

Wayne Sossin — Résumé scientifique

Titre du projet Détermination de la manière dont les polysomes bloqués sont générés pour le transport dans les granules d'ARN et régulent traduction locale.

Énoncé de l'objectif — Nous déterminerons comment les polysomes sont mis en attente dans des granules d'ARN et ce qui détermine comment les neurones choisissent les ARNm à transporter dans les polysomes mis en attente.

Résumé du projet :

La traduction locale dans les axones et les dendrites des neurones est essentielle à la mise en place de connexions pour un système nerveux fonctionnel. Les granules d'ARN neuronaux sont des amas denses d'ARNm et de ribosomes qui transportent les ARNm pour une traduction locale dans les synapses. Les mutations des protéines nécessaires à la fonction des granules d'ARN neuronaux entraînent de mauvaises connexions et des troubles du développement neural. Apprendre comment ces granules sont générés, structurés et fonctionnent est nécessaire pour développer des stratégies pour améliorer les troubles neurodéveloppementaux causés par la dysrégulation de ces granules. Pour ce faire, nous avons adopté une approche multidisciplinaire combinant la cryo-ME, le profilage des ribosomes des granules d'ARN purifiés et l'imagerie cellulaire des granules d'ARN dans les neurones en développement. Notre hypothèse est que l'ARNm dans les granules d'ARN est réprimé à l'étape d'élongation dans les polysomes mis en attente, ce qui permet aux neurones de traduire rapidement les ARNm synaptiques en protéines fonctionnelles, en contournant l'étape d'initiation qui limite la vitesse. Les objectifs suivants permettront d'accroître considérablement notre compréhension des granules d'ARN.

Dans l'objectif 1, nous allons établir comment les granules d'ARN sont mis en attente à l'aide de la cryo-microscopie électronique (cryo-ME). Notre analyse a identifié des ribosomes dans les granules purifiés d'ARN qui contiennent des densités non identifiées qui ne s'observent pas dans la cryo-ME des polysomes normaux. Nous allons générer des cartes en cryo-ME de haute résolution qui nous permettront d'identifier les facteurs de mise en attente déclenchant la formation des granules d'ARN (Objectif 1A). Les granules d'ARN seront également analysés par cryo-tomographie électronique (cryo-TE). Ces données seront utilisées pour révéler comment les différentes sous-populations de ribosomes sont positionnées en 3D dans le granule d'ARN (objectif 1B). Nous déterminerons si les facteurs de mise en attente identifiés font défaut dans les modèles de troubles neurodéveloppementaux, comme le syndrome de l'X fragile, où l'on pense que les polysomes mis en attente sont affectés (objectif 1C).

Dans l'objectif 2, nous utiliserons le profilage des ribosomes sur des granules d'ARN purifiés pour déterminer où se produit la mise en attente de l'ARNm. L'utilisation de nouvelles stratégies pour cliver les polysomes étroitement groupés dans l'ARN nous a permis, pour la première fois, un examen des séquences d'ARNm protégées par des ribosomes dans des granules d'ARN. Notamment, il existe un enrichissement significatif en fragments protégés sur les ARNm codants pour des protéines dont la mutation est démontrée dans les maladies

neurodéveloppementales et également sur les ARNm précédemment impliqués dans la régulation par élongation. Nous utiliserons des techniques bio-informatiques pour déterminer les séquences spécifiques dans ou autour des fragments protégés qui déterminent la mise en attente et pour déterminer si ces motifs peuvent identifier les protéines de liaison à l'ARN importantes pour la mise en attente (Objectif 2A). Nous évaluerons le rôle des facteurs de mise en attente putatifs en comparant les résultats de profilage des ribosomes chez les souris de type sauvage à celles qui sont dépourvues de ces protéines (Objectif 2B).

Dans l'objectif 3, nous déterminerons le mécanisme de réactivation des granules d'ARN. L'hélicase à ARN liée à l'X, DDX3, est la protéine la plus fréquemment mutée chez les filles présentant des troubles neurodéveloppementaux. Nous testerons l'hypothèse selon laquelle les mutations DDX3 dominantes négatives altèrent la structure et l'état de phase liquide-liquide des granules d'ARN, empêchant la dissociation et la levée de la mise en attente des polysomes mis en attente dans ces granules.

Mis ensemble, ces études donneront une image complète de la façon dont les granules d'ARN sont générés et comment ils sont dysfonctionnels dans les troubles neurodéveloppementaux suggérant de nouvelles thérapies d'intervention.