoteli *et al.*, 2005).

3) Maladies neurodégénératives liées à des expansions de polyglutamine (maladie de Huntington, ataxie spinocérébelleuse SCA7) (équipe dirigée par Y. Trottier depuis juin 2006, avec K. Merienne)

La maladie de Huntington, l'ataxie spinocérébelleuse de type 7 (SCA7) et 7 autres maladies neurodégénératives sont dues à une expansion de répétition CAG codant pour un homopolymère de glutamines (polyQ) dans des protéines cibles spécifiques de chaque maladie. Les protéines cibles portent une polyQ polymorphique, toutefois l'expansion au-delà de 35-39 résidus entraîne un gain de propriété toxique, qui augmente avec la taille de la polyQ, et qui est responsable du dysfonctionnement, puis de la mort de neurones, avec une spécificité d'atteinte neuronale qui diffère selon la maladie.

Les protéines mutées montrent un défaut de dégradation, qui mène à leur accumulation dans le noyau et parfois dans le cytoplasme des neurones, sous la forme d'agrégat ou inclusion. Nous avons entrepris plusieurs voies d'investigations dans le but de mieux comprendre ce processus d'accumulation. Nous cherchons à définir les propriétés structurales des polyQ. Nous avons obtenu des cristaux composés d'une polyQ en interaction avec un anticorps anti-polyQ. L'élucidation de la structure du complexe est en cours, en collaboration avec A. Podjarny de l'IGBMC. Ce travail devrait non seulement révéler la structure de la polyQ, qui est un motif de fonction inconnue présent dans un très grand nombre de protéines, mais aussi celle de l'anticorps qui devrait nous fournir une base pour générer par modélisation des inhibiteurs de l'agrégation. Nous avons également testé l'hypothèse que l'expansion adopterait une conformation pathogénique. Nous avons comparé les propriétés structurales et physiques de polyQ de tailles normales ou pathogéniques par RMN, BIAcore et spectrométrie de masse. Nous avons démontré que les polyQ, quelle que soit leur taille, présentent des propriétés comparables autant sous la forme soluble, agrégée que lors d'interaction, excluant l'hypothèse conformationnelle. Nos données appuient plutôt un modèle où les propriétés délétères des polyQ augmenteraient graduellement avec la taille, indiquant que d'autres paramètres liés aux contextes protéique et cellulaire seraient déterminants dans l'établissement d'un seuil apparent de toxicité. Un manuscrit à ce sujet a été soumis pour publication.

L'agrégation des protéines mutées dans le noyau semble se produire via la formation de microagrégats, qui colocalisent parfois avec des corps PML. Récemment, en collaboration avec A. Sittler (INSERM U679, Paris), nous avons découvert que les corps nucléaires formés par l'isoforme 4 de PML contiennent des

protéines chaperones et des protéasomes et seraient des sites actifs de la dégradation des protéines mutées. Nous avons également montré que la surexpression de PML4 ou son induction par l'interferon β prévient l'accumulation nucléaire des protéines mutées dans les modèles cellulaires (Janer *et al.*, 2006). L'interferon β , qui est une molécule déjà utilisée dans le traitement de la sclérose en plaque, sera testée en essai préclinique sur un modèle souris SCA7 par A. Sittler.

Les mécanismes de dysfonction et de dégénérescence neuronale sont encore peu caractérisés. Nous nous sommes intéressés à ces mécanismes dans le cas de SCA7, qui est la seule des maladies à expansion de polyQ entraînant une dégénérescence rétinienne se manifestant cliniquement. D'abord, en collaboration avec L. Tora de l'IGBMC, nous avons élucidé la fonction jusque-là inconnue de l'ataxine 7, qui est un composant de complexes de transcription comportant une activité histone acétyltransférase (complexes TFTC et GCN5, homologues du complexe SAGA identifié dans la levure) (Helmlinger *et al.*, 2004). Nous avons créé antérieurement plusieurs modèles de souris transgéniques surexprimant dans divers types cellulaires l'ataxine 7 mutée (cf. Helmlinger et Devys, 2005). Nous avons poursuivi l'étude du modèle de surexpression dans les photorécepteurs de la rétine, qui génère une pathologie très similaire à celle retrouvée chez les patients, caractérisée par une réduction progressive de l'activité électrorétinogramme et de la couche des segments des photorécepteurs précédant la dégénérescence des photorécepteurs. Une étude récente des profils transcriptionnels dans la rétine de ces souris indique que ces anomalies sont dues à une forte répression des gènes spécifiques des photorécepteurs. Cette répression semble être le résultat d'une perte d'expression des facteurs de transcription (Nrl, Crx, Nr2e3) qui contrôlent la différenciation des photorécepteurs, ainsi qu'à la réactivation de facteurs tel Stat3, qui peuvent inhiber cette différenciation (Abou-Sleymane *et al.*, 2006). Il semble donc que l'ataxine 7 mutée compromette le programme génétique de différenciation des photorécepteurs. La répression de ce programme corréle de manière très étonnante avec une décondensation importante de domaines de chromatine des photorécepteurs, à un recrutement anormal du complexe TFTC/histone acetyl transférase et à une hyperacétylation de l'histone H3 au niveau de promoteurs spécifiques correspondant à des gènes dont l'expression est inactivée (Helmlinger *et al.*, 2006). Il reste à étudier si ces effets sont liés à un dysfonctionnement spécifique de TFTC comportant l'ataxine 7 mutée, ou s'il s'agit d'un effet général des polyQ mutées dans les photorécepteurs. En effet, nous avons montré antérieurement une pathologie des photorécepteurs dans un autre modèle souris très étudié de pathologie à polyQ (souris R6, Helmlinger *et al.*, 2002). Les profils transcriptionnels des rétines de ces souris sont très similaires à ceux des souris SCA7, ce qui indique que l'expansion de polyglutamine affecte de manière indépendante du contexte protéique l'expression de gènes spécifiques des photorécepteurs (Abou-Sleymane *et al.*, 2006).

