



**Inserm**

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

# Le point sur la recherche fondamentale sur le projet anémie de Blackfan Diamond (ABD)

Dr Lydie Da Costa

Laboratoire d'Hématologie,

Hôpital Robert Debré

Laboratoire d'accueil INSERM U790

Institut Gustave Roussy

## **Des nouveaux gènes**

Tous de protéines ribosomiques  
Impliquant la petite et la grande sous-unité

DBA, une maladie du ribosome

# ABD, une maladie liée à des mutations des gènes de protéines ribosomiques

- Mutations du gène *rps19* identifiées chez 25% des patients  $\forall$  le pays

⇒ Autres gènes impliqués :

- autre locus identifié en 8p23.2-23.1 (*Gazda et al., Blood, 2001, 97:2145-2150*) = DBA2, gène?
- 18% des patients non *rps19* et non liés au locus en 8p, = DBA3, gène?

⇒ Gène *rps24* (3 mutations décrites)  $\approx$  2 % des patients (*Gazda et al., AJHG 2006*)

⇒ Gène *rpL35a* chez un patient avec une délétion 3q- (*Farrar et al., Blood 2008*):  
3 mutations décrites

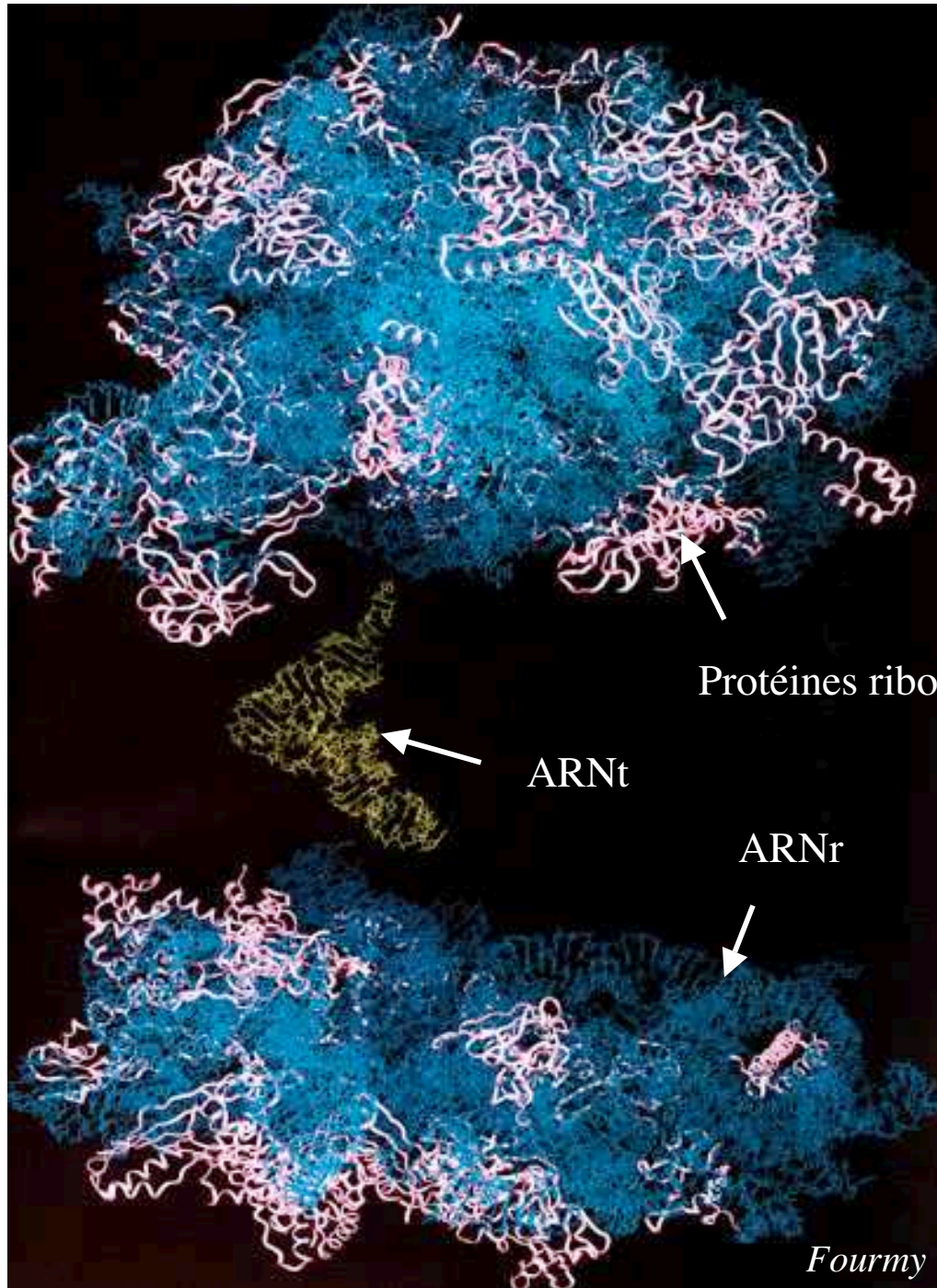
⇒ Gène *rpL5* (9%) et *rpL11* (7%), autres gènes mutés : *rps7*, *rps27a*, *rps15*, *rpL36*, (*Gazda et al., ASH 2007*), *rps17* (*Gazda et al., ASH 2007; Cmejla et al., 2007*)

⇒ au total 10 gènes de *rps* impliqués dans l'ABD

⇒ au total, 46% des patients porteurs d'une mutation dans un gène de *rp*

# Structure du ribosome 70S d'*E. Coli*

Grande sous-unité ribosomique



## Composition d'un ribosome eucaryote

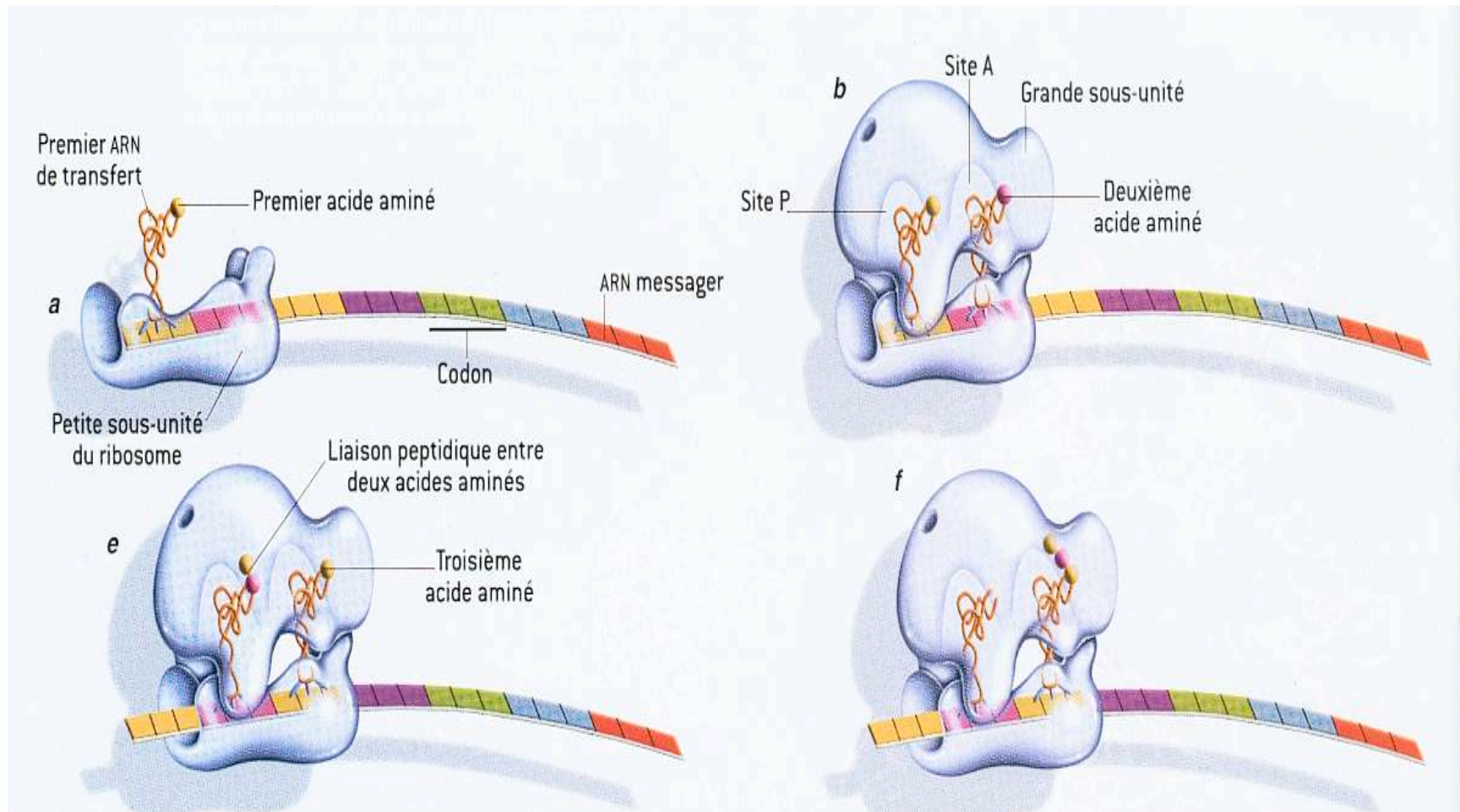
*Composition of both ribosome subunits :*

