

Génétique humaine

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

Enseignement

Une série de cours a été consacrée, en février et mars 2005, aux maladies génétiques musculaires. Ces cours ont abordé les progrès récents très importants concernant les gènes impliqués, la fonction des protéines correspondantes et leurs interactions au sein de complexes protéiques ou de voies métaboliques, et les mécanismes génétiques et physiopathologiques de certaines de ces maladies. J'ai évoqué également les travaux visant à développer de nouvelles approches thérapeutiques, et qui s'appuient sur des modèles cellulaires ou animaux (notamment souris).

En introduction à ces cours, un magistral exposé fut consacré à l'histoire de la myologie (qui s'intéresse au fonctionnement des muscles et aux pathologies musculaires) par le Professeur Michel Fardeau (Directeur de l'Institut de Myologie à l'Hôpital de la Salpêtrière, un institut créé sous l'égide de l'Association Française contre les myopathies). Ce séminaire, illustré par une riche iconographie, brossa l'évolution des idées et des connaissances depuis Erasistratos et Hérophile, qui au 3^e siècle avant J.C. identifièrent les muscles et leur capacité de contraction, et reconnurent leur rôle dans les mouvements, jusqu'à Duchenne de Boulogne (1806-1875), en passant par Galien, Leonardo da Vinci et Vesale. Ces aspects et bien d'autres se retrouvent dans l'important livre de Michel Fardeau « L'Homme de chair » (Éditions Odile Jacob), paru en avril 2005, qui décrit de manière très complète et vivante l'histoire des connaissances sur la structure et le fonctionnement des muscles, l'identification des différentes maladies musculaires, et se termine par les spectaculaires avancées récentes issues des approches de génétique moléculaire et de biologie cellulaire.

Le cours consacré à la myopathie de Duchenne a évoqué l'identification du gène dystrophine, premier succès de la stratégie de « clonage positionnel », les relations génotype-phénotype qui rendent compte des différences de sévérité

et d'âge de début des manifestations cliniques liées aux mutations de ce gène gigantesque, et les interactions de la dystrophine avec un complexe glycoprotéique membranaire (DAG). Ce complexe assure la communication entre l'appareil contractile, la membrane musculaire, la lame basale et la matrice extracellulaire. J'ai présenté les travaux très récents et prometteurs visant à développer une thérapie génique de la myopathie de Duchenne, soit par le transfert d'une micro-dystrophine, gardant l'essentiel de la fonctionnalité de la protéine, à l'aide d'un vecteur de type AAV (adeno-associated virus) (Gregorevic *et al.*, 2004), soit en corrigeant l'effet de délétions « tronquantes » entraînant un déphasage du cadre de lecture (associées aux formes les plus sévères), en agissant sur l'épissage de l'ARNm dystrophine, pour les transformer en délétions internes de la protéine (associées à des formes beaucoup moins sévères de myopathie de Becker) (travaux notamment menés au Généthon et à Leiden) (Deutekom et Van Ommen, 2003, Goyenvalle *et al.*, 2004, Lu *et al.*, 2005). Pour ces deux stratégies, des travaux sur les modèles souris montrent qu'une administration de l'agent thérapeutique par voie générale peut être réalisée, dans certains cas avec une très bonne efficacité, mais il reste à les adapter à des modèles de plus grande taille, tels que le modèle canin.

Les deux cours suivants (8.02.05) ont porté sur des aspects démontrant de manière spectaculaire la complexité des relations génotype (quel gène muté, quelle mutation) — phénotype (quelle expression clinique). Les dystrophies musculaires progressives, regroupées pour la plupart sous le terme de limb girdle muscular dystrophy (LGMD) ou myopathies des ceintures, sont un exemple frappant d'hétérogénéité : une quinzaine de gènes sont impliqués dans des maladies cliniquement non distinguables. Quatre des gènes impliqués codent pour des sarcoglycanes, protéines qui font partie du complexe DAG. Deux autres formes de LGMD sont particulièrement importantes par leur fréquence, et par l'intérêt des processus biologiques impliqués. Il s'agit de la forme LGMD2A due à des mutations affectant une protéase calcium-dépendante (la calpaïne 3), et de la forme LGMD2B liée aux mutations affectant la dysferline, une protéine impliquée dans la réparation des lésions membranaires (Bansal et Campbell, 2004). Le défi actuel est de comprendre la fonction précise des protéines impliquées et les mécanismes pathologiques entraînés par leur absence ou dysfonction, notamment par l'étude des modèles souris, dont plusieurs reproduisent assez fidèlement la pathologie humaine correspondante (Durbeej et Campbell, 2002). La taille de certains des gènes impliqués étant réduite (notamment ceux codant pour les sarcoglycanes), ces myopathies sont de bonnes candidates pour des approches de thérapie génique, vu la limitation de taille des séquences pouvant être introduites dans les vecteurs viraux de type AAV, qui semblent représenter à l'heure actuelle la meilleure approche pour les maladies du muscle squelettique.

Les dystrophies musculaires congénitales ou progressives liées à des déficits de la modification par O-glycosylation de protéines (et surtout du dystroglycane, un composant majeur du complexe DAG) représentent un nouveau chapitre dans

les maladies musculaires. Cinq gènes sont identifiés à l'heure actuelle, dont les mutations sont retrouvées dans des maladies de sévérité très différentes, et pouvant dans certains cas comporter des atteintes du système nerveux central et des atteintes oculaires (Muntoni *et al.*, 2004). Le point de départ a été l'identification en 1998 du gène impliqué dans la dystrophie de Fukuyama (relativement fréquente au Japon), codant pour une protéine au départ de fonction inconnue (la fukutine), et dont la déficience entraîne secondairement une atteinte de la glycosylation du dystroglycane.

