

Génétique humaine

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

Enseignement

Une série de 6 cours a été donnée au Collège en novembre et décembre 2006 sur le thème de très grande actualité « Prédispositions génétiques aux maladies communes : stratégies d'étude et exemples ». Les premiers cours ont porté sur les approches « classiques », études de jumeaux, études d'association avec des gènes « candidats » (et le modèle historique des associations avec les polymorphismes de la région HLA), analyses de rares formes monogéniques de maladies communes (maladies d'Alzheimer ou de Parkinson, diabète de type MODY, cancers familiaux du sein ou du colon), et les approches d'analyse de liaison avec des cohortes de petites familles avec plusieurs atteints (méthodes « affected only » et surtout études de cohortes de « sib-pairs »). Les avantages, limitations et difficultés de ces approches ont été discutés, et en particulier les problèmes liés aux études d'association avec gènes candidats basées sur le principe de la recherche d'un déséquilibre de liaison. La prolifération au cours des 15 dernières années de ce type d'études s'accompagnait d'une littérature très abondante et le plus souvent contradictoire, suscitant des méta-analyses concluant à des effets inexistantes ou minimes pour la grande majorité des cas. Quelques succès retentissants (en très petit nombre) avaient pourtant montré l'intérêt d'approches explorant le génome sans hypothèse préalable sur la fonction du gène impliqué dans la pathologie étudiée : le premier fut en 1993 l'identification d'un variant fréquent du gène ApoE comme facteur majeur de prédisposition à la forme commune de maladie d'Alzheimer. Il faut citer aussi la découverte en 2001 du rôle du gène CARD15/NOD2 dans la maladie de Crohn, qui en liait sa pathogénie à des mécanismes d'immunité innée (travaux de Jean-Pierre Hugot). La situation s'est radicalement transformée au cours des dernières années avec les extraordinaires progrès technologiques permettant d'analyser de très nombreux polymorphismes sur de grandes cohortes de familles ou patients, et l'identification systématique de polymorphismes de type SNP et de leurs haplotypes tout au long du génome

(projet international « hapmap »), et enfin avec l'adoption de stratégies plus rigoureuses pour éviter les biais statistiques (et de publication) liés à la multiplication des tests. Une première stratégie consiste à effectuer une analyse de liaison sur des familles de type sib-pairs (ou une méta-analyse de données publiées de ce type) et de passer, pour les régions les plus intéressantes, à une étude d'association en utilisant une grande densité de marqueurs SNPs. Des exemples de succès ont été présentés : gène NOD2 et maladie de Crohn (Hugot *et al.*, 2001) ou les travaux sur la susceptibilité à la lèpre du laboratoire de Laurent Abel, avec l'identification d'une région régulatrice commune à 2 gènes : PARK2 (impliqué dans une forme monogénique de maladie de Parkinson) et PACRG (Mira *et al.*, 2004), et enfin les travaux de B. Weber sur la dégénérescence maculaire liée à l'âge (cause majeure de perte de vision chez les personnes âgées), avec l'identification d'un gène majeur de fonction totalement inconnue (Rivera *et al.*, 2005). Cette dernière pathologie a été étudiée par de nombreux autres laboratoires, permettant l'identification comme autre gène majeur d'un facteur de la cascade du complément (CFH). L'un des 4 articles publiés simultanément rapportait la première application de puces SNP (dans ce cas 100 000 SNPs) à une étude d'association génome entier (WGAS : whole genome association study), étude paraissant pourtant a priori de puissance insuffisante, mais où l'importance de l'effet d'un polymorphisme fréquent du gène a toutefois donné un signal non ambigu (Klein *et al.*, 2005). La disponibilité depuis 2005 de « puces » ou systèmes d'analyse permettant de tester simultanément 300 000 (système Illumina) ou 500 000 SNPs (système Affymetrix) sur un grand nombre de patients et contrôles a permis le développement explosif des études de WGAS (des études importantes ont été publiées en 2007, sur des pathologies très diverses), avec des stratégies de réplification tenant compte des problèmes statistiques liés à la multiplication des tests. Le défi de l'avenir sera d'intégrer cette masse de nouveaux résultats indiquant pour la plupart des cas une multiplicité assez importante de gènes de prédisposition, avec les influences très importantes de l'environnement, et déterminer quels sont les effets éventuellement différentiels sur les caractéristiques et l'histoire naturelle des maladies, et sur les réponses thérapeutiques. Des stratégies d'études prospectives au niveau de populations importantes de patients ou même de la population générale sont mises en place (projets de type « Biobank » développés en Grande-Bretagne, au Japon, ou en Estonie). La complexité des données et de leur combinatoire nécessitera le développement de nouveaux outils statistiques d'analyse face à ce qu'une revue récente appelait « une catastrophe dimensionnelle ». Le problème du rôle de nombreux variants génétiques rares sur la prédisposition aux maladies communes n'est pas abordé par les études de type WGAS, et quelques études (par exemple... Cohen *et al.*, Science 2004, 305 : 869) suggèrent que cet effet pourrait être très important, nécessitant des stratégies également très lourdes et coûteuses de type reséquençage systématique de nombreux gènes.