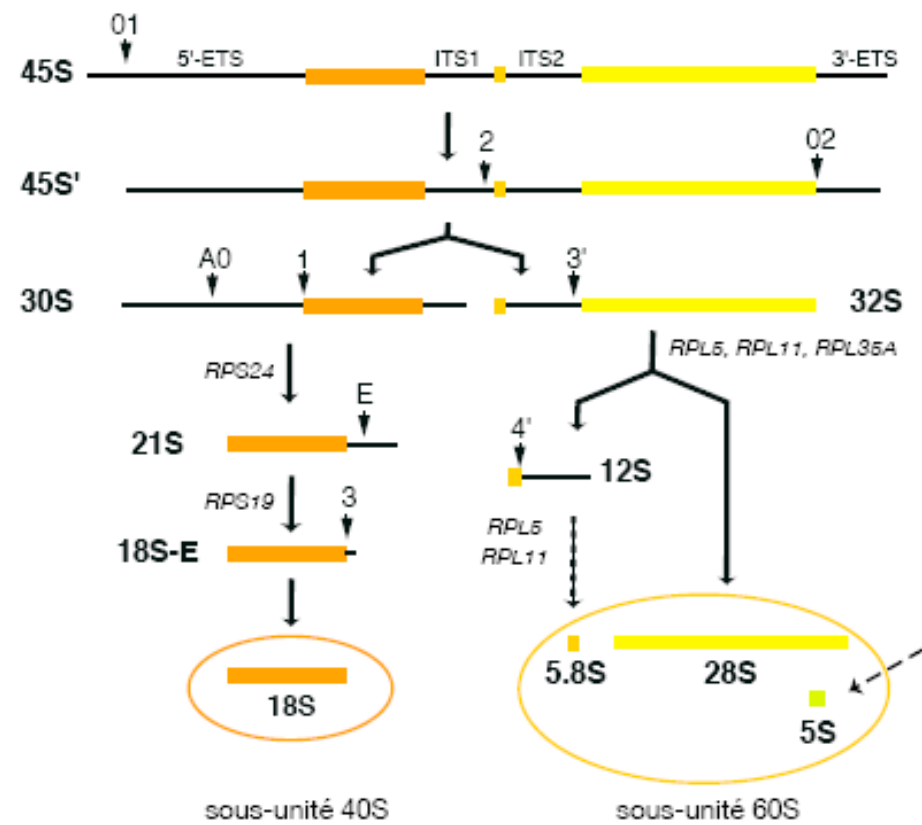
	<b>Eukaryotes</b>
<b>Large subunit</b>	
Sedimentation	60S
Number of proteins	42
rRNA	5S (120-121nt) 5.8S (158-160nt) 25S (3392-4718nt)
<b>Small subunit</b>	
Sedimentation	40S
Number of proteins	32
rRNA	18S (1798-1874nt)