Nous avons poursuivi l'étude, dans le modèle rétinien de souris SCA7, de l'implication de la voie de signalisation de réponse au stress (JNK et Jun/AP1)

qui est activée par la présence d'expansions de polyglutamine dans des modèles cellulaires ou de souris transgéniques HD et SCA7 (Mérieu *et al.*, 2003). Nous avons récemment observé que AP1 pourrait réprimer le promoteur Nrl. Le croisement des souris SCA7 avec des souris exprimant une forme inactive de cJun indique qu'AP1 contribue en effet à la dysfonction des photorécepteurs puisque son inactivation permet la re-expression partielle de Nrl et d'autres gènes spécifiques des photorécepteurs, et ralentit la dégénérescence des photorécepteurs. Ces résultats sont soumis pour publication.

4) Analyse génétique du syndrome de Bardet-Biedl (collaboration avec le Prof. H. Dollfus)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS), de transmission autosomique récessive, associe rétinite pigmentaire, obésité, polydactylie, anomalies rénales et atteinte cognitive. Il est caractérisé par une étonnante hétérogénéité génétique, contrastant avec la spécificité de la présentation clinique. Au cours des 6 dernières années, 9 gènes (dénommés BBS1 à 9) avaient été identifiés par des équipes américaines et anglaises, dont les mutations ne rendent compte que d'environ 50 % des patients. L'identification de ces gènes, codant pour des protéines de types très divers et dont les fonctions étaient initialement inconnues, a permis de relier le syndrome BBS à des défauts dans l'assemblage ou la fonction de structures ciliées (cil primaire) et du centrosome. Nous participons à une étude de corrélation génotype-phénotype et d'épidémiologie moléculaire, qui a notamment montré que l'hypothèse de transmission triallélique proposée par l'équipe de Katsanis ne s'applique qu'à un nombre très restreint de familles (Hichri *et al.*, 2005), et surtout nous avons entrepris la recherche de nouveaux gènes BBS. L'utilisation d'une approche de cartographie par homozygotie dans des familles consanguines, à l'aide de « puces SNP (single nucleotide polymorphism) », a permis d'identifier un nouveau gène majeur (BBS10), dont les mutations sont retrouvées chez plus de 20 % des patients (en raison notamment d'une mutation récurrente) (Stoetzel *et al.*, 2006). De manière surprenante, alors que 8 des 9 gènes BBS précédemment identifiés sont très conservés dans l'évolution, entre tous les organismes ciliés (de l'homme au nématode, et même à l'algue *Chlamydomonas*), le gène BBS10 code pour une protéine spécifique des vertébrés et dont la séquence protéique évolue beaucoup plus rapidement que dans les autres gènes BBS (à l'exception du gène BBS6). Par la combinaison de la cartographie génétique dans de petites familles consanguines et d'analyses bioinformatiques permettant de prioriser les gènes candidats dans une région chromosomique donnée (en collaboration avec l'équipe d'Olivier Poch à l'IGBMC), nous avons très récemment identifié le gène BBS12. Celui-ci montre des caractéristiques évolutives identiques à celles du gène BBS10, et appartient, comme BBS6 et BBS10 à la superfamille des chaperonines de type II (Stoetzel *et al.*, sous presse). L'identification de BBS10 et 12 a permis de montrer que ces gènes constituent avec BBS6 une branche spécifique des vertébrés au sein de cette superfamille dont les autres membres