Les maladies liées à des défauts de la membrane nucléaire représentent un autre exemple extrême d'hétérogénéité, où des mutations différentes d'un même gène (codant pour la lamine A/C) entraînent des pathologies très différentes : identifiées au départ dans une forme de myopathie progressive avec manifestations cardiaques (myopathie d'Emery Dreyfus) puis dans des formes de LGMD ou de cardiopathie dilatée, et ensuite dans une forme de neuropathie périphérique (CMT2), dans une lipodystrophie (anomalie de la répartition des graisses liées à une prédisposition au diabète), dans un syndrome squelettique dysmorphique (la dysplasie mandibulo acrale), pour finir par la démonstration totalement inattendue de son implication dans le syndrome le plus extrême de vieillissement prématuré, la progéria (De Sandre Giovanelli *et al.*, 2003 ; Eriksson *et al.*, 2003). Cette dernière maladie, heureusement exceptionnelle, constituait l'un des mystères de la génétique, car elle est de survenue sporadique. Les travaux de N. Levy ont montré l'importance dans cette dernière maladie de la maturation des lamines, une protéase impliquée dans cette maturation étant elle-même mutée dans des pathologies similaires (Navarro *et al.*, 2004, 2005). La mutation responsable dans la plupart des cas de la progéria entraînant un épissage anormal, des approches thérapeutiques visant à interférer avec l'épissage pourraient, comme pour la myopathie de Duchenne, se révéler prometteuses. Il reste à comprendre la spécificité d'atteinte musculaire de certaines mutations du gène lamine A/C, ou des mutations entraînant une perte de fonction d'une autre protéine de la membrane nucléaire, l'émerine (Worman et Courvalin, 2004).

Les cours du 15.02.05 ont porté sur des maladies musculaires liées à des mutations non-conventionnelles : expansions de répétitions trinuécléotidiques (dystrophie myotonique de Steinert, dystrophie musculaire oculo-pharyngée) ou rétraction de répétitions subtélomériques (dystrophie fascio-scapulo-humérale). C'est peu après la découverte de l'expansion instable d'une répétition CGG comme mutation responsable du syndrome X fragile, qu'un phénomène similaire affectant une répétition CTG a été retrouvé en 1992 comme cause unique de la dystrophie myotonique liée au chromosome 19 (locus DM1), une des maladies musculaires les plus fréquentes, de transmission autosomique dominante. Cette expansion affecte une séquence située dans la partie 3' non traduite d'un gène codant pour une protéine kinase (DMPK), et contrairement au syndrome X fragile, elle n'empêche pas la transcription du gène muté. L'instabilité de cette mutation au cours des générations successives rend compte du phénomène d'anti-

cipation (tendance de la maladie à survenir de plus en plus tôt, et d'être de plus en plus sévère, au cours des générations successives dans une même famille, depuis les formes tardives avec symptomatologie atténuée survenant après 40 ans jusqu'à la gravissime forme congénitale). La réalité biologique de ce phénomène décrit par des cliniciens depuis 1918, avait longtemps été niée, et attribuée à un biais d'observation. Le mécanisme d'action de la mutation a été longtemps l'objet de discussions. Elle entraîne la production d'un ARN messager DMPK portant l'expansion (répétition CUG), qui s'accumule dans le noyau sous forme de foci. Il avait été suggéré que ceci pourrait entraîner un déficit partiel (haploinsuffisance) de la protéine DMPK, et également un déficit d'un facteur de transcription (codé par le gène adjacent six5/DMAHP), la répétition CTG étant localisée juste en amont du promoteur de ce gène. Toutefois, les travaux récents des laboratoires de Cooper et Thornton, sur des modèles cellulaires et de souris transgéniques, ont démontré que la pathologie s'explique par un « gain de fonction » de l'ARN muté, qui entraîne une perturbation de l'équilibre entre deux facteurs d'épissage et perturbe des mécanismes d'épissage alternatif. Ces deux facteurs sont une CUG-binding protein (CUG BP) dont l'expression est augmentée, et le facteur muscleblind, retrouvé au niveau des foci nucléaires, dont l'activité est diminuée (Ho *et al.*, 2004). Des perturbations d'épissage ont été mises en évidence pour plusieurs gènes, dont ceux du récepteur insuline et d'un canal chlore (CIC1), pouvant expliquer deux phénotypes importants de la maladie, la résistance à l'insuline, et surtout la myotonie (des mutations conventionnelles dans le gène CIC1 étant responsables de myotonie congénitale) (Savkur *et al.*, 2001, Charlet *et al.*, 2002). Le phénomène de toxicité d'ARN avec expansion semble également impliqué dans la forme variante de myotonie dystrophique (locus DM2) due à une expansion intronique d'une répétition tétranucléotidique (CCTG), et surtout dans le phénotype tardif d'ataxie-tremblement lié à la prémutation du gène FMR1, retrouvé dans les familles avec syndrome X fragile (Fragile X associated tremor ataxia syndrome, ou FXTAS).