rRNA : ribosomal RNA; nt : nucleotide

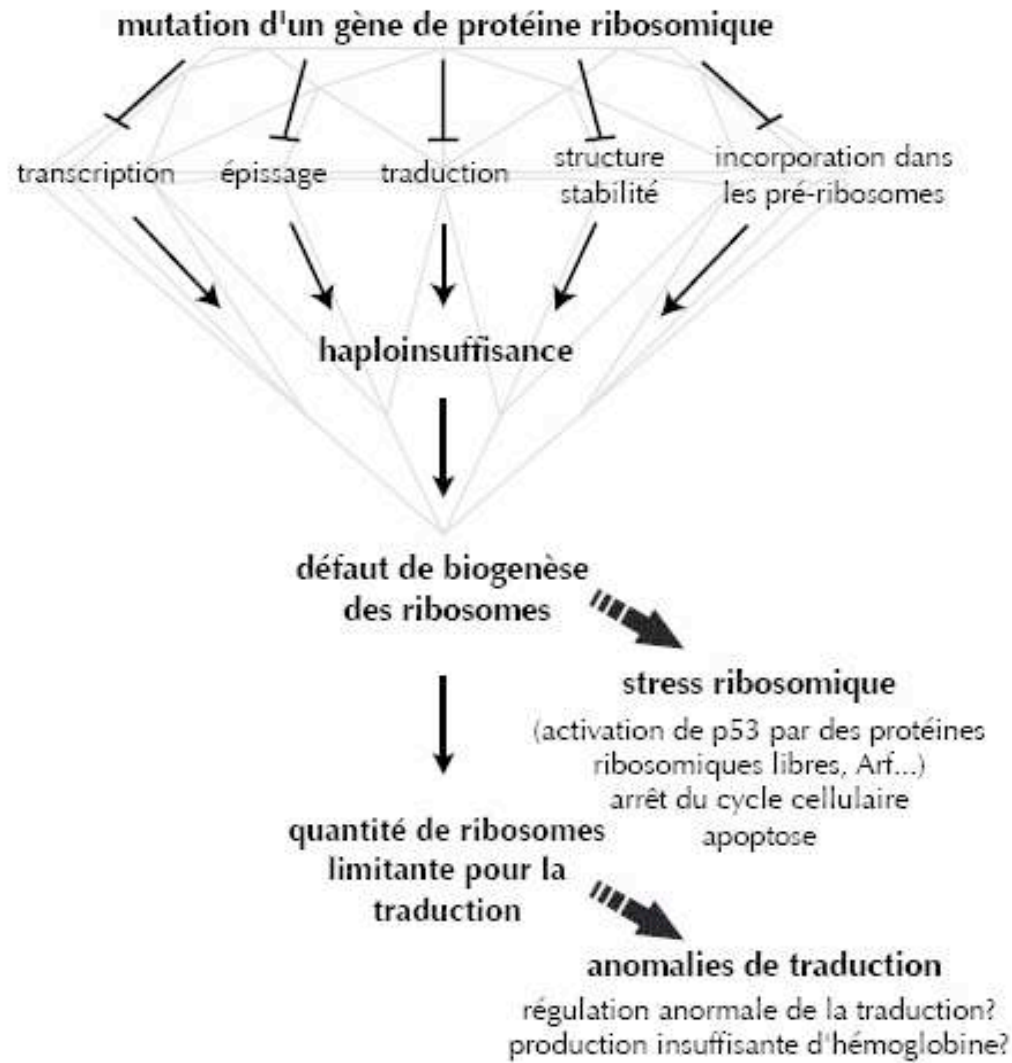
# Synthèse des protéine

*Fourmy et al., Pour la Science, n° 313, nov 2003*







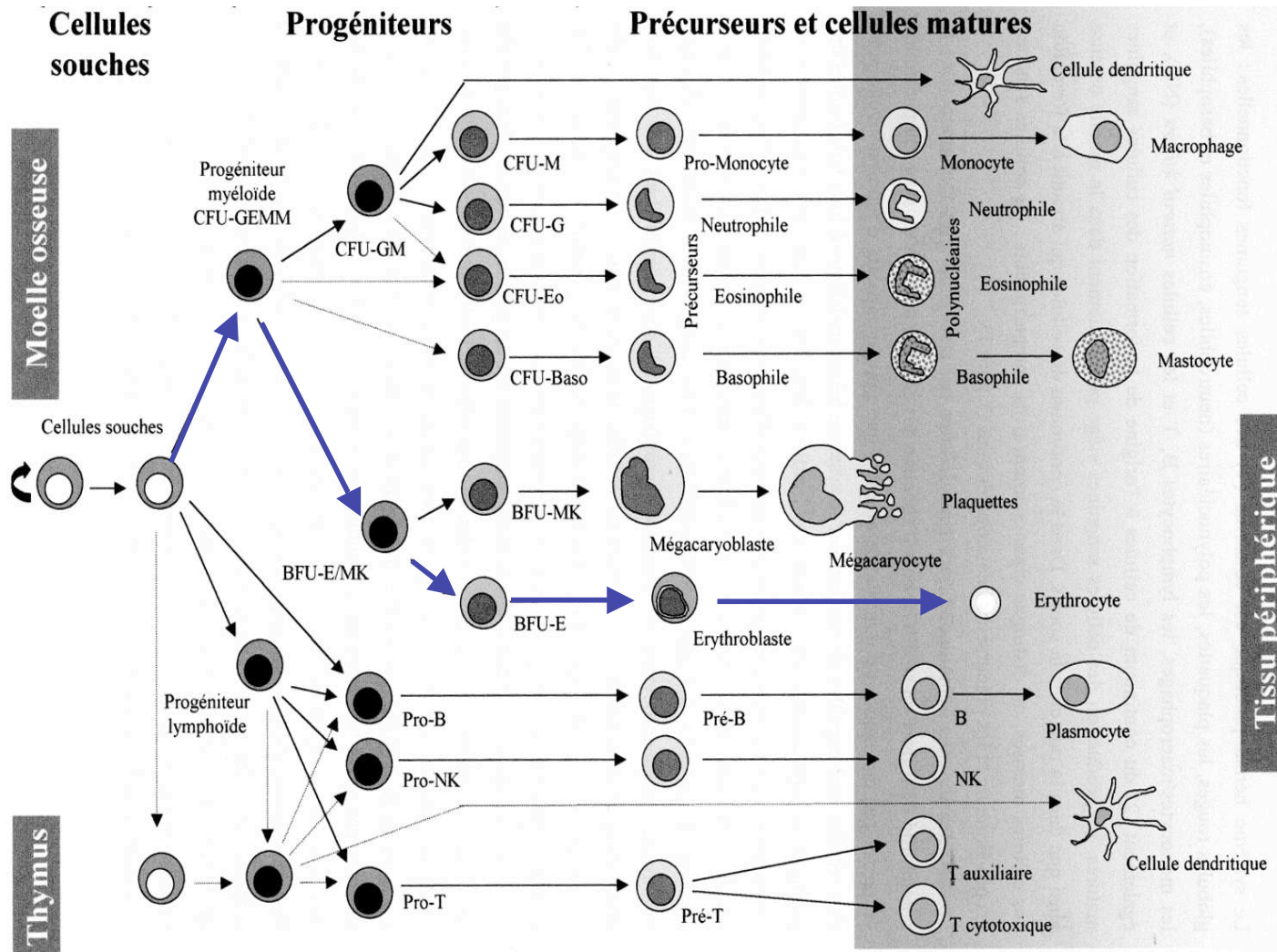


*M/S, à paraître*



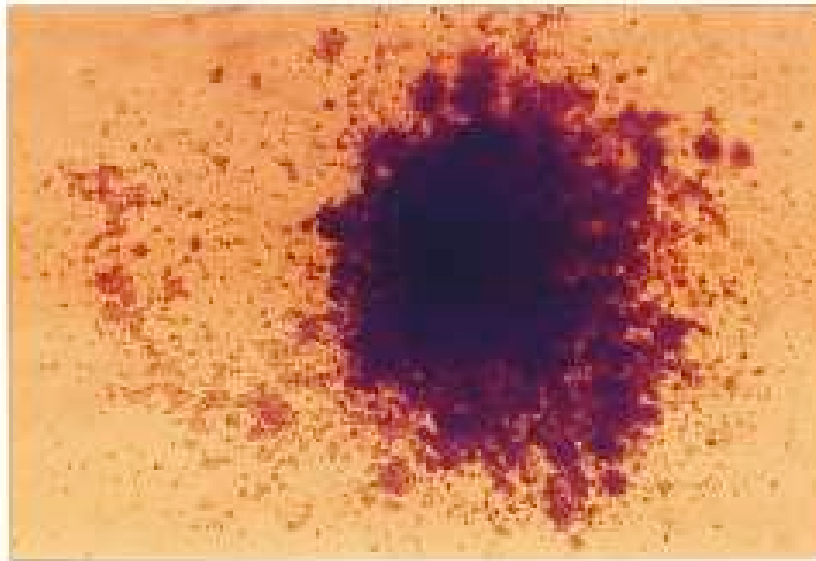
# Cellules érythroïdes Humaines

# Différents compartiments médullaires du système hématopoïétique

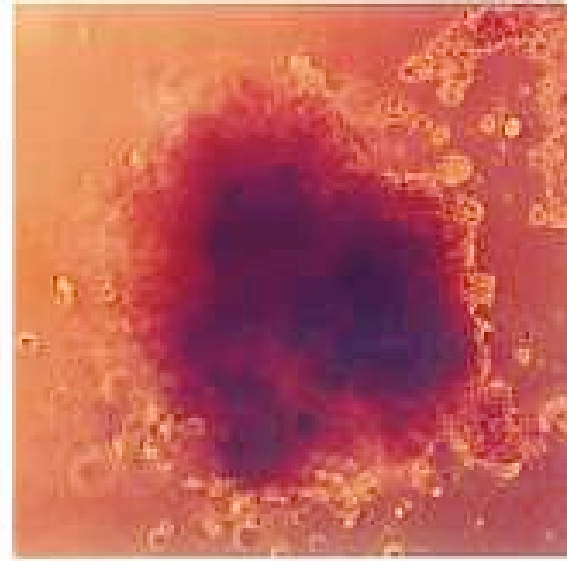


am:

