

## Sarah Hughes-Résumé scientifique

**Titre du projet** Étudier la façon dont la régulation post-transcriptionnelle de SMARCB1 régule le développement normal du cerveau est liée au développement de l'autisme

**Énoncé de l'objectif** — Nous avons constaté que les ARNm codés par la famille de gènes SMARCB1 sont régulés directement dans les cellules souches neurales. Nous déterminerons le mécanisme de régulation post-transcriptionnelle de SMARCB1, y compris les protéines nécessaires.

### Résumé du projet :

Il existe des preuves considérables que le trouble du spectre autistique (TSA) trouve son origine au cours du développement prénatal lorsque les cellules souches neurales (CSN) forment le cerveau. Les études animales montrent que le rôle normal des gènes à risque identifiés à la TSA est de réguler la prolifération/différenciation des CSN. Notamment, les remodeleurs de la chromatine constituent la majorité des gènes de risque de TSA connus, mais leur rôle spécifique dans le développement cérébral n'est pas bien compris. SMARCB1 (SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator of Chromatin, B1) est une sous-unité du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF. Les mutations SMARCB1 sont courantes chez les patients atteints des syndromes de Kleeftstra, des troubles neurodéveloppementaux reflétant les aspects cliniques des TSA. Nous avons constaté que l'orthologue SMARCB1 *Snr1* (*Snf5-related1*) est nécessaire pour la différenciation des CSN de la drosophile appelés neuroblastes (NB). La perte de *Snr1* fait que les NB restent indifférenciés, un rôle jusqu'alors inconnu au cours du développement cérébral. Nous avons également lié des régulateurs de prolifération cellulaire tels que le suppresseur de tumeur/protéine de liaison à l'actine Merlin à la régulation de l'ARNm via une interaction avec une protéine de liaison de la coiffe non canonique, eIF4E-3. L'immunoprécipitation de l'ARN (RIP)— Seq des complexes Merlin/eIF4E-3 a permis d'identifier *Snr1*/SMARCB1 comme le résultat numéro un dans les neurones tant de mouches que de mammifères. Le rôle potentiel de la régulation post-transcriptionnelle de l'ARNm *Snr1* est renforcé par nos découvertes que les anomalies des NB causés par la perte de *Snr1* ne peuvent pas être résolues par des ADNc *Snr1* dépourvu de l'UTR 5' ou 3'. Les ADNc dépourvus des UTR peuvent récupérer l'activité *Snr1* dans les cellules non NB. Nous avons également observé que les niveaux de transcription de *Snr1* dans le cerveau restent inchangés chez le mutant nul Merlin, mais que les niveaux de protéine *Snr1* sont réduits, ce qui suggère une régulation de la traduction de *Snr1*. Enfin, nous avons constaté que l'ARNm de *Snr1* est enrichi au niveau du cortex apical des NB, mais chez les mutants Merlin, la localisation est perdue. Nous émettons l'hypothèse que la régulation post-transcriptionnelle de l'ARNm de *Snr1* localisé dirige la prolifération et la différenciation des CSN au cours du développement précoce du cerveau.

**Objectif 1** : Déterminer comment la localisation de l'ARNm de *Snr1* affecte l'activité de la protéine *Snr1*. La localisation de l'ARNm de *Snr1* est probablement un mécanisme de régulation de l'entrée de la protéine *Snr1* dans le noyau. Nous allons d'abord tester la façon dont le transport dirigé des protéines affecte la différenciation des NB en utilisant des transgènes qui expriment une protéine localisée exclusivement soit dans le noyau soit dans le cytoplasme. Le rôle des régions spécifiques de l'ARNm de *Snr1* (c'est-à-dire 3'UTR) dans ce

processus sera testé de manière similaire en exprimant des régions codant pour Snr1 avec ou sans UTR. Enfin, plusieurs autres protéines spécifiant la différenciation sont localisées au niveau cortical dans les NBs. Nous testerons comment les mutations de ces dernières affectent la localisation de Snr1 en utilisant l'hybridation fluorescente in situ (FISH).

**Objectif 2 :** Identifier les mécanismes de médiation de la régulation post-transcriptionnelle de Snr1. L'analyse pulldown de l'ARN et la spectrométrie de masse utilisant différentes régions de l'ARNm Snr1 ont permis d'identifier spécifiquement des protéines de liaison à l'actine, de régulation de la traduction et de liaison à l'ARN. Pour chaque candidate, nous testerons l'effet des mutations sur la localisation de Snr1 (FISH), l'expression (Western blot) et la différenciation et la prolifération des NB (comptage des cellules exprimant des marqueurs de lignée spécifiques) dans des cerveaux entiers.

**Objectif 3:** Une fois confirmées dans notre modèle de mouche simple, les candidates seront retestées avec nos collaborateurs pour un rôle similaire dans le développement du cerveau et le comportement chez la souris. Les protéines de remodelage de la chromatine sont une cible active du développement de médicaments. La caractérisation de cette nouvelle régulation de l'ARNm de Snr1/SMARCB1 au cours du développement cérébral fournira des options thérapeutiques supplémentaires pour les personnes atteintes de TSA.