La dystrophie musculaire oculo-pharyngée (OPMD), caractérisée par la présence d'inclusions nucléaires décrites par F. Tomé et M. Fardeau en 1980, est une maladie de transmission également dominante (à de très rares exceptions près). Elle est due à un allongement limité d'une séquence codant pour une série de polyalanines dans la protéine PABP2 (polyA binding protein, impliquée dans la maturation des ARN) (Brais *et al.*, 1998). L'allèle normal comporte 10 alanines, les allèles mutés de 12 à 17, un allèle avec 11 alanines se comportant comme un allèle récessif, ou modificateur de l'expression phénotypique en trans d'un allèle plus long. Il s'agit d'une mutation stable, particulièrement fréquente dans la population québécoise. L'allongement de cette séquence polyalanine confère des propriétés toxiques à la protéine, qui s'agrège et forme des inclusions nucléaires dans les muscles. Toute une série d'autres maladies sont également dues à des expansions stables de séquences polyalanine, et dans la plupart des cas le mécanisme pathologique semble être une perte de fonction, ou même un

effet dominant négatif, par « trapping » des protéines codées par l'allèle normal (Brown et Brown, 2004).

La mutation responsable de la dystrophie facio-scapulo-humérale, identifiée en 1992, est une rétraction d'une répétition subtélomérique d'une séquence de 3,3 kilobases (D4Z4). Son mécanisme d'action est resté longtemps un mystère, qui n'est que très partiellement levé. Les travaux de Gabellini *et al.* (2002) suggèrent que cette séquence D4Z4 peut se lier à un complexe de répression transcriptionnelle, et que la rétraction perturbe à distance, en cis, l'expression de gènes présents dans la région 4q35. Des résultats récents sont en accord avec ce mécanisme (Laoudj-Chenivresse *et al.*, 2004 ; Rijkers *et al.*, 2004).

Un cours a été consacré à l'amyotrophie spinale, une des maladies neuromusculaires les plus fréquentes. L'équipe de Judith Melki et Arnold Munnich avait montré en 1995 que la maladie était due à des mutations du gène SMN1. Ce gène est présent au sein d'une région dupliquée, et il existe donc à proximité sur ce chromosome, un gène quasi-identique (à quelques bases près), le gène SMN2. Le gène SMN1 code pour une protéine impliquée dans l'assemblage du spliceosome (travaux de G. Dreyfuss). Le gène SMN2 codant en principe pour une protéine identique, est très peu efficace, car l'une des différences avec le gène SMN1 affecte l'épissage de l'exon 7 du gène, entraînant majoritairement la production d'un ARN messager anormal. Les délétions ou duplications du gène SMN2 sont assez fréquentes dans la population, et il a été montré que le nombre de copies du gène SMN2 agit comme modificateur de la sévérité de la maladie. Les travaux récents, dont ceux de J. Melki, ont établi des modèles de la maladie chez la souris (qui ne possède qu'un gène SMN), soit par inactivation conditionnelle (l'inactivation totale étant embryoniquement létale à l'état homozygote), soit en compensant partiellement l'inactivation du gène SMN murin par transgénèse du gène hypomorphe SMN2 humain. Ces modèles sont utiles pour tester des approches thérapeutiques (thérapie pharmacologique, génique ou cellulaire) (Vrbova et Melki, 2003, Lesbordes *et al.*, 2003). Le gène SMN2 constitue une cible thérapeutique, car il est une source pour la production de protéine smn. Des travaux récents ont montré que l'on pouvait dans des systèmes cellulaires, activer l'expression de protéine smn normale par le gène SMN2, soit en surexprimant certains facteurs d'épissage, soit par des molécules agissant sur le remodelage de la chromatine, le phénylbutyrate, et surtout le valproate (Brichta *et al.*, 2003). Cette dernière molécule, utilisée depuis longtemps en thérapeutique antiépileptique, est un inhibiteur d'histone déacétylases.

Le dernier cours a été consacré à la myopathie myotubulaire liée au X, et à la caractérisation, suite à l'identification du gène impliqué (MTM1), d'une nouvelle famille de phosphoinositides phosphatases, comportant 14 gènes chez l'homme, la famille des myotubularines (Laporte *et al.*, 2003, cf. également les rapports de la chaire de génétique humaine 2003-2004 et ci-dessous). Cette famille se caractérise par la présence de membres possédant l'activité catalytique sur les substrats PI3P et PI3,5P2, et d'autres correspondent à des phosphatases inactives

(ou pseudophosphatases), très conservées dans l'évolution, car déjà représentées dans le nématode *C. elegans* et dans la drosophile. Des mutations dans deux membres de cette famille (une phosphatase active et une pseudophosphatase) ont été récemment retrouvées dans deux formes récessives dysmyélinisantes de neuropathie de Charcot-Marie-Tooth. Ceci illustre comment l'étude d'une maladie rare permet d'aborder des problèmes de génomique fonctionnelle. Il reste à comprendre le rôle musculaire spécifique du gène *MTM1*, dont l'inactivation chez la souris entraîne une myopathie très semblable à la maladie humaine.

Autres enseignements

Deux cours ont été donnés à la Faculté de Psychologie et des Sciences de l'éducation de Strasbourg, sur le thème « Maladies génétiques et troubles cognitifs », au cours desquels ont été présentés des syndromes particulièrement importants (syndromes X fragile, Prader-Willi, Williams et délétion 22q11) et les troubles cognitifs associés, et où ont été discutés les conséquences du diagnostic génétique pour l'enfant et pour sa famille (prise en charge éducative et médicale, conseil génétique et diagnostic prénatal). Cette discussion fut poursuivie sous forme de table ronde qui a réuni des parents représentants d'associations de familles concernées et des professionnels de la prise en charge.

Des cours et conférences portant sur les approches génétiques des maladies multifactorielles ou sur la génétique moléculaire des maladies monogéniques ont été donnés à Strasbourg (DEA de biologie cellulaire et moléculaire (4 h), certificats de Maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales (8 h), École supérieure de Biotechnologie (4 h).