**CFU-GEMM**



**BFU-E**

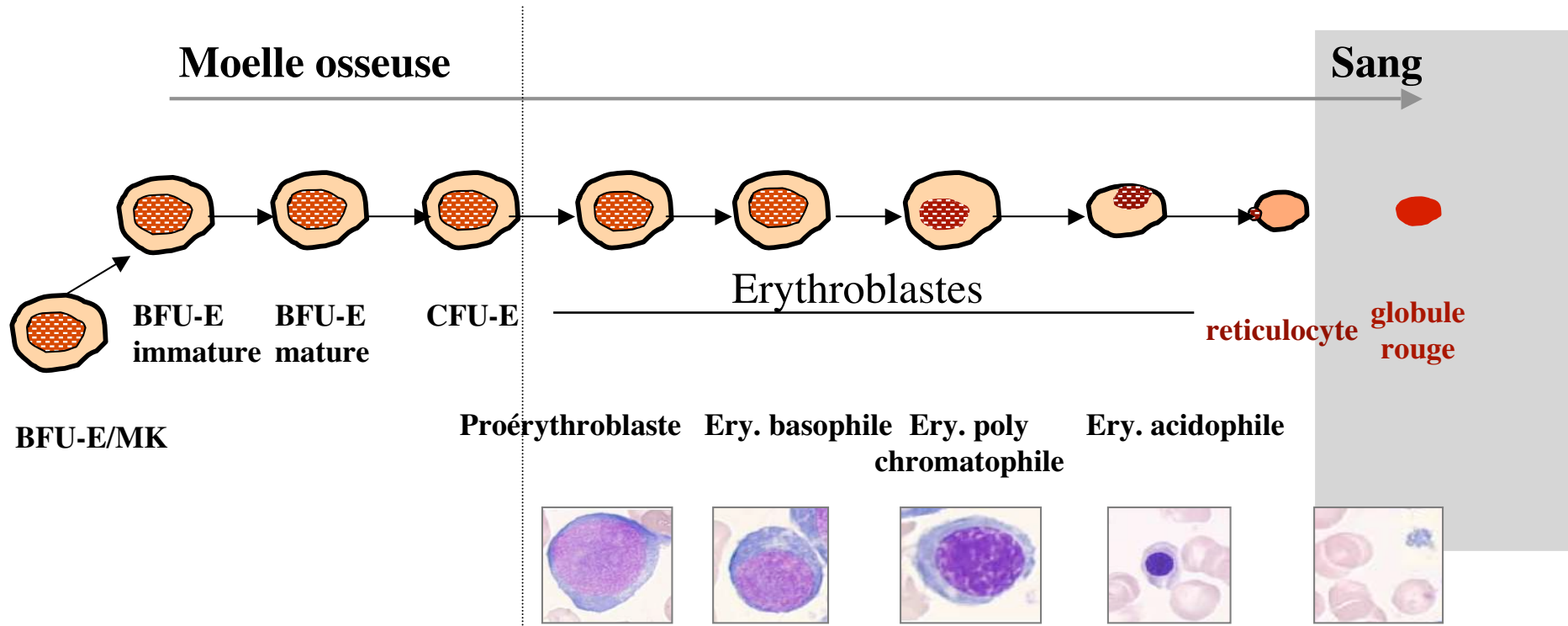


**CFU-E**



*Erythropoïèse précoce*

*Erythropoïèse tardive*

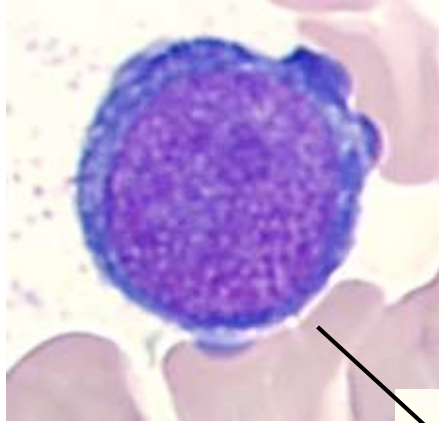


Progéniteurs

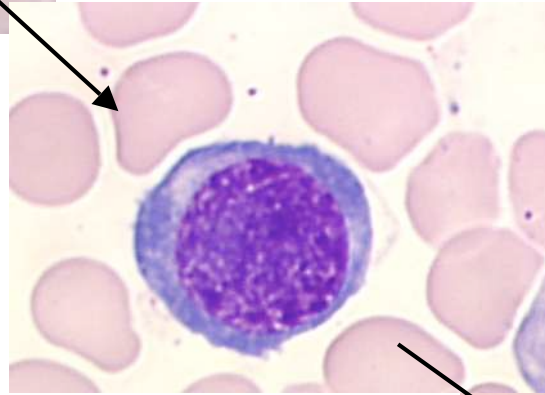
Précurseurs

**Erythropoïèse**

## *La lignée érythroblastique*



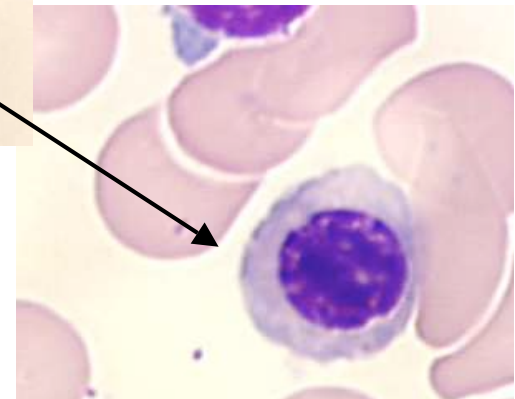
**PROER**  
Proérythroblaste



**ERB**  
Érythroblaste basophile