ont une origine beaucoup plus ancienne (Stoetzel *et al.*, sous presse). Enfin, nous avons montré les problèmes possibles dans la stratégie de cartographie par homozygotie de gènes de maladies récessives, utilisant des familles consanguines étendues affectées par de telles maladies. L'analyse d'une grande famille libanaise avec syndrome de Bardet-Biedl dans 5 fratries issues de mariages consanguins a montré, contrairement à l'attente d'un seul gène et d'une seule mutation ségrégeant dans la famille, la présence de 3 mutations dans 2 gènes différents (une fratrie étant homozygote pour une mutation du gène BBS4, 3 homozygotes pour une même mutation du gène BBS10 (cette famille ayant permis l'identification de ce gène) et une fratrie avec un patient hétérozygote pour 2 mutations de BBS10). Ce phénomène *a priori* inattendu s'explique en fait par l'hétérogénéité génétique non allélique très extensive pour le syndrome BBS et nous avons calculé que la fréquence des porteurs sains de mutation BBS était d'environ 1/50, contrastant avec la rareté de cette maladie (au moins dans les populations à taux de consanguinité faible) (Laurier *et al.*, 2006).

Ataxies de Friedreich et ataxies récessives

L'équipe dirigée par le Pr. Michel Koenig et le Dr. Hélène Puccio s'intéresse aux mécanismes physiopathologiques de l'ataxie de Friedreich (AF), par la construction et l'étude de modèles murins de la maladie ou de modèles cellulaires, et à l'identification de gènes impliqués dans d'autres formes d'ataxies récessives.

Cette équipe a créé depuis plusieurs années des modèles souris de l'ataxie de Friedreich, par inactivation conditionnelle spatio-temporelle (système Cre-Lox) du gène de la frataxine. Les études moléculaires et biochimiques de ces modèles ont permis de démontrer que la frataxine est nécessaire à la biosynthèse de certains noyaux Fer-Soufre (Fe-S) présents dans des protéines cytosoliques ou mitochondriales, que les dépôts de fer intramitochondrial sont sous une forme non-toxique, et que, contrairement à ce qui était présumé, le stress oxydatif ne joue pas un rôle majeur dans la pathologie. Un nouveau modèle a été développé, qui est déficient en frataxine dans le muscle squelettique et qui présente les signes classiques d'une myopathie mitochondriale (Wattenhofer-Donzé, manuscrit en préparation). Ceci démontre que le muscle squelettique n'est pas épargné par une pathologie en absence de frataxine, mais semblerait moins sensible en cas de déficit partiel, tel que présent chez les patients. Ceci serait en accord avec l'observation chez les patients avec AF d'un défaut de récupération énergétique après effort, malgré l'absence de dégénérescence musculaire et une force musculaire préservée. Le Dr. Marie Wattenhofer-Donzé, qui étudie ce modèle, est titulaire d'un poste ATER du Collège de France pour l'année 2006-2007. Les modèles de souris invalidées pour le gène frataxine ont été utilisés par d'autres équipes, dans le cadre de collaborations, montrant que la déficience en frataxine entraîne une altération du niveau de transcrits impliqués dans le métabolisme de l'hème et de métabolites mitochondriaux de l'hème (Schoenfeld *et al.*, 2005), et

au niveau du foie, cette déficience entraîne l'apparition de tumeurs, indiquant que la frataxine peut agir comme un suppresseur de tumeurs (Thierbach *et al.*, 2005).

Afin de préciser le rôle de la frataxine dans la biogenèse ou la réparation des noyaux Fe-S, une étude visant à caractériser les partenaires protéiques de la frataxine chez les mammifères a été initiée. L'interaction entre la frataxine et l'aconitase mitochondriale endogène a été étudiée dans une lignée de myoblastes C2C12 et à partir de cœur de souris. Les premiers résultats suggèrent une interaction très faible entre la frataxine et l'aconitase mitochondriale dans les myoblastes en condition de base. Une mise au point est en cours pour vérifier la spécificité de cette interaction et améliorer les conditions de co-immunoprécipitation pour une meilleure visualisation du complexe frataxine/aconitase mitochondriale. Une identification précise des conditions nécessaires pour observer l'interaction sera ensuite effectuée. En parallèle, l'interaction entre la frataxine et deux autres partenaires potentiels (IscU, protéine impliquée dans l'assemblage des centres Fe-S et la ferrocyclase) est en cours.

Nous avons obtenu un modèle cellulaire avec un niveau sévèrement diminué en frataxine. Ces cellules présentent un défaut de prolifération et un déficit en production d'ATP (déficit mitochondrial). Nous avons entrepris sur ces cellules un crible pharmacologique à grande échelle afin d'identifier des molécules potentiellement thérapeutiques. Les premières étapes ont été de définir les conditions de criblage dans un format de plaques à 96 puits sous forme automatisée. Un premier criblage d'une chimiothèque de 1 500 molécules a été entrepris en septembre 2006 sur la plateforme de criblage du génopôle Alsace-Lorraine.