Le problème de l'application des résultats obtenus a été discuté. Ils permettent sans nul doute d'aborder de manière entièrement renouvelée les mécanismes

physiopathologiques des maladies étudiées, révélant des gènes totalement inattendus, ou de fonction inconnue. Mais, dans la plupart des cas, les effets sur le risque individuel (en terme d'odds ratio) sont faibles (l'augmentation du risque n'est souvent que de 20 ou 30 %), à l'exception des deux gènes majeurs de prédisposition à la dégénérescence maculaire liée à l'âge, où la présence de 3 ou 4 allèles de prédisposition multiplie le risque de 15 à 50 fois par rapport à une personne ne portant aucun des allèles à risque (Rivera *et al.*, 2005). Mais même dans ce cas, l'aspect prédictif sera difficile à utiliser et aura un effet limité (car 2 tiers des cas surviennent chez des personnes avec un risque génétique moindre), à moins que des travaux ultérieurs ne permettent de trouver des stratégies préventives ou thérapeutiques justifiant l'utilisation préalable des tests génétiques (stratégie de « médecine personnalisée »). D'autre part, le risque d'utilisation incontrôlée de tels tests soulève d'évidents problèmes éthiques (il existe déjà des offres sur internet dans ce sens). Cette difficulté de passer de la connaissance des gènes de prédisposition à des stratégies de prises en charge préventives ou personnalisées est illustrée par les exemples de la maladie de Crohn, ou des thrombophilies (effets de variants fréquents des gènes des facteurs II et V de coagulation). En opposition à des approches de médecine prédictive ou personnalisée basée sur les connaissances génétiques, certains épidémiologistes proposent d'ailleurs de manière assez provocatrice des stratégies de thérapeutique préventive au niveau de la population (la « polypill », cf. Wald and Law, *BMJ* 2003, 326 : 1419).

Cette thématique des maladies multifactorielles a été reprise dans des cours et conférences donnés à Strasbourg (Université Louis Pasteur et IGBMC).

Un colloque intitulé « les maladies monogéniques sont-elles oligogéniques ? » a été organisé dans le cadre des enseignements de la chaire, les 2 et 3 avril 2007 à l'amphithéâtre Guillaume Budé, avec l'aide pour l'établissement du programme scientifique, des Profs. Michel Goossens (Paris XII, Inserm U654) et Stanislas Lyonnet (Paris V, Inserm U781). Ce colloque a fait également partie de l'enseignement national pour les internes de la spécialité de génétique médicale. La conférence d'introduction a été donnée par Sir David Weatherall, l'un des fondateurs de la génétique moléculaire des maladies monogéniques, avec ses travaux désormais classiques sur les hémoglobinopathies et notamment les thalassémies. En effet, les travaux du Prof. Weatherall ont montré que ces maladies ont en fait un déterminisme plus complexe que la simple notion de maladies monogéniques pourrait le laisser penser, avec des effets génétiques et environnementaux agissant comme modificateurs importants du phénotype. Les 15 conférences suivantes ont porté sur les problèmes généraux d'analyse de gènes modificateurs (F. Clerget-Darpoux, Villejuif), et sur des exemples de recherche et d'analyse de gènes ou polymorphismes modificateurs de maladies monogéniques en cis (dans le gène responsable de la maladie) ou en trans (dans un autre gène), sur différentes pathologies : L. Gouya (Paris), sur une forme de porphyrie ; S. Lyonnet (Paris) pour la maladie de Hirschprung, J. Davies (Londres) pour la mucovis-

cidose, T. Frebourg (Rouen) pour des cancers familiaux, P. Aubourg (Paris) pour l'adrénoleucodystrophie, un exemple extrême de variabilité phénotypique, J. Melki (Évry) pour l'amyotrophie spinale. L'utilisation de modèles souris pour analyser l'interaction de deux gènes a été décrite par N. Bondurand (Créteil). La complexité de certaines pathologies impliquant de nombreux gènes agissant sur une même voie biologique, avec dans certains cas des interactions oligogéniques avérées ou proposées, a été illustrée par C. Ferec (Brest, pancréatites chroniques), G. Le Gac (Brest, hémochromatose), H. Dollfus (Strasbourg, syndrome de Bardet-Biedl et hypothèse de triallélisme). La découverte récente de la fréquence étonnante de polymorphismes de nombre de copies de segments du génome ajoute un nouveau niveau de complexité pour l'analyse génétique, tel que l'a présenté R. Redon (Sanger center, Cambridge) et illustré par C. Ferec pour le cas des pancréatites chroniques, et par D. Champion (Rouen) pour les délétions hétérozygotes de la région chromosomique 22q11 comme facteurs de risque de troubles cognitifs et psychotiques. Les délétions ou duplications de segments de génome jouent certainement un rôle important dans la genèse de l'autisme, une pathologie cliniquement et génétiquement complexe qui faisait l'objet de la dernière conférence par T. Bourgeron (Institut Pasteur, Paris), qui a identifié des gènes impliqués dans des formes monogéniques d'autisme. Les conférences ont été complétées par la discussion de posters présentés par des jeunes chercheurs ou médecins généticiens. Les résumés des présentateurs sont disponibles sur le site web du Collège de France.

Un colloque intitulé « From biology of cilia to cilia-related genetic diseases » a été co-organisé par la chaire de Génétique et physiologie cellulaire (Prof. C. Petit) et par la chaire de Génétique humaine, (amphithéâtre Guillaume Budé) les 3 et 4 mai 2007. Il a bénéficié d'une aide de la fondation Hugot.

Les cils motiles ou les flagelles ainsi que les cils primaires sont des organites cellulaires hautement conservés à travers l'évolution. Ils sont impliqués dans une diversité de fonctions allant de la motilité cellulaire à la réception de signaux sensoriels. Ils sont aussi le siège de plusieurs voies de signalisation cellulaire et jouent un rôle essentiel durant le développement embryonnaire. Les études d'organismes modèles et de pathologies humaines ont profondément bouleversé nos connaissances sur leurs fonctions. Depuis une dizaine d'années, de manière inattendue, leur implication dans un grand nombre de maladies héréditaires a été découverte. Au-delà des dyskinésies ciliaires primitives connues depuis longtemps, le vaste domaine des ciliopathies comprend aujourd'hui des néphropathies, des surdités, des rétinopathies et des syndromes complexes comportant anomalies neurologiques et obésité.