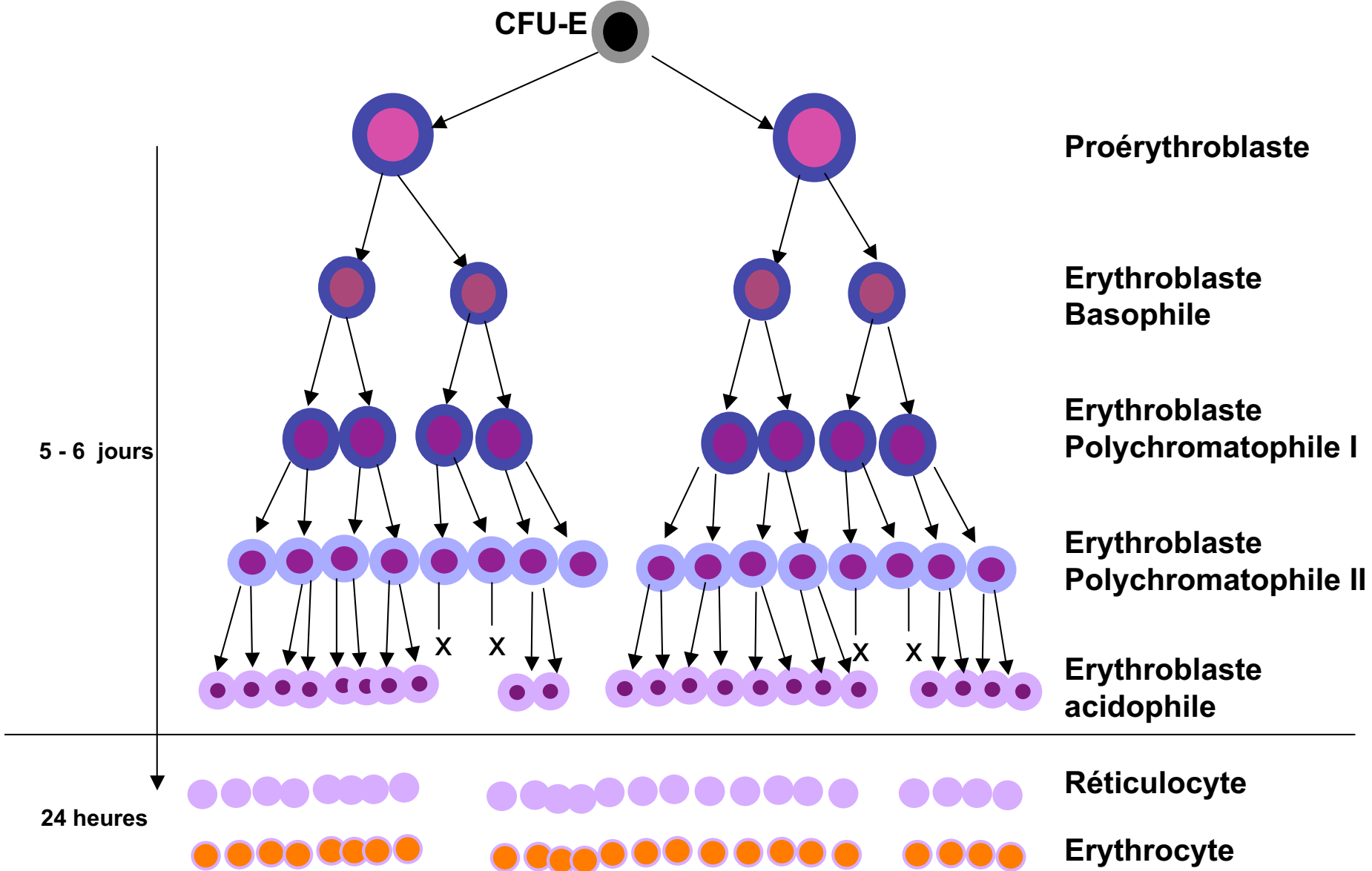


**ERP**  
Érythroblaste  
polychromatophile



**ERA**  
Érythroblaste acidophile

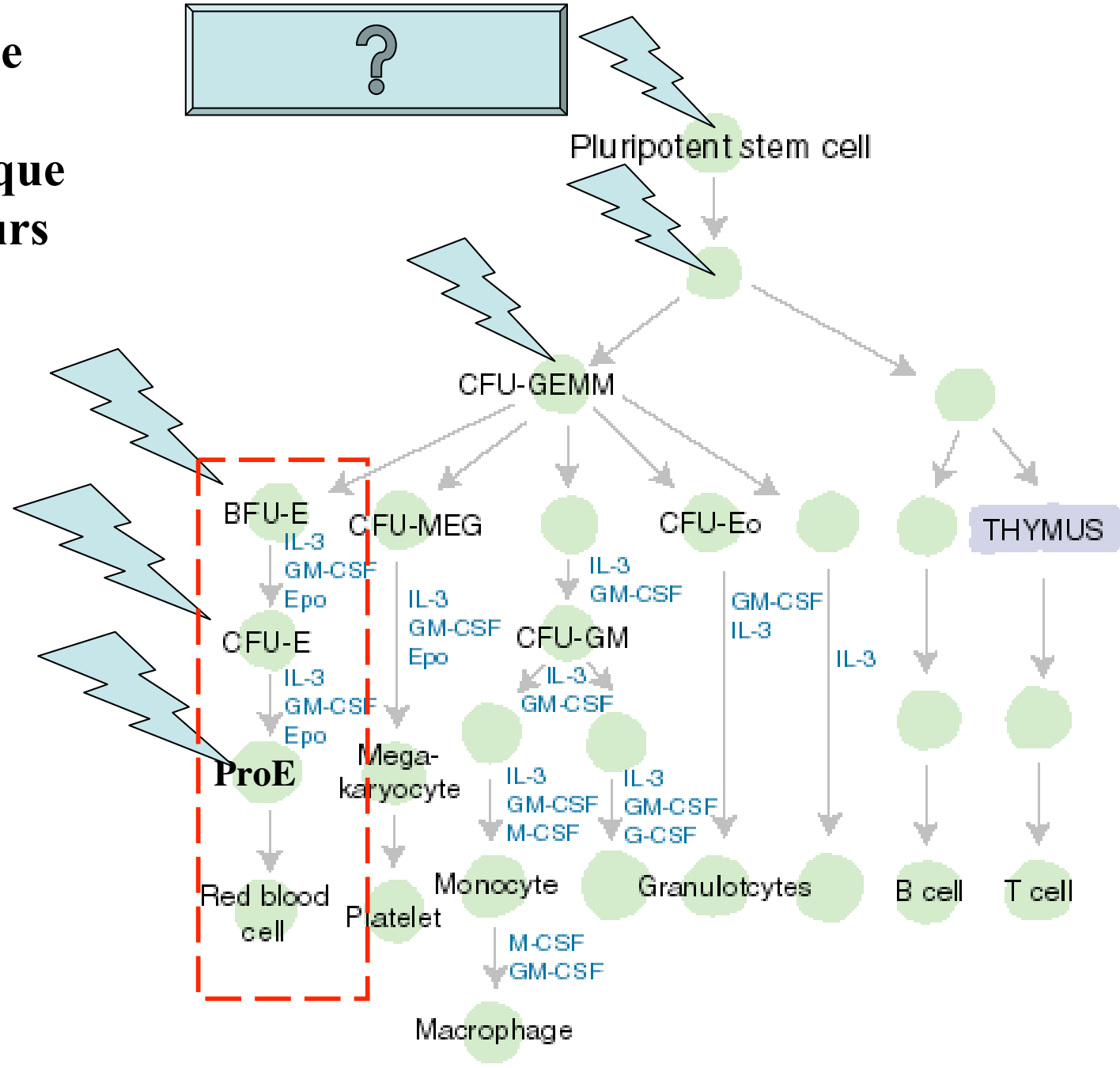
# Erythropoïèse



Et dans l'anémie de Blackfan-  
Diamond?



**Hématopoïèse  
et ABD:  
Défaut intrinsèque  
des progéniteurs  
érythroïdes**



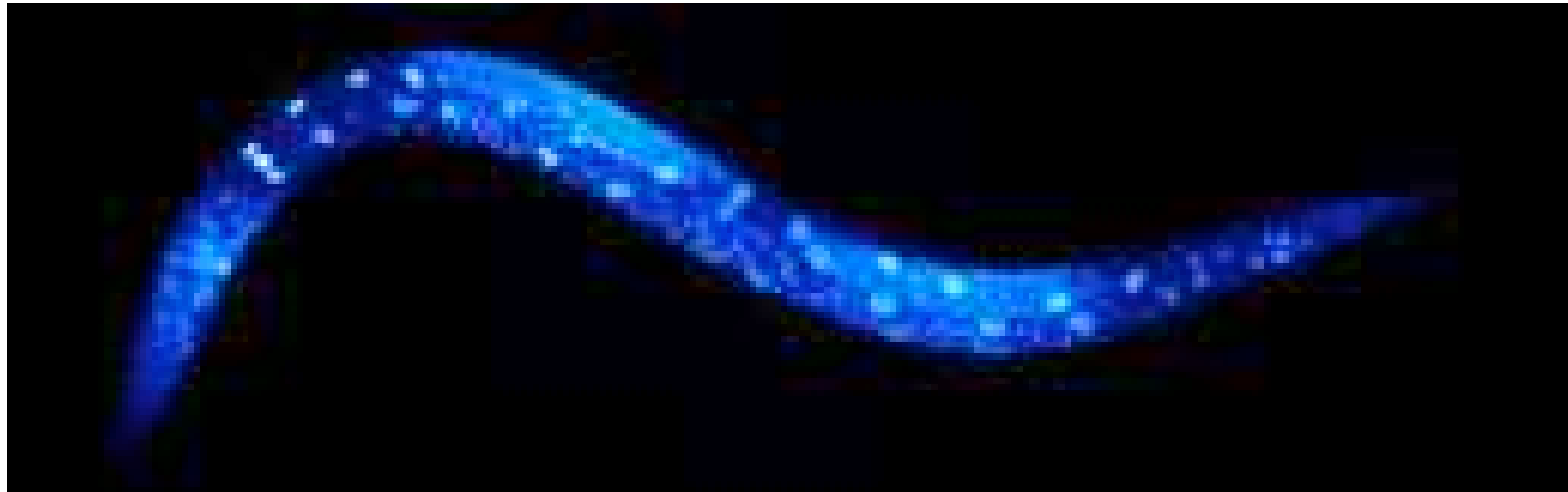
Qu'est ce qu'un ARN interinférent ou ARNi ?