L'équipe avait précédemment identifié les gènes impliqués dans des formes d'ataxie avec apraxie oculomotrice (AOA1/gène aprataxine en 2001 ; AOA2/gène senataxine en 2004) ainsi que plusieurs familles avec une forme très rare d'ataxie avec apraxie oculomotrice due à une mutation fondatrice dans le gène MRE11 (Fernet *et al.*, 2005). Ces gènes codent pour trois protéines nucléaires, dont la fonction des deux premières reste inconnue. D'autres loci ont été identifiés par analyse de liaison dans des familles consanguines avec d'autres formes d'ataxie, et la recherche des gènes mutés est entreprise. Nous avons notamment localisé dans la région q31 du chromosome 5 le gène du syndrome de Marinesco-Sjögren, qui associe une ataxie précoce, une cataracte et un retard du développement psychomoteur (Lagier-Tourenne *et al.*, 2003). Une collaboration avec l'équipe du Pr. A.-E. Lehesjoki (Helsinki) a permis d'identifier le gène muté, qui code pour la protéine SIL1, une cochaperone de la protéine « heat-shock » HSPA5, membre de la famille HSP70 (Anttonen *et al.*, 2005). Il s'agit de la deuxième protéine cytosolique impliquée dans une fonction chaperone dont le déficit est responsable d'une ataxie récessive (la première étant la sarsine identifiée par l'étude de l'ataxie spastique du Charlevoix-Saguenay) suggérant ainsi l'existence possible de voies physiopathologiques communes. Une collaboration avec l'équipe du Pr A. Brice a permis d'identifier le locus d'une nouvelle entité autosomique récessive associant une paraplégie spastique à une ataxie et une

neuropathie sensitive (Klebe *et al.*, 2006), pour laquelle les gènes chaperones de la région liée seraient également de bons candidats.

Syndrome de Coffin-Lowry et kinase RSK2, retard mental lié au chromosome X

L'équipe du Dr. A. Hanauer étudie les bases moléculaires du syndrome de Coffin-Lowry (retard mental syndromique lié au chromosome X, comportant notamment des anomalies squelettiques progressives) et le rôle de la kinase RSK2 mutée dans ce syndrome et de ses homologues RSK1, 3 et 4. La création d'une souris invalidée pour le gène RSK2, qui présente des anomalies de la croissance osseuse, a permis de montrer, en collaboration avec Gérard Karsenty (Houston) que RSK2 est nécessaire pour la différenciation et la fonction des ostéoblastes, en régulant par phosphorylation le facteur de transcription ATF4 (Yang *et al.*, 2004). Ces souris présentent également des déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale (Poirier *et al.*, 2006). Une déficience de l'activité du facteur de transcription CREB en réponse à EGF et IGF-1 est constatée chez ces souris, ainsi qu'une induction anormale de la transcription du gène c-Fos, tous les deux impliqués dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation (manuscrit en préparation). L'utilisation de souris triplement mutées dans les gènes RSK1, 2 et 3 a permis de montrer que, contrairement aux observations dans le Xénope, l'arrêt en métaphase des oocytes de souris induit par le facteur cytotstatique (CSF), n'est pas dépendant des kinases RSK (Dumont *et al.*, 2005).

Dans le cadre de l'activité du laboratoire de diagnostic génétique (CHU de Strasbourg), nous avons identifié 44 nouvelles mutations dans le gène RSK2, portant ainsi le nombre total de mutations distinctes dans ce gène à 128. Ces mutations sont dispersées sur toute la longueur du gène, la très grande majorité étant observée dans une seule famille. Ces nouveaux résultats confirment la très grande hétérogénéité allélique du syndrome de Coffin-Lowry, ainsi que l'absence (à quelques exceptions près) de corrélation phénotype/génotype (Delaunoy *et al.*, 2006).

Une étude de translocations X-autosomes associées à un retard mental est également poursuivie, afin d'identifier au niveau des points de cassure de nouveaux gènes candidats à être impliqués dans des formes de retard mental lié au chromosome X. Un nouveau gène de fonction inconnue, KIAA1202, inactivé par deux translocations indépendantes chez des patientes atteintes de retard mental a ainsi été identifié (Hagens *et al.*, 2006). Chez une autre patiente, affectée d'un retard mental léger et porteuse d'une translocation équilibrée X ; 5, le point de cassure sur le chromosome 5 inactive un gène de la famille des kinases cycline-dépendante like, dont un autre membre est déjà impliqué dans une forme de retard mental syndromique liée au chromosome X, le syndrome de West. Ces données associées au fait que ce gène est largement exprimé notamment dans

différentes structures cérébrales sont en accord avec un rôle dans le retard mental (manuscrit en préparation).