Ce colloque international de très haut niveau a été très stimulant et suivi par un public spécialisé nombreux. Onze conférences ont présenté les aspects fondamentaux, de la biologie cellulaire (M. Bornens, S. Étienne-Manneville, C. Desdouets) aux études d'organismes modèles aussi divers que le trypanosome, la paramécie, le nématode *c.elegans*, la drosophile, le poisson zèbre et la souris

(P. Bastin, F. Koll, O. Blacque, H. Lopez-Schier, Y. Bellaïche, M. Pontoglio, N. Spassky, B. Durand). Six conférences ont porté plus particulièrement sur les maladies génétiques : conférence plénière de G. Germino (Johns Hopkins University) sur les gènes impliqués dans les polykystoses et les modèles dans la souris, avec une convergence inattendue entre un de ces gènes et l'obésité (et notamment les prises de poids induites par certains antipsychotiques !), syndrome de Bardet-Biedl (J. Badano, Montevideo, J.-L. Mandel), les syndromes de Meckel et de Joubert (T. Attie-Bitach, Paris), la néphronoptise (S. Saunier, Paris), et les dyskinesies ciliaires primitives (S. Amselem, Créteil).

Recherche

Le groupe de recherche en génétique humaine fait partie depuis juin 2007 du nouveau département de Neurobiologie et Génétique de l'IGBMC (Institut de Génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104 du CNRS, unité Inserm U596 et Université Louis Pasteur de Strasbourg). 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 (avec Hervé Moine, CR1 CNRS).

2) Myopathies myotubulaire et centronucléaires et analyse fonctionnelle d'une nouvelle famille de phosphoinositides phosphatases : les myotubularines (équipe codirigée avec Jocelyn Laporte, promu DR2 INSERM en 2007).

3) En collaboration avec le Pr Hélène Dollfus (EA3949, Faculté de Médecine de Strasbourg), nous menons une étude génétique du syndrome de Bardet-Biedl.

Yvon Trottier (DR2 INSERM) dirige depuis 2006 l'équipe qui se consacre aux mécanismes pathogéniques des maladies neurodégénératives causées par des expansions de polyglutamine, dont la maladie de Huntington et l'ataxie spinocérébelleuse de type 7.

L'équipe co-dirigée par Michel Koenig (PU-PH) et Hélène Puccio (CR1 INSERM) s'intéresse aux mécanismes physiopathologiques de l'ataxie de Friedreich et à l'identification de gènes impliqués dans d'autres formes d'ataxies récessives.

L'équipe d'André Hanauer (MCU) 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.

Stan du Manoir (CR1 INSERM) 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 (thème codirigé 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 (article soumis). Des études d'autres ARN messagers constituant des cibles potentielles de FMRP sont également poursuivies (cf. rapport 2005, Castets *et al.*, 2005) en collaboration avec B. Bardoni (CNRS, Nice). En particulier, l'un de ces ARN messagers présente un site de liaison à FMRP ne correspondant pas à une structure en « G-quartet » (résultats non publiés).

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. 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) proposé par plusieurs laboratoires comme un partenaire de FMRP, et à l'étude dynamique des interactions CYFIP-FMRP. Nous avons ainsi montré que FMRP n'est pas nécessaire à l'activité RISC et FMRP n'a pas les mêmes caractéristiques d'association aux polysomes que le complexe RISC ce qui suggère fortement l'implication de FMRP et RISC dans des voies distinctes. Nos résultats indiquent également une implication de

FMRP dans la genèse des granules de stress contenant des ARN messagers, dans certains types cellulaires.

Nous poursuivons des travaux visant à faciliter le diagnostic moléculaire de certains retards mentaux liés à l'X, et avons mis au point un test permettant le criblage rapide de patients pour le syndrome X fragile, pour le retard mental lié à un autre site fragile (FRAXE) et par la détection de mutations récurrentes dans les gènes ARX et PQQB1 (Biancalana *et al.*, en préparation).

2) Myopathies myotubulaire et centronucléaires et analyse fonctionnelle de la voie des myotubularines (équipe codirigée par J. Laporte et J.-L. Mandel, avec A. Buj-Bello).

Les myopathies centronucléaires (CNM) regroupent des myopathies rares caractérisées par une grande proportion de fibres musculaires à noyaux centraux associée à une atrophie et prédominance des fibres lentes (les noyaux étant normalement périphériques). Les CNM sont usuellement regroupées en trois classes de sévérité décroissante : la forme liée au chromosome X, aussi appelée myopathie myotubulaire (XLCNM), qui se traduit par une hypotonie généralisée et entraîne souvent la mort du patient dans la première année, les formes infantiles autosomiques récessives (ARCNM), et les formes adultes autosomiques dominantes (ADCNM). Nous avons identifié le gène MTM1 impliqué dans la XLCNM (Laporte *et al.*, 1996) et participé à l'identification de mutations dans la GTPase dynamine 2 dans des cas de ADCNM (Bitoun *et al.*, 2005).

En collaboration avec P. Guicheney (Paris), V. Biancalana (Strasbourg) et plusieurs cliniciens, nous avons identifié de nouvelles familles avec des mutations dans la dynamine 2 (non publié). Les résultats obtenus confirment la présence de point chauds de mutations, facilitant le diagnostic moléculaire, mais pointent aussi de nouveaux domaines qui n'avaient pas été retrouvés mutés dans les familles publiées, suggérant que plusieurs fonctions de la dynamine 2 pourraient être affectées dans la forme dominante.

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 (hJUMPY) est une nouvelle phosphatase à phosphoinositides qui partage la même spécificité que la myotubularine, et une altération faux-sens trouvée à l'état hétérozygote diminue fortement l'activité enzymatique (Tosch *et al.*, 2006 ; collaboration avec B. Payraastre). Dans le deuxième gène (amphiphysine 2/BIN1), nous avons trouvé 3 variants à l'état homozygotes dans des familles consanguines, dont

une mutation non sens (Nicot *et al.*, 2007). Les mutations faux-sens diminuent la fonction de tubulation des membranes alors que le codon stop prématuré produit une protéine stable qui ne peut plus interagir avec un interacteur précédemment connu de l'amphiphysine 2, la dynamine 2. Certaines mutations de l'amphiphysine 2 semblent donc détruire le lien avec la dynamine 2 ; ce travail révèle le premier lien moléculaire entre 2 formes des myopathies centronucléaires. En collaboration avec A. Oldfors, nous suggérons aussi qu'une mutation de l'amphiphysine 2 provoque une anomalie des T-tubules et/ou de l'endocytose.