# **Tout a commencé avec des pétunias.....**

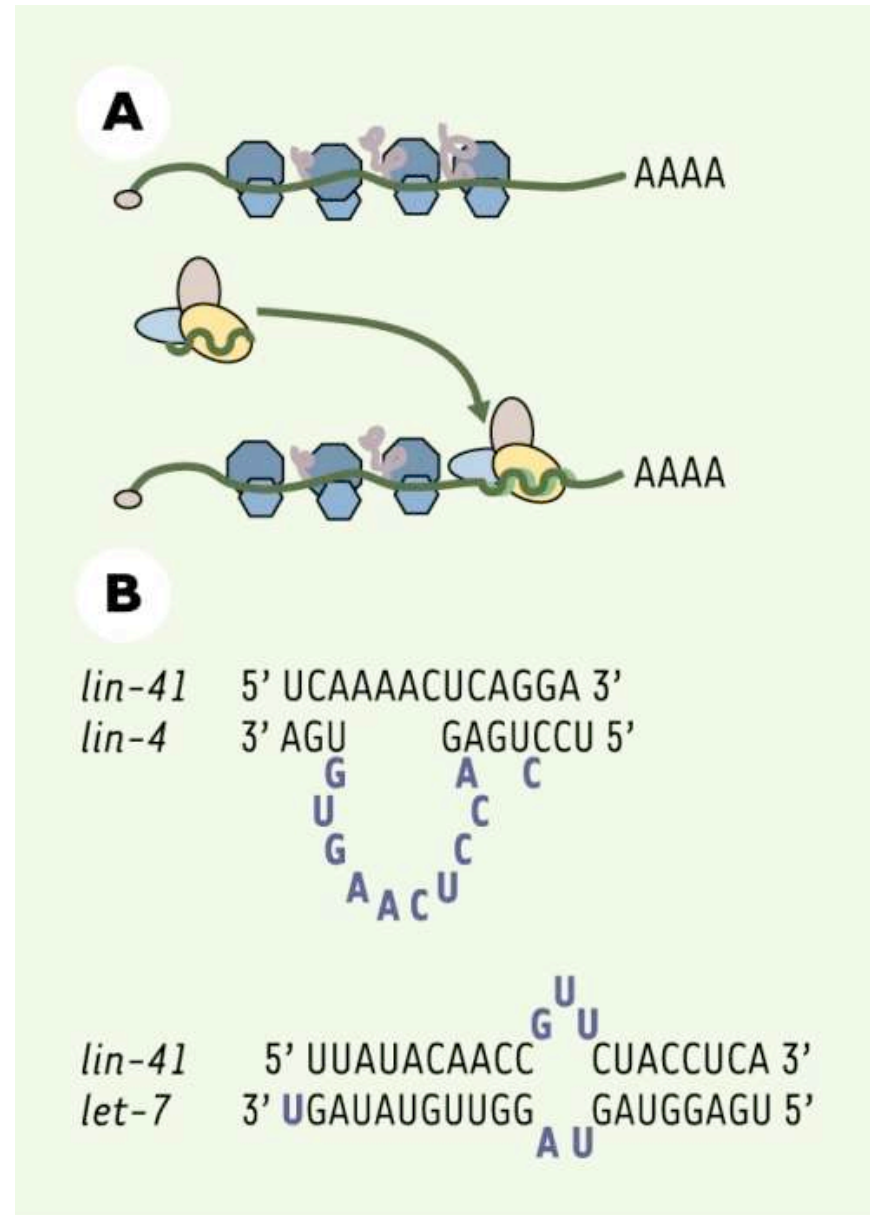
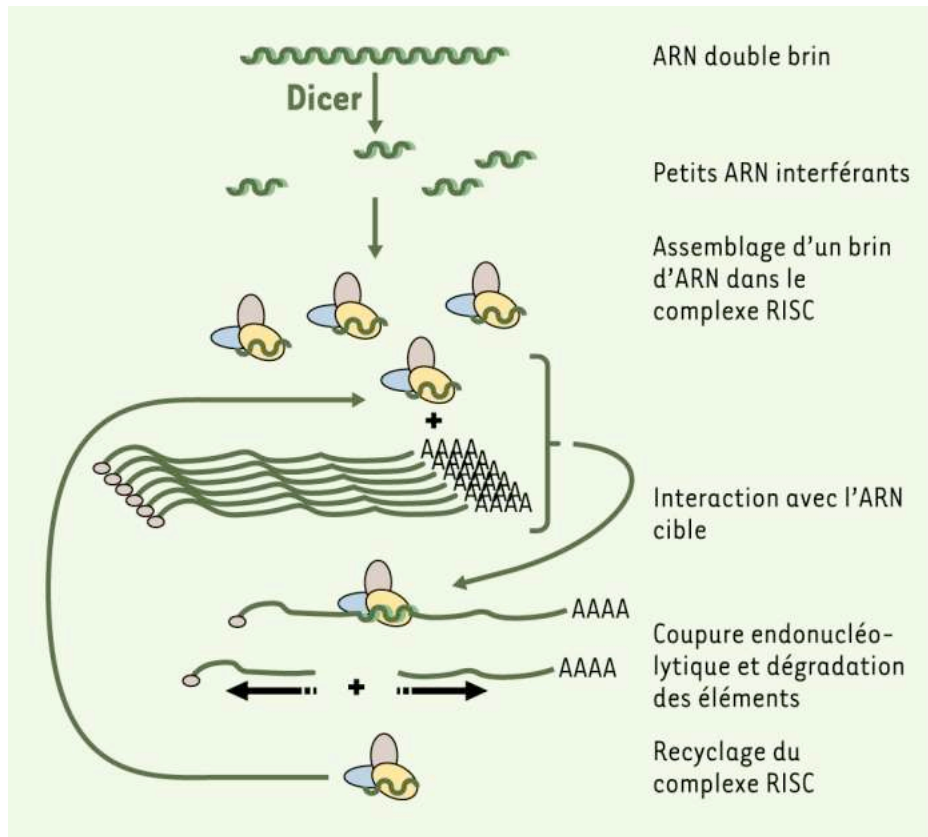