Réarrangement génomiques dans les tumeurs solides

Le Dr. S. du Manoir et son équipe développent des stratégies d'étude des réarrangements chromosomiques (amplifications, délétions) associées à des tumeurs solides (cancers VADS, cancers du poumon) par « CGH array » et analyse du transcriptome (Orsetti *et al.*, 2004). Les études en cours concernent notamment des régions du bras long du chromosome 3 dont le dosage est fréquemment augmenté dans ces tumeurs, afin d'identifier de nouveaux oncogènes, et leur rôle dans la progression tumorale. Un gène candidat présent dans cette région avait été identifié antérieurement par cette équipe, codant pour la cycline L1 (CCNL1). Une étude sur une importante série de tumeurs VADS (en collaboration avec J. Abecassis, Centre anticancéreux Paul Strauss) a montré que ce gène était surexprimé dans 57 % des cas, et amplifié dans 26 %, mais sans corrélation détectable avec les paramètres cliniques ou histopathologiques. Les anticorps anti CCLN1 qui ont été développés montrent un marquage nucléaire suggérant un rôle de la cycline L1 dans l'épissage des ARN (Muller *et al.*, 2006). Afin d'identifier des marqueurs génomiques pronostiques associés à des paramètres cliniques comme l'apparition de métastases post-résection tumorale ou la survie, trois études sont en cours pour cribler les aberrations chromosomiques par CGH sur puces. Ces études rétrospectives construites sur des cohortes très homogènes concernent des cancers VADS (coll. B. Wasylyk et J. Abecassis), des adénocarcinomes du poumon (coll. N. Martinet) et des carcinomes de l'ovaire (coll. N. Arnold). Les premiers résultats pour les cancers VADS sont prometteurs, mettant en évidence une signature génomique ségrégeant avec l'apparition post-exérèse de métastases.

Une étude sur des fibrohistiocytes a également montré la présence en 3q28 d'une région de 1,5 mégabases très amplifiée dans une lignée cellulaire dérivée d'une tumeur et dans 2 tumeurs primaires (Husenet *et al.*, 2006). Cette région contient le gène d'un microARN dont le potentiel oncogénique est exploré (Husenet *et al.* en préparation).

LISTE DES PUBLICATIONS DU GROUPE DE GÉNÉTIQUE HUMAINE DE L'IGBMC
(depuis juillet 2005, et autres publications 2005 citées dans le texte)

*Publications parues dans des revues de niveau international
avec comité de lecture*

Abou-Sleymane G., Chalmel F., Helmlinger D., Lardenois A., Thibault C., Weber C., Merienne K., Mandel J.L., Poch O., Devys D. and Trottier Y. Polyglutamine expansion causes neurodegeneration by altering the neuronal differentiation program. *Hum. Mol. Genet.* (2006) 15 : 691-703.

Cossée M., Demeer B., Blanchet P., Echenne B., Singh D., Hagens O., Antin M., Finck S., Vallee L., Dollfus H., Hegde S., Springell K., Thelma B.K., Woods C.G., Kalscheuer V.M. and Mandel J.L. Exonic microdeletions in the X-linked *PQBPI* gene in mentally retarded patients: a pathogenic mutation and in-frame deletions of uncertain effect. *Eur. J. Hum. Genet.* (2006) 14 : 418-425 (published online on Feb. 22, 2006).

Delaunoy J.P., Dubos A., Marques Pereira P. and Hanauer A. Identification of novel mutations in the *RSK2* gene (*RPS6KA3*) in patients with Coffin-Lowry syndrome. *Clin. Genet.* (2006) 70 : 161-166.

Guénot D., Guérin E., Aguilon-Romain S., Pencreach E., Schneider A., Neuville A., Chenard M.P., Duluc I., Du Manoir S., Brigand C., Oudet P., Kédinger M. and Gaub M.P. Primary tumour genetic alterations and intra-tumoral heterogeneity are maintained in xenografts of human colon cancers showing chromosome instability. *J. Pathol.* (2006) 208 : 643-652.

Hagens O., Dubos A., Abidi F., Barbi G., Van Zutven L., Hoeltzenbein M., Tommerup N., Moraine C., Fryns J.P., Chelly J., van Bokhoven H., Géczy J., Dollfus H., Ropers H.H., Schwartz C.E., de Cassia Stocco dos Santos R., Kalscheuer V. and Hanauer A. Disruptions of the novel *KIAA1202* gene are associated with X-linked mental retardation. *Hum. Genet.* (2006) 118 : 578-590.

Helmlinger D., Hardy S., Abou-Sleymane G., Eberlin A., Bowman A.B., Gansmüller A., Picaud S., Zoghbi H.Y., Trottier Y., Tora L. and Devys D. Glutamine-expanded Ataxin-7 alters TFTC/STAGA recruitment and chromatin structure leading to photoreceptor dysfunction. *PLoS Biology* (2006) 4 : 432-445.