Le gène MTM1 code pour une protéine, la myotubularine, partageant des homologies avec les tyrosine phosphatases, mais contre toute attente nous avons montré en parallèle avec le groupe de J. Dixon, que la myotubularine déphosphoryle des phospholipides, notamment le phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P) et le PtdIns(3,5)P₂, et produit du PtdIns5P (Blondeau *et al.*, 2000, Tronchere *et al.*, 2004). Les phosphoinositides PtdIns3P et PtdIns(3,5)P₂ sont impliqués dans l'endocytose et le trafic des membranes en recrutant des protéines effectrices à des sous-domaines membranaires particuliers et aux endosomes. Le rôle du PtdIns5P n'est pas connu et la myotubularine représente la voie principale pour le synthétiser (Tronchere *et al.*, 2004). Nous avons montré dans *Caenorhabditis elegans*, en collaboration avec M. Labouesse à l'IGBMC, 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).

La myotubularine définit une famille de protéines conservées au cours de l'évolution avec un orthologue dans la levure et 14 membres chez l'Homme (MTM1, MTMR 1 à 13). Nous avons identifié la plupart des myotubularines par approche bioinformatique et nous avons montré une certaine redondance fonctionnelle *in vitro*. Le groupe d'A Monaco a trouvé des mutations du plus proche homologue de MTM1, la protéine MTMR2, dans des cas de neuropathie démyélinisante de Charcot-Marie-Tooth (CMT4B1) (Bolino *et al.*, 2000). Six des myotubularines humaines n'ont pas les résidus essentiels à la catalyse enzymatique mais sont conservées au cours de l'évolution. Elles sont appelées « phosphatases mortes » (dead phosphatases) et forment des hétérodimères avec leurs homologues actifs (collaboration avec C. Mitchell) (Nandurkar *et al.*, 2003). Plusieurs groupes ont suggéré qu'elles représentent de nouveaux régulateurs des phosphoinositides en agissant sur les myotubularines enzymatiquement actives (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). Il est intéressant de noter que la dynamine 2 est aussi mutée dans des formes de neuropathie CMT. Ceci suggère un mécanisme physiopathologique commun entre les myopathies centronucléaires et des neuropathies démyélinisantes.

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. Un criblage double hybride dans la levure a suggéré des interacteurs de la myotubularine que nous essayons de confirmer par des expériences *in vitro* et *in vivo*. L'analyse du transcriptome du muscle de souris déficientes en myotubularine (en collaboration avec A. Beggs, Harvard) a révélé des altérations de gènes impliqués dans l'homéostasie du calcium. Nous avons confirmé certaines de ces altérations au niveau ARN et protéine et mis en évidence 2 gènes dérégulés avant l'apparition de la pathologie musculaire chez la souris.

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, notamment ils montrent une récupération de la force musculaire et un retour à une structure des fibres musculaires proche de la normale. Mais ils indiquent également une toxicité potentielle du vecteur viral qu'il faudra caractériser. 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.

En collaboration avec l'équipe de T. Ogata (Japon), nous avons finalisé l'analyse du gène *Cxorf6*, adjacent du gène *MTM1*, qui est muté dans des cas d'hypospade (Fukami *et al.*, 2007), après avoir exclu l'implication du gène *MTMR1* qui se situe dans la même région (Zanoteli *et al.*, 2005).

3) 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. De 2000 à 2005, 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 d'épidémiologie moléculaire initiée par le Prof. Hélène Dollfus (Faculté de Médecine de Strasbourg), visant notamment à identifier 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) », en collaboration avec

l'équipe de bioinformatique d'Olivier Poch à l'IGBMC nous a permis d'identifier dans les 2 dernières années, deux nouveaux gènes (BBS10 et BBS12) particulièrement importants. Au cours de cette étude, l'analyse d'une grande famille libanaise avec syndrome de Bardet-Biedl dans 5 fratries issues de mariages consanguins a montré de manière inattendue la présence de 3 mutations dans 2 gènes différents, mais pas de triallélisme chez les patients. Nous avons pu expliquer cette observation par l'hétérogénéité génétique non allélique très extensive du syndrome BBS et avons calculé que la fréquence des porteurs sains de mutation BBS était d'environ 1/50, contrastant avec la rareté de cette maladie dans les populations à taux de consanguinité faible (Laurier *et al.*, 2006).

BBS10 est un gène majeur dont les mutations sont retrouvées chez plus de 20 % des patients (en raison notamment d'une mutation récurrente) (Stoetzel *et al.*, 2006), et BBS12 rend compte de 5-6 % des familles. 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*), les gènes BBS10 et BBS12 codent pour des protéines spécifiques des vertébrés et dont la séquence protéique évolue beaucoup plus rapidement que pour les autres gènes BBS (à l'exception du gène BBS6). BBS10 et BBS12 appartiennent, comme BBS6 à la superfamille des chaperonines de type II (Stoetzel *et al.*, 2007). Nous avons montré que ces 3 gènes définissent une branche spécifique des vertébrés au sein de cette superfamille dont les autres membres ont une origine beaucoup plus ancienne (Stoetzel *et al.*, 2007). Les sites de liaison à l'ATP typiques de la superfamille des chaperonines de type II étant mal conservés dans BB6, 10 et 12, il n'est pas certain que les protéines codées aient une activité chaperonine. Le phénotype indistinguable des patients porteurs de mutations dans des gènes BBS différents suggère que les protéines correspondantes pourraient être impliquées dans des complexes macromoléculaires (l'absence de l'un ou l'autre d'entre eux ayant alors le même effet négatif sur la fonction du complexe). Des travaux récents paraissent confirmer une telle hypothèse pour 7 protéines BBS présentes de manière stoechiométrique dans un complexe nommé BBSome (Nachury *et al.*, 2007). Les protéines BBS6, 10 et 12 sont absentes de ce complexe, et on peut donc faire l'hypothèse d'un complexe « chaperonin-like » qui contiendrait ces 3 protéines. Des études sont entreprises dans cette direction, en collaboration également avec l'équipe de D. Moras à l'IGBMC. La création de mutants avec inactivation conditionnelle des gènes BBS10 et 12 chez la souris est en cours, qui devraient notamment permettre de répondre au problème du mécanisme (central ou périphérique) de l'obésité liée aux mutations BBS. La stratégie d'identification de nouveaux gènes BBS se poursuit (il reste environ 25 % de patients ne correspondant à aucun des gènes connus). Les analyses effectuées sur des familles consanguines pour lesquelles le gène n'est pas encore identifié nous permettent d'exclure la présence d'un gène pouvant expliquer plus de 10 % des cas, et suggèrent au contraire une extrême hétérogénéité. Ceci complique l'identification de nouveaux gènes, en