*Richard Jorgensen, Arizona, USA, 1990*

**Et puis des vers de terre....**  
**Et des mouches.....**



*Andrew Fire, Washington, USA, 1998*  
*Sharp, Cambridge, Angleterre, 1998*

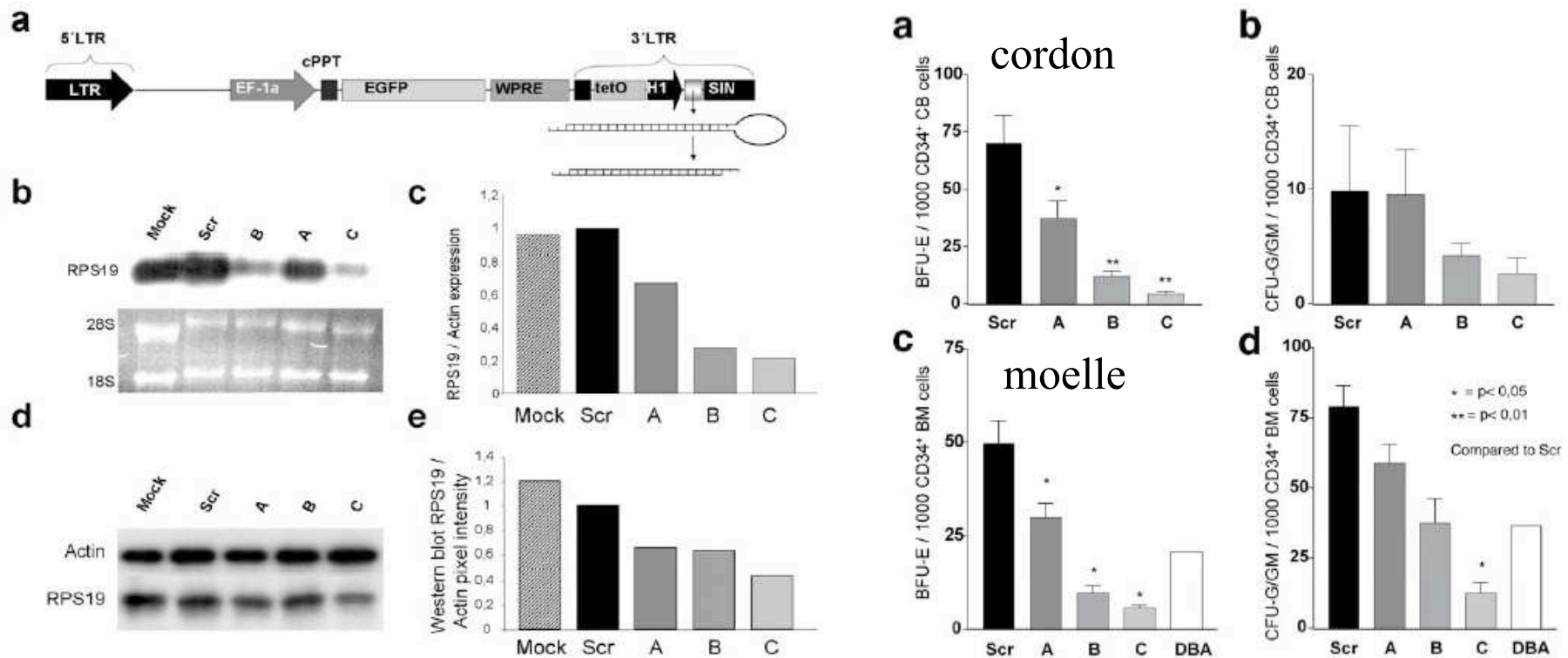


# Un merveilleux outil

- Pour les chercheurs
- Permet d'étudier la fonction des gènes en diminuant leur expression
  - Plus facile que les modèles animaux en première approche
  - Utile aussi pour les modèles animaux.
- Dès les premiers stades de développement
  
- Pour le traitement des malades : des perspectives pour l'infection VIH, la polyomyélite, cancer.....

# Inhibition de l'expression de la RPS19 diminue la prolifération et la différenciation érythrocytaire *in vitro*

Après infection de CD34<sup>+</sup>, le siRNA spécifique de l'ARNm du gène RPS19 diminue la prolifération et la différenciation érythrocytaire *in vitro* (Flygare et al, *Blood*, 2005 et Ebert et al. *Blood*, 2005, 105, 4620 - 4627).