Hussenet T., Mallem N., Redon R., Jost B., Aurias A. and Du Manoir S. Overlapping 3q28 region amplifications in the COMA cell line and undifferentiated primary sarcoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics* (2006) 169 : 102-113.

Jalkanen R., Pronicka E., Tynismaa H., Hanauer A., Walder R. and Alitalo T. Genetic background of HSH in three Polish families and a patient with an X;9 translocation. *Eur. J. Hum. Genet.* (2006) 14 : 55-62.

Janer A., Martin E., Muriel M.P., Latouche M., Fujigasaki H., Ruberg M., Brice A., Trottier Y. and Sittler A. PML clastosomes prevent nuclear accumulation of mutant ataxin-7 and other polyglutamine proteins. *J. Cell. Biol.* (2006) 174 : 65-76.

Kim Y., Sung J.Y., Ceglia I., Lee K.W., Ahn J.H., Halford J.M., Kim A.M., Kwak S.P., Park J.B., Ryu S.H., Schenck A., Bardoni B., Scott J.D., Nairn A.C. and Greengard P. Phosphorylation of WAVE1 regulates actin polymerization and dendritic spine morphology. *Nature* (2006) 442 : 814-817.

Klebe S., Azzedine H., Durr A., Bastien P., Bouslam N., Elleuch N., Forlani S., Charon C., Koenig M., Melki J., Brice A., Stevanin G. Autosomal recessive spastic paraplegia (SPG30) with mild ataxia and sensory neuropathy maps to chromosome 2q37.3. *Brain.* (2006) 129 : 1456-1462.

Laurier V., Stoetzel C., Muller J., Thibault C., Corbani S., Jalkh N., Salem N., Chouery E., Poch O., Danse J.M., Amati-Bonneau P., Bonneau D., Megarbane A., Mandel J.L., Dollfus H. Pitfalls of homozygosity mapping : an extended consanguineous Bardet Biedl syndrome family with two mutant genes (BBS2, BBS10), three mutations, but no triallelism. *European Journal Human genetics* (2006) 14 : 1195-1203.

Muller D., Millon R., Théobald S., Hussenet T., Wasyluk B., du Manoir S. and Abecassis J. Cyclin LI (CCNLI) gene alterations in human head and neck squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer* (2006) 94 : 1041-1044.

Nicot A.S., Fares H., Payrastra B., Chisholm A.D., Labouesse M. and Laporte J. : The phosphoinositide kinase PIKfyve/Fab1p regulates terminal lysosome maturation in *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Biol. Cell* (2006) 17 : 3062-3074 (published online on April 26, 2006).

Poirier R., Jacquot S., Vaillend C., Southiphong AA., Libbey M., Davis S., Laroche S., Hanauer A., Welzl H., Lipp HP., Wolfer DP. Deletion of the Coffin-Lowry Syndrome Gene Rsk2 in Mice is Associated With Impaired Spatial Learning and Reduced Control of Exploratory Behavior. *Behav. Genet.* (2006) Oct. 11 ; [Epub ahead of print].

Ramos A., Hollingworth D., Adinolfi S., Castets M., Kelly G., Frenkiel T.A., Bardoni B. and Pastore A. The structure of the N-terminal domain of the fragile X mental retardation protein : a platform for protein-protein interaction. *Structure* (2006) 14 : 21-31.

Schlüter A., Fourcade S., Ripp R., Mandel J.L., Poch O. and Pujol A. The evolutionary origin of peroxisomes : an ER-peroxisome connection. *Mol. Biol. Evol.* (2006) 23 : 838-845.

Stoetzel C., Laurier V., Faivre L., Mégarbané A., Perrin-Schmitt F., Verloes A., Bonneau D., Mandel J.L., Cossée M. and H. Dollfus. BBS8 is rarely mutated in a cohort of 128 Bardet-Biedl syndrome families. *J. Hum. Genet.* (2006) ; 51(1) : 81-84.

Stoetzel C., Laurier V., Davis E.E., Muller J., Rix S., Badano J.L., Leitch C.C., Salem N., Chouery E., Corbani S., Jalk N., Vicaire S., Sarda P., Hamel C., Lacombe D., Holder M., Odent S., Holder S. Brooks A.S., Elcioglu N.H., Da Silva E., Rossillion B., Sigaudy S., de Ravel T.J.L., Lewis R.A., Leheup B., Verloes A., Amati-Bonneau P., Mégarbané A., Poch O., Bonneau D., Beales P., Mandel J.L., Katsanis N. and Dollfus H. *BBS10* encodes a vertebrate-specific chaperonin-like protein and is a major BBS locus. *Nat. Genet.* (2006) 38 : 521-524.