l'absence de grandes familles informatives, car il existe de nombreuses régions candidates (sur la base des études d'homozygotie) de grande taille, et contenant donc de très nombreux gènes.

Maladies à expansion de polyglutamine (avec le Dr K. Mérienne).

L'équipe de Y. Trottier étudie la physiopathologie des maladies à expansion de polyglutamine (polyQ), dont la maladie de Huntington (MH) et l'ataxie spino-cérébelleuse de type 7 (SCA7). Ces maladies neurodégénératives héréditaires 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 d'environ 39 résidus confère 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.

L'équipe s'intéresse aux relations entre la structure, la fonction et la toxicité des polyQ. Il est proposé qu'au-delà de 39 glutamines, le seuil de toxicité, la polyglutamine adopte une conformation spécifique à la base des propriétés toxiques et d'agrégation intracellulaire. Pour tester cette hypothèse, nous avons comparé les propriétés structurales et physiques de polyQ de tailles normales ou pathogéniques en combinant des approches biochimiques et biophysiques de pointe telles que la résonance magnétique nucléaire, la résonance des plasmons de surface (BIAcore) et la spectrométrie de masse (ESI-TOF). 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 (Klein *et al.*, 2007). Seules la cinétique d'agrégation et, dans une moindre mesure, la stabilité des agrégats augmentent avec la taille de la polyQ. Nos données appuient plutôt un modèle où la toxicité des polyglutamines s'accroît avec la taille et se manifesterait seulement lorsque les mécanismes cellulaires contrant la protéotoxicité seraient surpassés. Ces mécanismes — les chaperons moléculaires, les protéasomes, l'autophagie, etc. — seraient modulés par des facteurs génétiques, environnementaux et le vieillissement. À l'appui de cette hypothèse, d'autres équipes ont montré que les polyQ, indépendamment de leur taille, sont intrinsèquement toxiques et que cette toxicité est modulée par le vieillissement (Morley *et al.*, PNAS 2002). D'autre part, de nombreuses études effectuées chez la mouche, le ver et la souris ont montré qu'il est possible d'agir sur les voies de repliement des protéines ou sur leur dégradation afin de protéger contre les effets toxiques des polyQ.

Nous cherchons également à élucider la structure de la polyQ, un motif retrouvé dans un grand nombre de protéines, mais dont la fonction reste inconnue. Dans une première étape, nous avons déterminé la structure d'un anticorps anti-polyQ, nommé 1C2, en collaboration avec le Dr A. Podjarny de l'IGBMC. Actuellement, nous analysons des cristaux composés d'une polyQ en interaction avec l'anticorps. Cette stratégie a pour avantage de prévenir l'agrégation de la

polyQ, et devrait non seulement révéler la structure de la polyQ, mais aussi celle de l'anticorps, qui devrait nous fournir une base pour générer par modélisation des inhibiteurs de l'agrégation.

En collaboration avec le Dr A. Bertolotti (Cambridge, UK), nous avons localisé l'épitope d'un anticorps anti-huntingtine, 2B4, qui avait été généré dans notre laboratoire (Lunkes *et al.*, Mol Cell 2002). Nous montrons que cet anticorps reconnaît une séquence riche en proline, qui module la toxicité de la huntingtine mutée dans un modèle chez la levure (Dehay *et al.*, 2007). Cet anticorps pourrait donc être utilisé sous la forme d'anticorps recombinant scFv (single-chain Fv) dans une stratégie thérapeutique visant à prévenir la toxicité de la huntingtine mutée chez les patients atteints de la MH.

Afin d'identifier les mécanismes de dysfonction et de dégénérescence neuronale, nous étudions depuis quelques années un modèle souris SCA7, qui récapitule la dégénérescence rétinienne observée chez les patients. Ces souris présentent une réduction progressive de l'activité électrorétinogramme et de la couche des segments des photorécepteurs, précédant la mort neuronale (Helmlinger *et al.*, J. Neurosci. 2004). Nous avons également démontré que l'expression de l'ataxin-7 mutée dans ce modèle provoque un stress neuronal menant à l'activation de la voie de signalisation JNK/c-Jun/AP1 (Merienne *et al.*, JBC 2003). Plus récemment, en réalisant une étude des profils transcriptionnels de la rétine des souris SCA7, nous avons montré que les anomalies phénotypiques étaient liées à une forte répression des gènes spécifiques des photorécepteurs, notamment ceux qui sont impliqués dans la phototransduction et la morphogenèse des segments (Abou-Sleymane *et al.*, 2006). Cette répression est corrélée à 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. Ensemble, ces données suggèrent que l'ataxine-7 mutée compromet le programme génétique de différenciation des photorécepteurs.

Nous avons récemment observé que le facteur c-Jun/AP1 pouvait réprimer le promoteur Nrl dans un système cellulaire en culture. En croisant les souris SCA7 avec des souris exprimant une forme inactive de c-Jun, nous démontrons l'implication de c-Jun/AP1 dans la dysfonction des photorécepteurs puisque son inactivation permet la re-expression partielle de Nrl, et en conséquence celle d'autres gènes spécifiques des photorécepteurs régulés par Nrl, et ralentit la dégénérescence des photorécepteurs (Merienne *et al.*, 2007).