Colloque Génétique et handicap mental (6 et 7 juin 2005)

Un très important congrès international de Myologie s'étant déroulé à Nantes juste après la série de cours portant sur les maladies musculaires, il a paru plus judicieux de consacrer le colloque 2005 de la Chaire de Génétique Humaine au thème de génétique du retard mental, abordé dans mes cours en 2004. Ce colloque a été co-organisé avec le Prof. Jamel Chelly (Institut Cochin/UMR8104/INSERM U567 et Faculté de Médecine Cochin-Port Royal), avec la participation du Prof. Anne Fagot-Largeault, et le soutien de la Fondation Hugot et de la Fondation Jérôme Lejeune.

Le retard mental est la cause la plus fréquente de handicap sévère chez l'enfant et le jeune adulte. Les étiologies en sont extrêmement hétérogènes : elles comprennent des facteurs non génétiques (infectieux, toxiques, anoxie périnatale...), mais les mutations géniques et les anomalies chromosomiques sont responsables d'une fraction importante des retards mentaux. Le colloque « Génétique et handicap mental » s'est proposé d'analyser divers aspects de ce problème, depuis les progrès les plus récents de la recherche génétique jusqu'aux aspects

éthiques et de prise en charge médicale, éducative et sociale liés au diagnostic génétique de handicap mental, avec la participation de conférenciers français et européens.

Le lundi 6 juin a été consacré aux retards mentaux liés au chromosome X (XLMR), qui expliquent, au moins en partie, l'excès de patients masculins dans les institutions spécialisées dans le handicap mental. Les présentations ont concerné essentiellement les aspects de génétique moléculaire, les corrélations genotype-phénotype et les études fonctionnelles des protéines impliquées : approches générales du retard mental lié au X (rappel historique et épidémiologique par J.L. Mandel, les stratégies actuelles d'identification des gènes impliqués par H. Ropers) ; syndrome X fragile, mécanismes pathologiques et fonction de la protéine FMRP (S. Jacquemont, B. Oostra, B. Bardoni) ; études fonctionnelles de divers gènes associés à des formes d'XLMR (oligophrénine par P. Billuart ; kinase PAK3 par D. Muller ; gène ATRX codant pour une protéine impliquée dans le remodelage de la chromatine par R. Gibbons ; doublecortine et lissencéphalie, par F. Francis). Le syndrome de Rett, qui touche spécifiquement les filles a été abordé par T. Bienvenu et F. Laccone (ce dernier a présenté une approche thérapeutique par ciblage de la protéine MECP2), et les progrès récents dans l'identification de mutations responsables de formes rares d'autisme ont été présentés par T. Bourgeron (mutations dans les gènes codant pour des neurologines ou pour une protéine qui leur est associée). Ces diverses études combinent des approches de biologie cellulaire et l'analyse de mutants de souris.

Le 2^e jour a élargi la thématique sur des aspects d'études intégrées : imagerie cérébrale et autisme (M. Zilbovicius), étude de mécanismes cognitifs dans la drosophile (T. Preat), prospectives du réséquençage pour l'identification de mutations dans des pathologies génétiquement très hétérogènes (J. Weissenbach), approches de prise en charge médicale (E. Smeets et M. Borghgraef).

L'après-midi du 7, coorganisée avec le Prof. Anne Fagot-Largeault (chaire de Philosophie des Sciences Biologiques et Médicales du Collège de France) a été consacrée aux aspects éthiques du diagnostic génétique de handicap mental (avec un rappel historique des dérives eugénistes par M. Morange), et à ses conséquences sur la prise en charge médicale et éducative, et sur l'insertion sociale. Patrick Gohet, délégué interministériel aux personnes handicapées a présenté la nouvelle loi sur le handicap et ses implications pour les personnes avec déficience mentale. Une table ronde a ensuite réuni des professionnels, cliniciens, formateurs, éducateurs (V. Desportes, E. Touaty, C. Mircher, M. Lievin) et des représentants d'associations de familles (C. Nourissier, Association Prader-Willi ; X. Viollet, Association Nationale X fragile).

Une dizaine de communications par affiches et trois communications sélectionnées pour présentation orale ont permis d'élargir la diversité des pathologies et des approches abordées, et de faire activement participer les jeunes chercheurs

et cliniciens concernés par ces thèmes (le programme détaillé et les résumés des conférences et communications sont disponibles sur le site web du Collège de France).

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 J.L. 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) Adrénoleucodystrophie et fonction des transporteurs peroxisomaux ABCD1 (ALDP) et ABCD2 (ALDRP).

4) Maladies neurodégénératives liées à des expansions de polyglutamine (maladie de Huntington, ataxie spinocérébelleuse SCA7).

5) 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. A. 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. S. du Manoir et son équipe développent des stratégies d'étude des réarrangements chromosomiques (amplifications, délétions) associées à des tumeurs solides, dans le but notamment d'identifier des oncogènes associés à la progression tumorale.

1) Syndrome de retard mental avec chromosome X fragile et fonction de la protéine FMRP (avec B. Bardoni, M. Castets).

Ce syndrome, la forme la plus fréquente de retard mental monogénique, est caractérisé par une mutation instable, 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 (cf. Khandjian *et al.*, 2004), 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, 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). 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 (en étroite collaboration avec le Dr. A. Giangrande, IGBMC), a montré l'existence d'une voie Rac1-CYFIP-FMRP, avec des relations antagonistes Rac1-dCYFIP et dCYFIP-dFMRP (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).