Stoetzel C., Muller J., Laurier V., Davis E.E., Zaghoul NA., Vicaire S., Jacquelin C., Plewniak F., Leitch C.S., Sarda P., Hamel C., de Ravel T.J.L., Lewis R.A., Thibault C., Danse J.M., Verloes A., Bonneau D., Katsanis N., Poch O., Mandel J.L. and Dollfus H. Identification of a novel BBS gene (BBS12) high-

lights the major role of a vertebrate specific branch of chaperonine-related proteins in Bardet-Biedl syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* (2006) in press.

Tosch V., Rohde H.M., Tronchère H., Zanoteli E., Monroy N., Kretz C., Dondaine N., Payraastre, Mandel J.L. and Laporte J. A novel PtdIns(3)P and PtdInsP(3,5)P₂ phosphatase with inactivating variant in centronuclear myopathy. *Hum. Mol. Genet.* (2006) 15 : 3098-3106.

Anttonen A.K., Mahjneh I., Hämäläinen R.H., Lagier-Tourenne C., Kopra O., Waris L., Anttonen M., Joensuu T., Kalimo H., Paetau A., Tranebjaerg L., Chaigne D., Koenig M., Eeg-Olofsson O., Udd B., Somer M., Somer H. and Lehesjoki A.E. The gene disrupted in Marinesco-Sjörgen syndrome encodes SIL1, an HSPA5 cochaperone. *Nature Genet.* (2005) 37 : 1309-1311.

Bemelmans AP., Bonnel S., Houhou L., Dufour N., Nandrot E., Helmlinger D., Sarkis C., Abitbol M., and Mallet J. : Retinal cell type expression specificity of HIV-1-derived gene transfer vectors upon subretinal injection in the adult rat : influence of pseudotyping and promoter. *J. Gene. Med.* (2005) 7 : 1367-1374.

Bitoun M., Maugeyre S., Jeannet P.Y., Lacène E., Ferrer X., Laforêt P., Martin J.J., Laporte J., Lochmüller H., Beggs A.H., Fardeau M., Eymard B., Romero N.B. and Guicheney P. : Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy. *Nature Genet.* (2005) 37 : 1207-1209.

Castets M., Schaeffer C., Bechara E., Schenck A., Khandjian E.W., Luche S., H. Moine, Rabilloud T., Mandel J.L. and B. Bardoni : FMRP interferes with Rac1 pathway and controls actin cytoskeleton dynamics in murine fibroblasts. *Hum. Mol. Genet.* (2005) 14 : 835-844.

Dumont J., Umbhauer M., Rassinier P., Hanauer A., Verlhac M.H. p90Rsk is not involved in cytotstatic factor arrest in mouse oocytes. *J. Cell. Biol.* (2005) 169 : 227-231

Fernet M., Gribaa M., Salih MAM., Zein Seidahmed M., Hall J., and Koenig M. Identification and functional consequences of a novel *MER11* mutation affecting 10 Saudi Arabian patients with the ataxia telangiectasia-like disorder. *Hum. Mol. Genet.* (2005) 14 : 307-318.

Ferrer I., Kapfhammer J., Hindelang C., Kemp S., Troffer-Charlier N., Broccoli V., Callizot N., Mooyer P., Selhorst J., Vreken P., Wanders RJ., Mandel J.L. and Pujol A. Inactivation of the peroxisomal ABCD2 transporter in the mouse leads to late-onset ataxia involving mitochondria, Golgi and endoplasmic reticulum damage. *Hum. Mol. Genet.* (2005) 14 : 3565-3577.

Hichri H., Stoetzel C., Laurier V., Caron S., Sigaudy S., Sarda P., Hamel C., Martin-Coignard D., Gilles M., Leheup B., Holder M., Kaplan J., Bitoun P., Lacombe D., Verloes A., Bonneau D., Perrin-Schmitt F., Brandt C., Besançon AF, Mandel J.L., Cossée M., Dollfus H. Testing for triallelism : analysis of six BBS genes in a Bardet-Biedl syndrome family cohort. *Eur. J. Hum. Genet.* (2005) 13 : 607-616.

Schoenfeld R.A., Napoli E., Wong A., Zhan S., Reutenauer L., Morin D., Buckpitt A.R., Taroni F., Lonnerdal B., Ristow M., Puccio H. and G.A. Cortopassi : Frataxin deficiency alters heme pathway transcripts and decreases mitochondrial heme metabolites in mammalian cells. *Hum. Mol. Genet.* (2005) 14 : 3787-3799.

Thierbach R., Schultz T.J., Isken F., Voigt A., Mietzner B., Drewes G., von Kleist-Retzow J.C., Wiesner R.J., Magnuson M.A., Puccio H., Pfeiffer A.F.H., Steinberg P. and Ristow M. : Targeted disruption of hepatic frataxin expression causes impaired mitochondrial function, decreased life span and tumor growth in mice. *Hum. Mol. Genet.* (2005) 14 : 3857-3864.