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 cellu-

laïres, et à l'identification de gènes impliqués dans d'autres formes d'ataxies récessives.

L'ataxie de Friedreich (FRDA) est une maladie autosomique récessive gravement invalidante, caractérisée par une dégénérescence spino-cérébelleuse et une cardiomyopathie hypertrophique. Elle est due à un déficit quantitatif d'une protéine mitochondriale, la frataxine, qui entraîne un déficit fonctionnel des protéines fer-soufre (Fe-S) et une accumulation intramitochondriale de fer. 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 (Puccio *et al.*, 2001 ; Simon *et al.*, 2004). Ces modèles conditionnels reproduisent l'essentiel des caractéristiques physiopathologiques et biochimiques de la pathologie humaine.

Un modèle musculaire montre que l'absence totale de frataxine dans le muscle induit une myopathie mitochondriale, avec des fibres musculaires de tailles variées, la présence de noyaux centraux, des fibres rouges déchiquetées (ragged red fibers) et un déficit spécifique des protéines à noyau Fe-S (Wattenhofer-Donzé, manuscrit en préparation). Ceci serait en accord avec l'observation d'un défaut de récupération énergétique après effort (mesuré par des études de SRM en phosphore 31), mais l'absence de dégénérescence musculaire et une force musculaire préservée chez les patients FRDA. Il est intéressant de noter un cas clinique rapporté dans la littérature d'un garçon avec un diagnostic moléculaire de FRDA présentant en plus des signes cliniques et électrophysiologiques FRDA, une myopathie mitochondriale sévère avec une prolifération mitochondriale et une structure anormale des fibres musculaires. Le Dr Marie Wattenhofer-Donzé, qui étudie ce modèle, est titulaire d'un poste ATER du Collège de France pour les années 2006-2008.

Dans la levure, la mitochondrie joue un rôle central pour la biosynthèse de tous les noyaux Fe-S, indépendamment de leur localisation cellulaire. Cependant, chez les mammifères, le rôle central de la mitochondrie reste controversé puisque l'existence d'une machinerie cytosolique d'assemblage des centres Fe-S a été proposée. Grâce aux différents modèles murins générés, nous avons récemment montré que l'absence de frataxine entraîne une réduction significative des activités spécifiques de la xanthine oxido-reductase et de la glycosylase Nth1, deux enzymes extramitochondriales (cytosolique et nucléaire, respectivement) qui nécessitent un noyau Fe-S pour leur activité, mais aussi une maturation incomplète de la glutamine phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase (GPAT), une enzyme cytosolique qui dépend d'un noyau Fe-S pour sa maturation (Martelli *et al.*, 2007). Par ailleurs, nous avons montré que la frataxine était localisée strictement dans la mitochondrie, excluant donc la possibilité d'un pool de frataxine cytosolique qui pourrait participer à l'assemblage. Ces résultats permettent de démontrer que la mitochondrie joue un rôle cardinal dans la biosynthèse des noyaux Fe-S chez les mammifères. Par ailleurs, ces résultats ouvrent de nouvelles voies pour la compréhension de la maladie. En effet, nous avons vu que deux

voies essentielles à la fonction de la cellule sont affectées par l'absence de frataxine : la voie de la réparation d'ADN et le métabolisme des purines/pyrimidines (Martelli *et al.*, 2007). Il est intéressant de noter qu'il existe au moins 4 enzymes à noyau Fe-S dans la voie de réparation d'ADN (NTH1, MYH, Rps3, et plus récemment XPD). Or, plusieurs ataxies cérébelleuses (dont l'ataxie télangectasie, AOA1, et SCNA1) sont dues à des déficits partiels de réparation de l'ADN. Par ailleurs, de nombreuses observations suggèrent la responsabilité de l'accumulation de lésions d'ADN dans les mécanismes de neurodégénérescence. Il est donc possible que les conséquences pathologiques dans le système nerveux du déficit en frataxine soient liées à des perturbations de la réparation d'ADN.

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 criblage pharmacologique à moyenne 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. Après les différentes validations du criblage, 18 molécules ont été identifiées et les courbes de dose-réponse sont en cours d'établissement.

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 les deux premières sont impliquées dans la réparation des cassures de l'ADN. 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. Finale-

ment, nous avons identifié un nouveau gène d'ataxie récessive par l'analyse d'une grande famille consanguine d'origine algérienne (soumis à publication). Les patients de quatre autres familles se sont avérés avoir des mutations du même gène. Ce gène code pour une kinase mitochondriale, ADCK3, impliquée dans la régulation de la synthèse du coenzyme Q10, un lipide essentiel au transport des électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette ataxie est donc la cinquième forme d'ataxie récessive due à un déficit d'une protéine mitochondriale, confirmant que le dysfonctionnement de cet organelle en général et de la chaîne respiratoire en particulier, est la cause directe des mécanismes dégénératifs des voies cérébelleuses et spinocérébelleuses dans un nombre important de cas. L'analyse rétrospective des patients avec mutations ADCK3 confirme la présence d'un déficit modéré en coenzyme Q10 dans les fibroblastes en culture et d'une élévation modérée des lactates sanguins, au moins lors d'un exercice musculaire. L'analyse bioinformatique de la séquence ADCK3 et des protéines apparentées montre qu'elles forment une famille de kinases ancestrales ayant de très lointaines similitudes avec les phosphoinositide-kinases et les choline-kinases, suggérant que le substrat d'ADCK3 n'est pas nécessairement, ou probablement pas, une protéine. L'élucidation de la fonction d'ADCK3 devrait permettre d'identifier un mécanisme primitif de régulation de la synthèse de l'ATP (chaîne respiratoire) par l'ATP lui-même (co-substrat de la kinase) et d'éclairer par un angle nouveau l'origine des mécanismes de régulation biologique par les kinases.