Nous avons mis au point un système cellulaire d'étude de l'action de FMRP, en partant de fibroblastes de souris déficientes en FMRP, et en construisant des clones exprimant de manière stable la protéine FMRP normale ou portant des mutations affectant des domaines de liaison à l'ARN (domaines KH1 et KH2). Nous avons montré que le remodelage du cytosquelette d'actine est altéré de manière transitoire dans les cellules déficientes en FMRP, suite à la stimulation de la voie Rac1 par le PDGF. Une étude protéomique préliminaire a identifié une sous-unité de la phosphatase PP2A comme augmentée dans les cellules sans FMRP, et nous avons montré que ceci est corrélé avec une diminution du taux de phospho-cofiline, un substrat de PP2A. Nous avons montré, avec H. Moine, que FMRP se lie avec haute affinité à la région 5'UTR du messenger PP2Ac, qui contient des structures en G-quartet. Ceci suggère que PP2A est une cible de FMRP, qui pourrait participer à son rôle dans la régulation du remodelage du cytosquelette d'actine (l'équilibre entre cofiline et phospho-cofiline jouant un rôle important dans cette régulation) (Castets *et al.*, 2005).

Nous avons conclu une étude collaborative sur l'efficacité du diagnostic du syndrome X fragile en France, utilisant notamment comme paramètre l'âge au moment du diagnostic (Biancalana *et al.*, 2004), et étudié (en collaboration avec A. Brice et A. Durr) la présence de prémutations de FMRP chez des patients

avec MSA (multiple system atrophy), maladie neurodégénérative ressemblant au syndrome FXTAS, ou avec ataxie cérébelleuse. Nos données indiquent que la présence de prémutation du gène FMR1 est très rare chez les patients avec MSA (Biancalana *et al.*, 2005).

Nous avons réanalysé les données publiées sur la fréquence de mutations de gènes associés à un retard mental lié au chromosome X, notamment pour les mutations du gène ARX, et proposé que le paradoxe entre la fréquence importante des mutations d'ARX dans les cas familiaux, et sa rareté dans les cas sporadiques remet en cause les estimations d'une prévalence de 25 % des formes monogéniques de retard mental lié au X, chez des garçons avec retard mental « non-syndromique » (Mandel et Chelly, 2004, Mandel 2004).

Le Dr. Barbara Bardoni, qui a joué un rôle prédominant dans les recherches sur FMRP dans le laboratoire depuis 1998, a bénéficié d'un contrat ATIP du CNRS pour poursuivre ses recherches à Nice, à partir de décembre 2004.

2) Myopathie myotubulaire et analyse fonctionnelle d'une nouvelle famille de phosphoinositides phosphatases : les myotubularines (avec J. Laporte, 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 (PI3P et PI3,5P2) et impliquée dans la production de PI5P (Tronchère *et al.*, 2004). Des analyses fonctionnelles de la myotubularine indiquent un rôle dans les mécanismes d'endocytose, et le PI3P 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 pseudophosphatases) 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 utilisant la puissance des approches génétiques dans le nématode *c. elegans*, qui présente également l'avantage que chacune des 6 sous-familles n'y est représentée que par un seul gène. Nous étudions

également dans ce modèle des mutants d'une phosphoinositide kinase (PIP5 kinase) qui produit l'un des substrats des myotubularines.

Au cours de l'année écoulée, nous avons poursuivi l'étude du modèle souris (inactivation du gène *MTM1*), et notamment l'étude du transcriptome musculaire (en collaboration avec A. Beggs, Harvard), et initié une approche de thérapie génique à l'aide de vecteur AAV (en collaboration avec le Généthon, Evry). Cette approche 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.

J. Laporte a 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, complémentée dans les familles consanguines, par cartographie d'homozygotie.

L'étude d'un patient porteur de délétion du gène *MTM1* affectant également le gène homologue adjacent (*MTMR1*) a montré que la délétion de ce dernier ne s'accompagnait pas de phénotype supplémentaire évident au cours des premières années de vie (Zanoteli *et al.*, 2005)

3) Adréno-leucodystrophie et fonction des transporteurs peroxisomaux ABCD1 (avec A. Pujol).

L'adréno-leucodystrophie (ALD) est une maladie démyélinisante liée au X qui est la plus fréquente des maladies du peroxisome. Elle se caractérise par une étonnante variabilité phénotypique, au sein de la même famille, de la forme cérébrale de l'enfant, la plus sévère, à une forme de neuropathie progressive de l'adulte (adrénomyélo-neuropathie ou AMN) avec insuffisance surrénalienne, cette dernière manifestation pouvant même être présente de manière isolée. La maladie se caractérise par un déficit du catabolisme d'acides gras à très longue chaîne (VLCFAs), qui se retrouvent à des concentrations anormalement élevées dans les tissus et le sérum. Le gène, identifié en 1993, code pour un transporteur peroxisomal de la famille ABC (ATP binding cassette) (gène *ALD* ou *ABCD1*, codant pour l'ALDP). Nous avons utilisé des modèles souris pour analyser la fonction du gène *ABCD1* et de son proche homologue *ABCD2* (*ALDR*) et les mécanismes pathologiques de la maladie. Après avoir montré que les souris invalidées pour le gène *ABCD1* présentaient un phénotype très tardif ressemblant à l'adrénomyélo-neuropathie (sans les lésions typiques de la forme cérébrale), nous avons montré qu'un double KO *ALD/ALDR* manifestait un phénotype neurologique plus sévère et plus précoce, et que la surexpression par transgénèse de *ALDR* était susceptible de corriger le phénotype neurologique, histopatho-

logique et biochimique lié à l'invalidation du gène ALD (Pujol *et al.*, 2004). Ceci confirme des études antérieures sur des cellules déficientes en ALDP et valide ce gène comme cible thérapeutique. L'inactivation du gène ALDR/ABCD2 dans la souris entraîne une ataxie à début tardif avec des manifestations dégénératives au niveau de la moelle épinière et des cellules de Purkinje (Ferrer *et al.*, sous presse). Ce gène est donc candidat pour être impliqué dans des paraplégies ou ataxies chez l'homme. Nous avons identifié une molécule, déjà utilisée en thérapeutique antiépileptique, qui stimule fortement l'expression du gène ALDR dans des systèmes de culture de cellules ou de tissus.