Zanoteli E., Laporte J., Rocha J.C., Kretz C., Oliveira A.S., Mandel J.L., Perez A.B., Gabbai A.A. and Buj-Bello A. : Deletion of both *MTM1* and *MTMR1* genes in a boy with myotubular myopathy. *Am. J. Med. Genet.* (2005) 134A : 338-340.

Articles de synthèse et chapitres de livres

Helmlinger D. and D. Devys : SCA7 mouse models. in *Animal Models of Movement Disorders* (Ed. by M.S. LeDoux) Elsevier (2005) : 637-648.

Castets M., Mandel J.L. and B. Bardoni : FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein) interacting proteins : from a complex to a pathway. in *The Molecular Basis of Fragile X syndrome* (Ed. by Y.J. Sung and R.B. Denman) (2005) : 117-127.

Helmlinger D. and D. Devys : Pathogenesis of Spinocerebellar Ataxia Type 7 : new insights from mouse models and ataxin-7 function. in *Genetic Instabilities and Neurological Diseases*, R. Wells and T. Ashizawa Eds, Academic Press (2006) : 387-397.

Puccio H.M. Mouse models for Friedreich's ataxia. in *Genetic Instabilities and Neurological Diseases*, R. Wells and T. Ashizawa Eds, Academic Press (2006) : 321-325.

DISTINCTIONS

2006 : Le Grand Prix de la Fondation pour la Recherche Médicale a été décerné au Professeur Jean-Louis Mandel « *pour ses travaux majeurs pour la compréhension de mécanismes à l'origine de maladies génétiques humaines mais également essentiels pour l'accompagnement des familles concernées* ».

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION PAR JEAN-LOUIS MANDEL
(depuis juillet 2005)

CONFÉRENCES GRAND PUBLIC

Université du Temps Libre. Strasbourg, le 6 janvier 2006. « Variabilité du génome humain et prédispositions aux maladies. » *Conférencier*.

Institut Universitaire Elie Wiesel. Paris, le 14 mars 2006. « Problèmes éthiques et génétique humaine ». *Conférencier*.

CONFÉRENCES ET PARTICIPATION À DES CONGRÈS

Journée de l'Institut de Biologie du Collège de France. Paris, le 4 octobre 2005. « Maladies monogéniques et génomique fonctionnelle ». *Conférencier*.

Faculté de Médecine Rockefeller. Lyon, le 3 février 2006. Cours-conférence dans le cadre de l'enseignement au Collège de France « Syndrome de retard mental avec X fragile : aspects diagnostics et mécanismes physiopathologiques ».

Les défis scientifiques du 21^e siècle. Institut de France/Académie des Sciences. Paris, le 2 mai 2006. « Variabilité du génome humain et maladies ». *Conférencier*.

4th International Symposium of the Medical Research Institute (MRI) of Tokyo Medical and Dental University on progress of intractable diseases including neurological, immunological, and neoplastic disorders. Tokyo du 8 au 10 septembre 2005. « The fragile X mental retardation syndrome and function of the FMRP protein ». *Conférencier*.

International Symposium of Neuromuscular Diseases. Brussels les 14 et 15 octobre 2005. « Pathogenesis of nerve and muscle disorders with nucleotide repeat expansions ». *Conférencier (keynote lecture)*.

Annual meeting of the American Society of Human Genetics (Salt Lake City, USA) du 25 au 29 octobre 2005 (*participant*).

19th International Mouse Genome Conference (Strasbourg) du 5 au 8 novembre 2005 (*organising committee*).

Taiwan-France Joint Symposium on Transcription and Diseases du 17 au 18 novembre 2005 (Taipei, Taiwan) « The fragile X mental retardation syndrome ». *Conférencier*.

4th CRG annual symposium - New challenges in the mechanistics of human disorders. Connecting the genome with disease (Barcelona, Spain) du 2 au 3 décembre 2005. « Fragile X syndrome and functional analysis of the FRMP protein ». *Conférencier*.

3^e Assises de génétique humaine et médicale (Montpellier) du 26 au 28 janvier 2006. *Modérateur de session*.

Colloque du Collège de France organisé avec l'Académie Royale de Belgique, l'Université Catholique de Louvain et l'Université Libre de Bruxelles : Un monde meilleur pour tous : projet réaliste ou rêve insensé ? (Bruxelles) les 8 et 9 mars 2006. « Individualité du génome humain et médecine prédictive : des applications à espérer ou à craindre ? ». *Conférencier*.

Congrès International 2006 de X fragile-Europe « Le syndrome X-fragile : 15 ans plus tard... ! » (Liège, Belgique) les 6 et 7 avril 2006. « Mécanismes pathologiques du syndrome X fragile et fonctions de la protéine FMRP ». *Conférencier*.

38th Annual Meeting of the European Society of Human Genetics (ESHG) Amsterdam du 6 au 9 mai 2006. *Modérateur de session*.