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). Par ailleurs, l'activation de GSK3 induite par IGF-1 est affectée dans les fibroblastes de patients CLS ainsi que chez les souris KO pour RSK2. Les conséquences de cette dysfonction sur l'activité de la glycogène synthétase et du facteur d'initiation de la traduction eIF2B, tous les deux normalement régulés par GSK3, sont en cours d'étude. Enfin, des anomalies de la voie de la dopa-

mine ont été mises en évidence au niveau du cortex, qui sont également en cours d'investigation détaillée. Finalement, une comparaison des transcriptomes d'hippocampes de souris invalidées pour RSK2 et de souris sauvages de mêmes fratries par puces Affymetrix a été réalisée. Elle a révélé des différences d'expression significatives pour une cinquantaine de gènes. Certains de ces gènes sont en cours de validation par d'autres techniques. 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).

Dans le cadre de l'activité du laboratoire de diagnostic génétique (CHU de Strasbourg), nous avons identifié 44 nouvelles mutations dans le gène RSK2 (RPS6KA3), 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). Chez un patient, présentant un tableau clinique hautement évocateur d'un syndrome de Coffin-Lowry, mais chez qui aucune mutation n'avait pu être identifiée par séquençage systématique des exons du gène RPS6KA3, nous avons récemment réalisé des études fonctionnelles de la protéine RSK2. Cela nous a permis de mettre en évidence la première grande duplication (environ 6Kb) du gène RSK2. Ce remaniement était dû à une recombinaison inégale entre séquences Alu introniques, et résultait en la duplication en tandem des séquences des exons 17 à 20 au niveau du mRNA de RSK2. Le cadre de lecture étant maintenu, une protéine de 100 kDa, (au lieu de 90) était exprimée, et détectable par Western blot dans les lymphoblastes du patient. Cependant, un test kinase *in vitro* a montré que la protéine n'avait aucune activité enzymatique (Marques-Pereira *et al.*, 2007). 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 interrompt le gène CDKL3, de la famille des kinases cycline-dépendante, dont un autre membre (CDKL5) 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 soumis).

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. 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 résultats mettent en évidence une signature génomique qui ségrège avec l'apparition post-exérèse de métastases pour les cancers VADS dans une forte proportion des tumeurs (> 85 %, publication soumise) et les données brutes ont été générées pour les cancers de l'ovaire et les adénocarcinomes du poumon. Elles sont en cours d'analyse statistique. 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 (Hussenet *et al.*, 2006). Nous avons engagé un programme visant à faciliter l'interprétation de données de CGH sur puces dans le cadre de la description d'aneusomies segmentales pour des patients souffrant de retards mentaux, dans le cadre de programmes financés par le ministère de la santé (en collaboration avec P. Jonveaux, Nancy) et le GIS maladies rares.

LISTE DES PUBLICATIONS DU GROUPE DE GÉNÉTIQUE HUMAINE DE L'IGBMC
(depuis juillet 2006)

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

2007

Cao C., Laporte J., Backer J.M., Wandinger-Ness A., Stein M.-P. Myotubularin lipid phosphatase binds the hVPS15/hVPS34 lipid kinase complex on endosomes. *Traffic* (2007) 8 : 1052-1067.

Chojnowski A., Ravisé N., Bachelin C., Depienne C., Ruberg M., Brugg B., Laporte J., Baron-Van Evercooren A. and Le Guern E. Silencing of the Charcot-Marie-Tooth associated MTMR2 gene decreases proliferation and enhances cell death in primary cultures of Schwann cells. *Neurobiol. Dis.* (2007) 26 : 323-331.

Dehay B., Weber C., Trottier Y. and Bertolotti A. Mapping of the epitope of monoclonal antibody 2B4 to the proline-rich region of human Huntingtin, a region critical for aggregation and toxicity. *Biotechnol. J.* (2007) 2 : 1-6.

Gribaa M., Salih M., Anheim M., Lagier-Tourenne C., H'mida D., Drouot N., Mohamed A., Elmalik S., Kabiraj M., Al-Rayess M., Almubarak M., Bétard C., Goebel H. and Koenig M. A new form of childhood onset, autosomal recessive spinocerebellar ataxia and epilepsy is localized at 16q21-q23. *Brain* (2007) 130 : 1921-1928.

Jungbluth H., Zhou H., Sewry C.A., Robb S., Treves S., Bitoun M., Guicheney P., Buj-Bello A., Bönnemann C. and Muntoni F. Centronuclear myopathy due to a de novo dominant mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor (RYR1) gene. *Neuromuscular Disord.* (2007) 17 : 338-345.

Klein F., Pastore A., Masino L., Zeder-Lutz G., Nierengarten H., Oulad-Abdelghani M., Altschuh D., Mandel J.-L. and Trottier Y. Pathogenic and non-pathogenic polyglutamine tracts have similar structural properties : towards a length dependent toxicity gradient. *J. Mol. Biol.* (2007) 371 : 235-244.

Le Ber I., Dubourg O., Benoist J.F., Jardel C., Mochel M.D., Koenig M., Brice A., Lombès A., Dürr A. Muscle coenzyme Q10 deficiencies in ataxia with oculomotor apraxia 1. *Neurology* (2007) 68 : 295-297.

Merienne K., Friedman J., Akimoto M., Abou-Sleymane G., Weber C., Swaroop A. and Trottier Y. Preventing polyglutamine-induced activation of c-Jun delays neuronal dysfunction in a mouse model of SCA7 retinopathy. *Neurobiol. Dis.* (2007) 25 : 571-581.

Nicot A.S., Toussaint A., Tosch V., Kretz C., Wallgren-Pettersson C., Iwarsson E., Kingston H., Garnier J.M., Biancalana V., Oldfors A., Mandel J.-L. and Laporte J. Mutations in amphiphysin 2 (BIN1) disrupt interaction with dynamin 2 and cause autosomal recessive centronuclear myopathy. *Nat. Genet.* Epub 2007 Aug. 5. (2007) 39 : 1134-1139.