Le Dr. Aurora Pujol, qui menait ces études à l'IGBMC, ayant été nommée professeur de recherche à Barcelone (Centre de Recherche en Génétique Médicale et Moléculaire IRO/IDIBELL), ce projet a été arrêté à l'IGBMC en janvier 2005, et se poursuit sous sa direction à Barcelone.

4) Maladies neurodégénératives liées à des expansions de polyglutamine (maladie de Huntington, ataxie spinocérébelleuse SCA7) (avec D. Devys, D. Helmlinger, F. Klein, K. Merienne, Y. Trotter).

La maladie de Huntington et 8 autres maladies neurodégénératives sont dues à une expansion de répétition CAG codant pour une suite de polyglutamines dans des protéines cibles spécifiques de chaque maladie. Cette expansion entraîne un gain de propriété toxique, qui augmente avec la longueur de la chaîne polyglutamine, et qui est responsable du dysfonctionnement, puis de la mort de neurones, avec une spécificité d'atteinte neuronale qui diffère selon la maladie. Nous étudions différents aspects de ces pathologies depuis 1994. Nous nous sommes intéressés à la protéolyse de la huntingtine (une très grande protéine, cible de l'expansion dans la maladie de Huntington) qui génère des fragments N-terminaux à toxicité accrue contenant la chaîne de polyglutamine et qui s'accumulent sous formes d'inclusions dans le noyau (Lunkes *et al.*, 2002, Regulier *et al.*, 2003). Nous avons montré antérieurement qu'une activité aspartyl-protéase générerait ces fragments dans un système de culture cellulaire, et avons entrepris d'identifier cette protéase et les sites de clivage. Nos résultats récents indiquent que la cathepsine D est impliquée, mais pas de manière exclusive (Ben-Haiem *et al.*, en préparation). Nous avons collaboré avec l'équipe d'A. Bertolotti (ENS Paris) dans une étude qui a montré que l'agrégation de protéines avec expansion de polyglutamine qui est manifeste dans le noyau ou le cytoplasme, est abolie lorsque les protéines mutées sont ciblées vers le reticulum endoplasmique ou la mitochondrie, suggérant la présence dans divers compartiments cellulaires de cofacteurs favorisant ou inhibant l'agrégation (Rousseau *et al.*, 2004).

L'ataxie spinocérébelleuse de type 7 (SCA7) est la seule des maladies à expansion de polyglutamine entraînant une dégénérescence rétinienne se manifestant cliniquement. En collaboration avec L. Tora, nous avons élucidé en 2004 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 sur-expression dans les photorécepteurs de la rétine, qui génère une pathologie très similaire à celle retrouvée chez les patients. Cette surexpression entraîne une dysrégulation transcriptionnelle, et une forte diminution de l'expression de gènes spécifiques des photorécepteurs. Ceci est corrélé de manière très inattendue à 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.*, soumis). 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 polyglutamines mutées dans les photorécepteurs. Nous avons montré antérieurement une pathologie des photorécepteurs dans un autre modèle souris très étudié de pathologie à polyglutamine (souris R6, Helmlinger *et al.*, 2002). Nous avons effectué une étude de transcriptome sur les rétines des souris SCA7 et R6, qui indique que l'expansion de polyglutamines affecte de manière indépendante du contexte protéique l'expression de gènes spécifiques des photorécepteurs, entraînant une perte de l'état de différenciation de ces cellules (Abou-Sleymane *et al.*, en préparation). La surexpression de protéines chaperones (Hsp70 et Hsp40), dont plusieurs laboratoires avaient montré qu'elle est susceptible de diminuer la toxicité des expansions de polyglutamines dans des modèles cellulaires ou de drosophile, ne module pas le phénotype rétinien ou la présence d'inclusions nucléaires dans le modèle de souris SCA7 (Helmlinger *et al.*, 2004). Nous avons montré que dans ce modèle souris, c'est un fragment N-terminal d'ataxine 7 mutée qui s'accumule dans le noyau, alors que dans le modèle moins physiologique de cellules transfectées, les inclusions contiennent la protéine entière. 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 kinase et facteur de transcription AP1) qui est activée par la présence d'expansions de polyglutamine dans des modèles cellulaires ou de souris transgéniques (Merienne *et al.*, 2003), en particulier par des croisements avec des souris exprimant une forme inactive de cJun. Les résultats suggèrent que l'activation d'AP1 contribue à la dysfonction des photorécepteurs plus qu'à leur mort.

Nous avons entrepris une étude des propriétés des polyglutamines *in vitro*, et notamment de leur interaction spécifique avec l'anticorps 1C2, qui inhibe leur agrégation. Ces études nous ont permis de suivre par RMN le processus d'agrégation (collaboration avec A. Pastore, Londres) et ont pour but d'analyser la structure cristallographique de polyglutamines complexées avec le fragment Fab de l'anticorps 1C2, ou avec des protéines interagissant avec les polyglutamines et potentiellement impliquées dans les mécanismes pathologiques.

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

Le syndrome de Bardet-Biedl, qui associe rétinite pigmentaire, obésité, polydactylie, anomalies rénales et atteinte cognitive, est particulièrement complexe au plan génétique, 8 gènes ayant été identifiés depuis 2000, dont les mutations ne rendent compte que de 50 % des patients. Les protéines correspondantes sont impliquées dans l'assemblage ou la fonction de structures ciliées. Nous participons à une étude de corrélation génotype-phénotype, visant également à tester l'hypothèse de transmission triallélique dans certaines familles (Hichri *et al.*, 2005), et à identifier de nouveaux gènes.

Ataxies de Friedreich et ataxies récessives

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

Des souris avec inactivation conditionnelle spatio-temporelle (système Cre-Lox) du gène de la frataxine ont été créées et caractérisées. Deux de ces modèles présentent une ataxie progressive, avec des anomalies histologiques de la moëlle épinière caractéristiques de la pathologie humaine. Un modèle reproduisant la pathologie cardiaque est utilisé pour analyser les mécanismes physiopathologiques, montrant un déficit initial des protéines à complexe Fer-Soufre, précédant la pathologie cardiaque, l'accumulation de fer intramitochondrial ne survenant qu'au stade final de l'évolution. L'analyse de ces modèles a montré que, contrairement à ce qui était généralement admis, la déficience en frataxine n'induit pas de stress oxydatif et n'altère pas l'expression de la Mn superoxyde dismutase (Seznec *et al.*, 2005). Nos résultats ont permis de conclure que la frataxine mitochondriale est également nécessaire pour la biosynthèse des noyaux Fe-S cytosoliques. Ces souris sont actuellement utilisées pour des essais thérapeutiques précliniques. Un modèle cellulaire est développé, qui doit permettre un criblage à haut débit de molécules susceptibles de compenser les effets de la déficience en frataxine. Le Prix 2005 de Pathologie Pédiatrique a été décerné au Dr. Hélène Puccio pour ses travaux dans ce domaine.

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). 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 ainsi identifié 3 familles d'Arabie saoudite présentant une mutation homozygote faux-sens du gène MRE11, codant pour une protéine impliquée dans la reconnaissance de coupures ADN double brin, en association avec les protéines Rad50 et Nbs1, permettant une analyse fonctionnelle sur les fibroblastes de patients (Fernet *et al.*, 2005). Des analyses

de corrélation génotype/phénotype ont été poursuivies en collaboration avec des cliniciens, pour les formes d'ataxie récessive AOA1 (Amouri *et al.*, 2004, Ochsner *et al.*, 2005), et pour la neuropathie à axone géant (gène GAN identifié par l'équipe en 2000) (Demir *et al.*, 2005). Nous avons participé à une étude collaborative de corrélations génotype/phénotype pour le syndrome de Joubert (affectant notamment le développement du cervelet, et avec des manifestations rénales inconstantes), pour lequel 3 loci ont été identifiés, démontrant des différences cliniques et radiologiques en fonction du gène affecté, seul le locus JTBS2 étant associé aux anomalies rénales (Valente *et al.*, 2005).

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, ainsi qu'une déficience de l'activité du facteur de transcription CREB dans les neurones de l'hippocampe (collaboration avec Serge Laroche, Orsay). 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 cytotatique (CSF), n'est pas dépendant des kinases RSK (Dumont *et al.*, 2005).

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 vient ainsi d'être identifié (Hagens *et al.*, Human Genetics sous presse).

Réarrangements 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. 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. Cette région contient le gène d'un microARN dont le potentiel oncogénique est exploré (Hussenet *et al.*, en préparation).

LISTE DES PUBLICATIONS DU GROUPE DE GÉNÉTIQUE HUMAINE DE L'IGBMC
(depuis juillet 2004)

Amouri R., Moreira M.C., Zouari M., El Euch G., Barhoumi C., Kefi M., Belal S., Koenig M. and Hentati F. Aprataxin gene mutations in Tunisian families. *Neurology* (2004) 63 : 928-929.

Biancalana V., Beldjord C., Taillandier A., Szpiro-Tapia S., Cusin V., Gerson F., Philippe C., Mandel J.L. and the French National Working group on Fragile X syndrome. Five years of molecular diagnosis of Fragile X syndrome (1997-2001) : A collaborative study reporting 95 % of the activity in France. *Am. J. Med. Genet.* (2004) 129A : 218-224.

Clements P.M., Breslin C., Deeks E.D., Byrd P.J., Ju L., Bieganowski P., Brenner C., Moreira M.C., Taylor A.M.R., Caldecott K.W. The ataxia-oculomotor apraxia 1 gene product has a role distinct from ATM and interacts with the DNA strand break repair proteins XRCC1 and XRCC4. *DNA Repair* (2004) 3 : 1493-1502.

Goti D., Katzen S.M., Mez J., Kurtis N., Kiluk J., Ben-Haiem L., Jenkins N.A., Copeland N.G., Kakizuka A., Sharp A.H., Ross C.A., Mouton P.R., Colomer V. A mutant ataxin-3 putative-cleavage fragment in brains of Machado-Joseph disease patients and transgenic mice is cytotoxic above a critical concentration. *J. Neurosci.*, 2004 Nov 10 ; 24 (45) : 10266-79.

Guimaraes C.P., Domingues P., Aubourg P., Fouquet F., Pujol A., Jimenez-Sanchez G., Sà-Miranda C., and Azevedo J.E. Mouse liver PMP70 and ALDP : homomeric interactions prevail *in vivo*. *Biochimica et Biophysica Acta* (2004) 1689 : 235-243.

Helmlinger D., Bonnet J., Mandel J.L., Trottier Y. and Devys D. Hsp70 and Hsp40 chaperones do not modulate retinal phenotype in SCA7 mice. *J. Biol. Chem.* selected as JBC paper of the week (2004) 279 : 55969-55977.