Poirier R., Jacquot S., Vaillend C., Southiphong A.A., Libbey M., Davis S., Laroche S., Hanauer A., Welzl H., Lipp H.P., Wolfer D.P. Deletion of the Coffin-Lowry Syndrome Gene Rsk2 in Mice is Associated With Impaired Spatial Learning and Reduced Control of Exploratory Behavior. *Published online Oct. 11, 2006. Behav. Genet.* (2007) 37 : 31-50.

Ribaï P., Pousset F., Tanguy M.L., Rivaud-Pechoux S., Le Ber I., Gasparini F., Charles P., Béraud A.S., Schmitt M., Koenig M., Mallet A., Brice A. and Dürr A. Neurological, cardiological, and oculomotor progression in 104 patients with Friedreich Ataxia during long-term follow-up. *Arch. Neurol.* (2007) 64 : 558-564.

Stoetzel C., Muller J., Laurier V., Davis E.E., Zaghoul N.A., Vicaire S., Jacquelin C., Plewniak F., Leitch C.S., Sarda P., Hamel C., de Ravel T.J.L., Lewis R.A., Friederich E., 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) highlights the major role of a vertebrate specific branch of chaperonin-related proteins in Bardet-Biedl syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* (2007) 80 : 1-11.

Marques-Pereira P., Heron D., Hanauer A. The first large duplication of the RSK2 gene identified in a Coffin-Lowry syndrome patient. *Hum Genet* (2007) In press Epub Aug. 24.

*Martelli A., *Wattenhofer-Donzé M., Schmucker S., Bouvet S., Reutenauer L. and Puccio H. Frataxin is essential for extramitochondrial Fe-S cluster proteins in mammalian tissues. *Hum. Mol. Genet.* (2007) in press.

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.

Hussenet T., Malleme 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.

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.

Fukami M., Wada Y., Miyabayashi K., Nishino I., Hasegawa T., Nordenskjöld A., Camerino G., Kretz C., Buj-Bello A., Laporte J., Yamada G., Morohashi K., Ogata T. (2006). CXorf6 (HYS) is a novel causative gene for hypospadias. *Nature Genetics*, 38 (12), 1369-1371.

Laurier V., Stoetzel C., Muller J., Thibault C., Corbani S., Jalkh N., Salem N., Chouery E., Poch O., Vicaire S., Danse J.M., Amati-Bonneau P., Bonneau D., Megarbané 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.

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.

Tosch V., Rohde H.M., Tronchère H., Zanoteli E., Monroy N., Kretz C., Dondaine N., Payrastra, 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.

Articles de synthèse et chapitres de livres

*Babady N., *Carelle N., Wells R., Rouault T., Hirano M., Lynch D., Delatycki M., Wilson R., *Isaya G. and *Puccio H. Advancements in the pathophysiology of Friedreich's Ataxia and new prospects for treatments (2007). *Molecular Genetics and Metabolism*. in press.

Helmlinger D., Tora L. and Devys D. Transcriptional alterations and chromatin remodeling in polyglutamine diseases. *Trends in Genet.* (2006) 22 : 562-570.

Puccio H. Conditional mouse models for Friedreich Ataxia, a neurodegenerative disorder associating cardiomyopathy, in HEP (2007) Springer-Verlag 178 : 365-375.

Rohde H.M., Nicot A.S., Laporte J. (2006). The myotubularin pathway : Endosomal phosphoinositides and human diseases. *Bioforum* 10 (sept. 2006), 24-26.

Rohde H.M., Tronchère H., Payrastra B. and Laporte J. Detection of myotubularin phosphatases activity on phosphoinositides *in vitro* and *ex vivo*. *Methods in Mol. Biol.* (2007) in press.

CONFÉRENCES DONNÉES PAR JEAN-LOUIS MANDEL (depuis juin 2006)

Conférences grand public

Fête de la Science 2006 — Inauguration du Village des Sciences d'Illkirch, le 11 octobre 2006. « Des gènes aux médicaments de demain ». *Conférence inaugurale*.

Remise des Prix du Comité Alsace de la Fondation pour la Recherche Médicale. Strasbourg le 29 novembre 2006. « Où en sont les recherches sur les maladies génétiques ? ». *Conférencier en tant que lauréat du Grand Prix 2006 de la Fondation pour la Recherche Médicale*.

Podium Horizon, Strasbourg le 01 février 2007. « L'intérêt de la recherche génétique sur les maladies rares ». *Conférence et débat*.

Conférences et participation à des congrès

Health Sciences School of the University of Minho (Portugal) « Mental retardation : from clinic to gene and back » du 03 au 07 juillet 2006. *Conférence sur « Fragile X syndrome »*.

20th Course in Medical Genetics of the European School of Genetic Medicine, (Bertinoro, Italie) du 05 au 11 mai 2007. Une conférence « The fragile x mental retardation syndrome : from pathogenesis to diagnostic issues » et deux workshops (X linked mental retardation ; Pitfalls in molecular diagnosis : pathogenic mutation or rare variant ?).

École-Chercheurs Génomique des caractères complexes (INRA-INSERM, La Colle-sur-Loup 06) du 20 au 25 mai 2007. *Conférence : « Enjeux et éthique de la médecine prédictive »*.

2^e Journée strasbourgeoise de la recherche clinique (Strasbourg) le 29 juin 2007. *Conférence : « Génétique des maladies communes et son intérêt médical (diagnostique, pronostique, physiopathologique ...) »*.

Colloque « Des maladies monogéniques aux maladies oligogéniques » au Collège de France, Paris les 02 et 03 avril 2007. *Organisateur*.

Colloque « De la biologie des cils aux maladies génétiques ciliaires » au Collège de France, Paris les 03 et 04 mai 2007. Co-organisateur du colloque avec le Pr Christine Petit. *Conférence : « Twelve genes and more for a single syndrome : Bardet-Biedl syndrome and the cilia connection »*.

39th Annual Meeting of the European Society of Human Genetics (ESHG) Nice du 16 au 19 juin 2007. Communication orale sélectionnée « A novel vertebrate specific chaperonine related protein (BBS12) is involved in Bardet-Biedl syndrome ». *Modérateur de deux sessions*.