Khandjian E.W., Huot M.E., Tremblay S., Davidovic L., Mazroui R., Bardoni B. Biochemical evidence for the association of fragile X mental retardation protein with brain polyribosomal ribonucleoparticles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2004) 101 : 13357-62.

Mandel J.L. and Chelly J. Monogenic X-linked mental retardation : Is it as frequent as currently estimated ? The paradox of the ARX (Aristaless X) mutations. *Eur. J. Hum. Genet.* (2004) 12 : 689-693.

Mandel J.L. Comparative frequency of fragile X (FMR1) and creatine transporter (SLC6A8) mutations in X-linked mental retardation. Letter to the editor. *Am. J. Hum. Genet.* (2004) 75 : 730-731.

Mientjes E.J., Willemsen R., Kirkpatrick L.L., Nieuwenhuizen I.M., Hoogeveen-Westerveld M., Verweij S., Reis S., Bardoni B., Hoogeveen A.T., Oostra B.A. and Nelson D.L. Fxr1 knockout mice show a striated muscle phenotype : implications for Fxr1p function *in vivo*. *Hum. Mol. Genet.* (2004) 13 : 1291-1302.

Orsetti B., Nugoli M., Cervera N., Lasorsa L., Chuchana P., Ursule L., Nguyen C., Redon R., du Manoir S., Rodriguez C., Theillet C. Genomic and expression profiling of chromosome 17 in breast cancer reveals complex patterns of alterations and novel candidate genes. *Cancer Res.* (2004) 64 : 6453-6460.

Pujol A., Ferrer I., Camps C., Metzger E., Hindelang C., Callizot N., Ruiz M., Pàmpol T., Giros M. and Mandel J.L. Functional overlap between ABCD1 (ALD) and ABCD2 (ALDR) transporters : a therapeutic target for X-adrenoleukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* (2004) 13 : 2997-3006.

Rousseau E., Dehay B., Ben-Haiem L., Trottier Y., Morange M. and Bertolotti A. Targeting expression of expanded polyglutamine proteins to the endoplasmic reticulum or mitochondria prevents their aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (2004) 101 : 9648-9653.

Schenck A., Qurashi A., Carrera P., Bardoni B., Diebold C., Schejter E., Mandel J.L. and Giangrande A. WAVE/SCAR, a multifunctional complex coordinating different aspects of neuronal connectivity. *Dev. Biol.* (2004) 274 : 260-270.

Bemelmans A.P., Bonnel S., Houhou L., Dufour N., Nandrot E., Helmlinger D., Sarkis C., Abitbol M., 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 : 1367-74.

Biancalana V., Toft M., Le Ber I., Tison F., Scherrer E., Thibodeau S., Mandel J.L., Brice A., Farrer M.J. and Dürr A. FMR1 premutations associated with Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in multiple system atrophy. *Arch. Neurol.* (2005) 62 : 962-966.

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

Demir E., Bomont P., Erdem S., Cavalier L., Demirci M., Kose G., Muftuoglu S., Cakar A.N., Tan E., Aysun S., Topcu M., Guicheney P., Koenig M. and Topaloglu H. Giant axonal neuropathy : clinical and genetic study in six cases. *J. Neuro. Neurosurgery and Psychiatry* (2005) 76 : 825-832.

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

Fernet M., Gribaa M., Salih M.A.M., 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.

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

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 A.F., 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.

Ochsner F., Le Ber I., Said G., Moreira M.C., Michel P., Koenig M., Durr A., Brice A. and Kuntzer T. Mutation of the aprataxin gene presenting with Charcot-Marie Tooth-like neuropathy and cerebellar ataxia. *Rev. Neurol.* (2005) 161 : 331-336.

Seznec H., Simon D., Bouton C., Reutenauer L., Hertzog A., Golik P., Procaccio V., Patel M., Drapier J.C., Koenig M. and Puccio H. Friedreich ataxia : the oxidative stress paradox. *Hum. Mol. Genet.* (2005) 14 : 463-474.

Valente E.M., Marsh S.E., Castori M., Dixon-Salazar T., Bertini E., Al-Gazali L., Messer J., Barbot C., Woods C.G., Boltshauser E., Al-Tawari A.A., Salpietro C.D., Kayserili H., Sztriha L., Gribaa M., Koenig M., Dallapiccola B. and Gleeson J.G. Distinguishing the four genetic causes of Joubert syndrome-related disorders. *Ann. Neurol.* (2005) 57 : 513-519.

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.

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION PAR JEAN-LOUIS MANDEL
(depuis juillet 2004)

4th Forum of European Neuroscience (FENS) (Lisbonne, Portugal) du 10 au 14 juillet 2004. « The fragile X mental retardation syndrome : from CGG repeats to functional analysis of the FMRP protein » conférencier-lauréat du prix Plasticité Neuronale 2004 de la Fondation IPSEN.

Genetic Mental Disability : from Molecular Biology to Treatment ; Premières Journées Internationales Jerome Lejeune (Paris) les 8 et 9 novembre 2004. « Le syndrome X fragile, 15 ans après ».

Congrès International Myologie 2005 (Nantes) du 09 au 13 juin 2005. « From myotubular myopathy to the myotubularin family of phosphoinositide phosphatases ».

Colloque Génétique et Handicap mental au Collège de France. Paris les 6 et 7 juin 2005. Organisateur du colloque avec le Pr. J. Chelly, conférencier « X linked mental retardation : a historical and epidemiological perspective ».

Jean-Louis Mandel a fait partie du « scientific program committee » pour la 37th European Society of Human Genetics Conference 2005 (ESHG) (Prague) du 07 au 10 juin 2005. Il a également donné plusieurs conférences ou participé à des tables rondes destinées à un public non spécialisé.