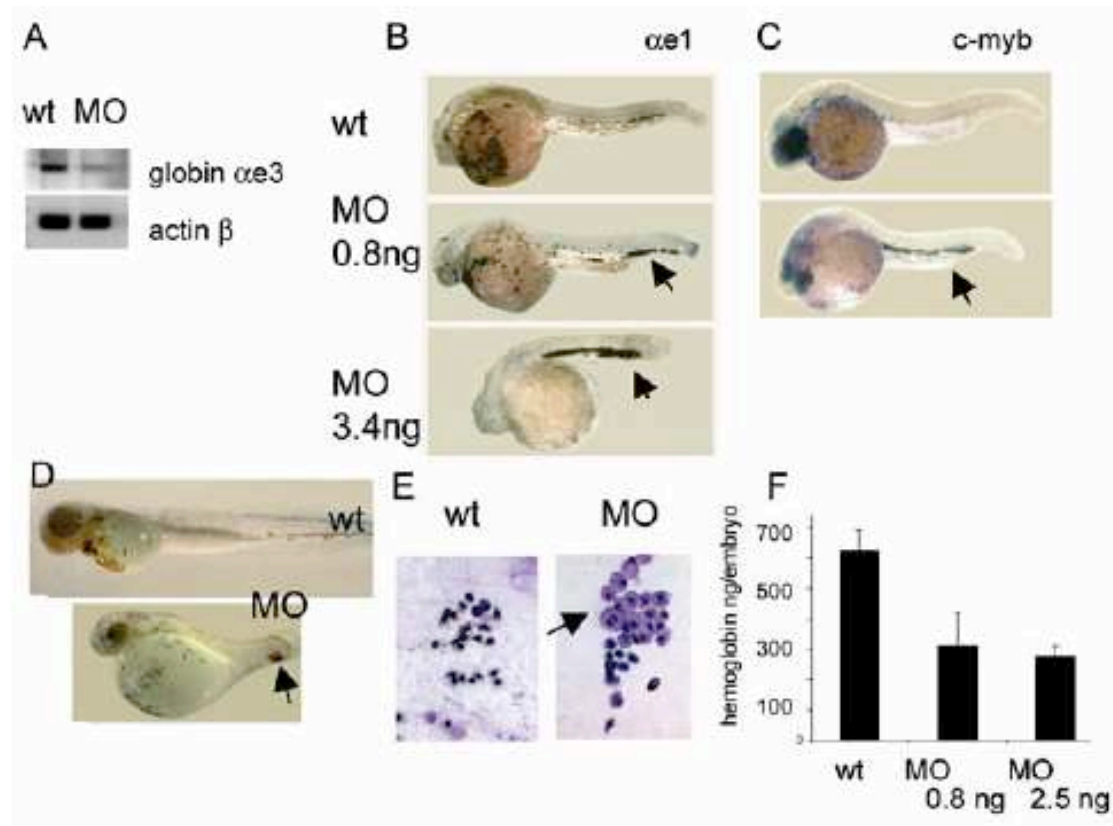


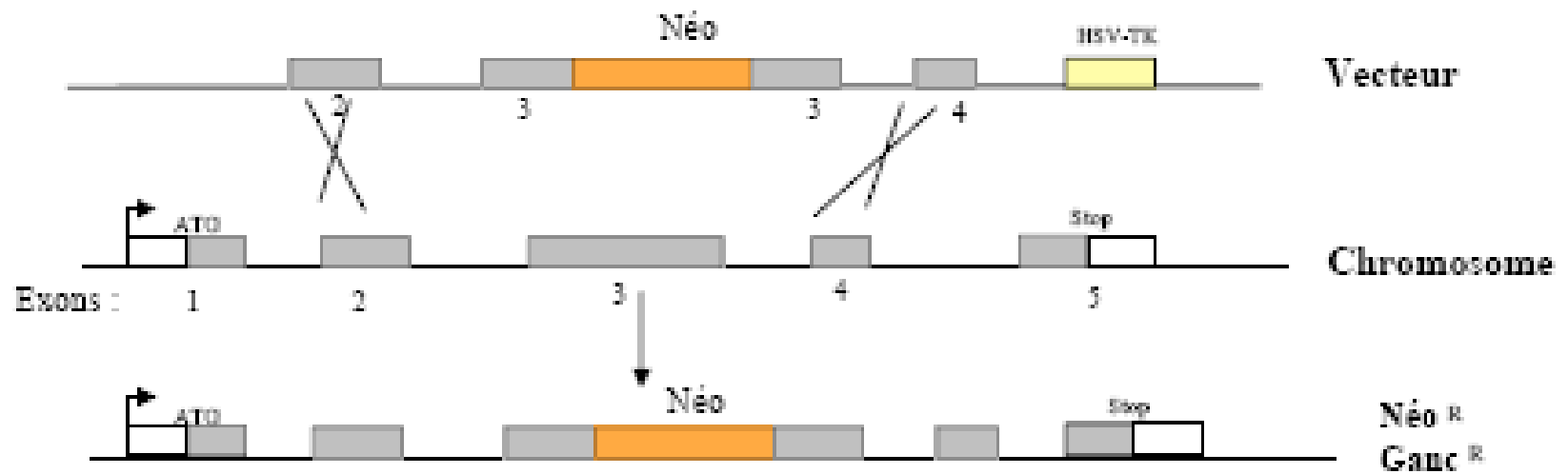


# Modèles animaux

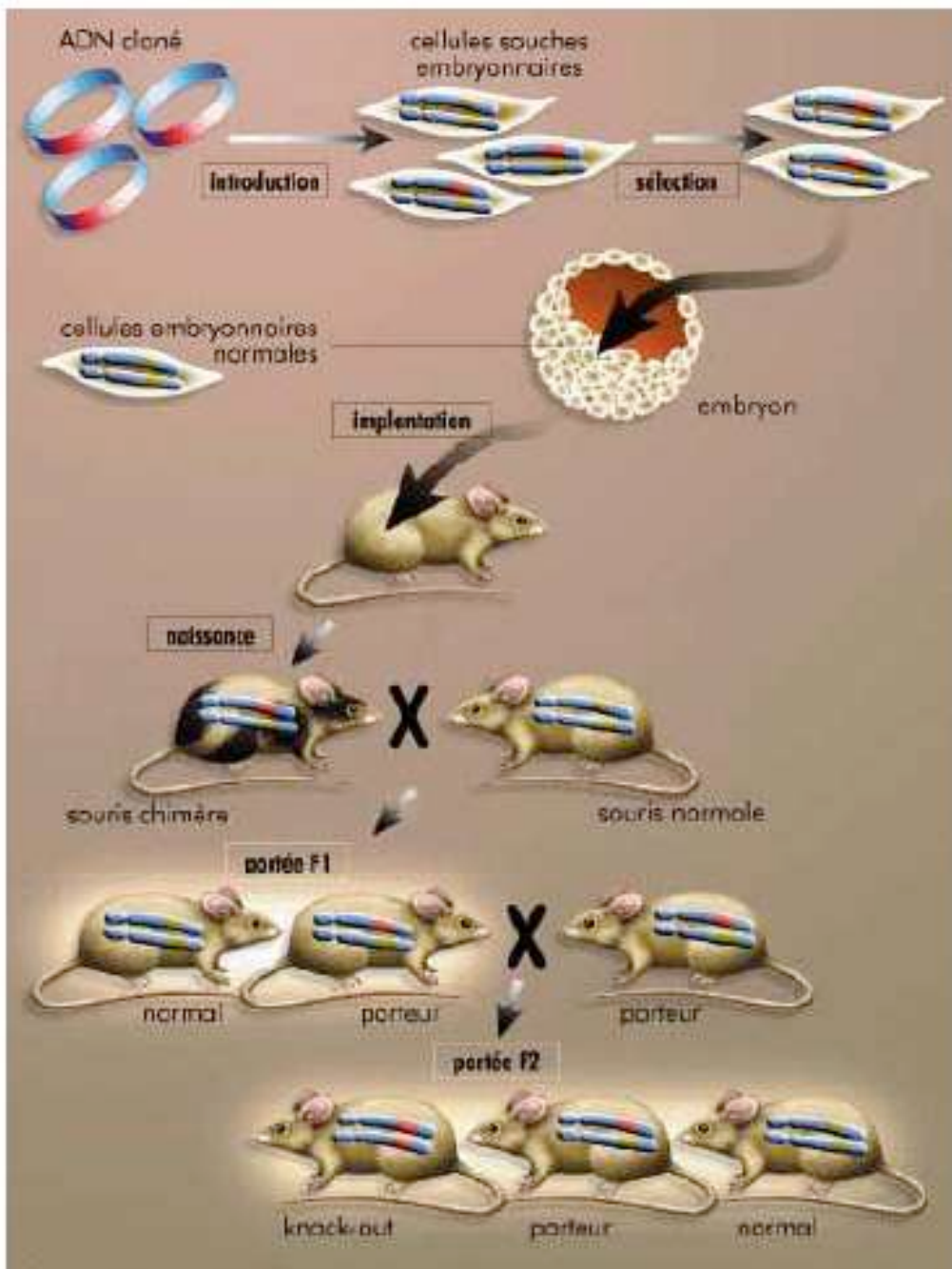
De grands progrès

# Le modèle de poisson zebrafish

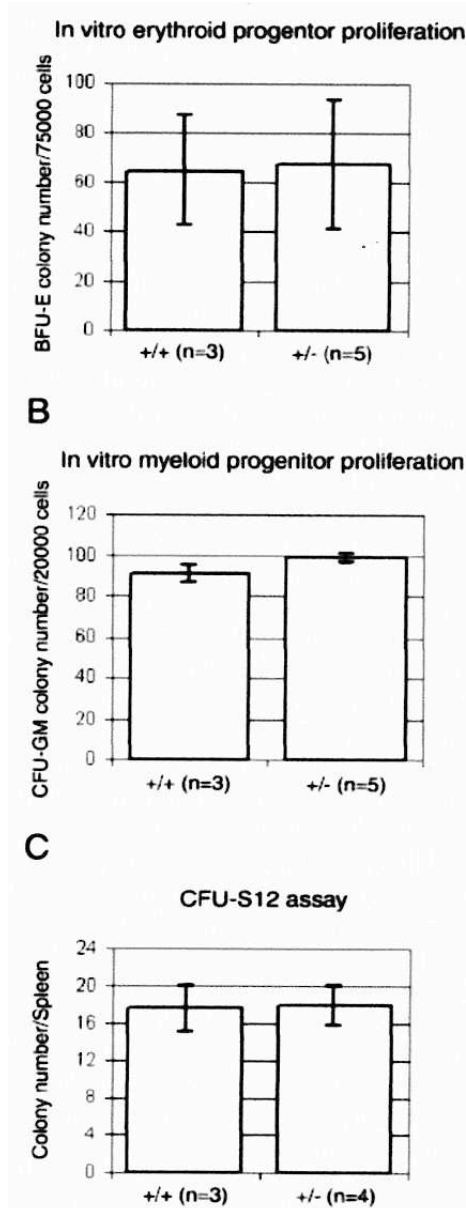




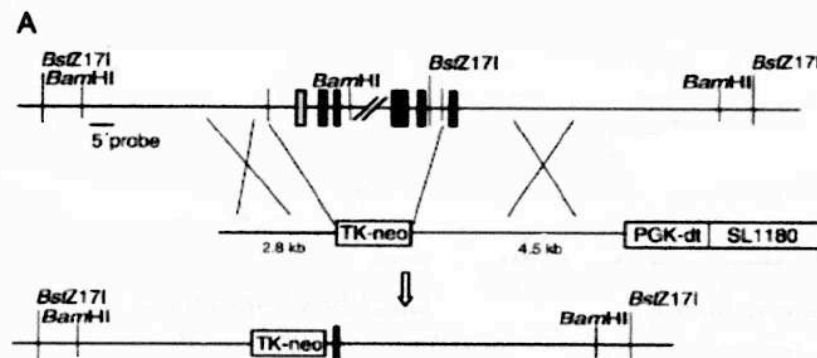
Knock-out



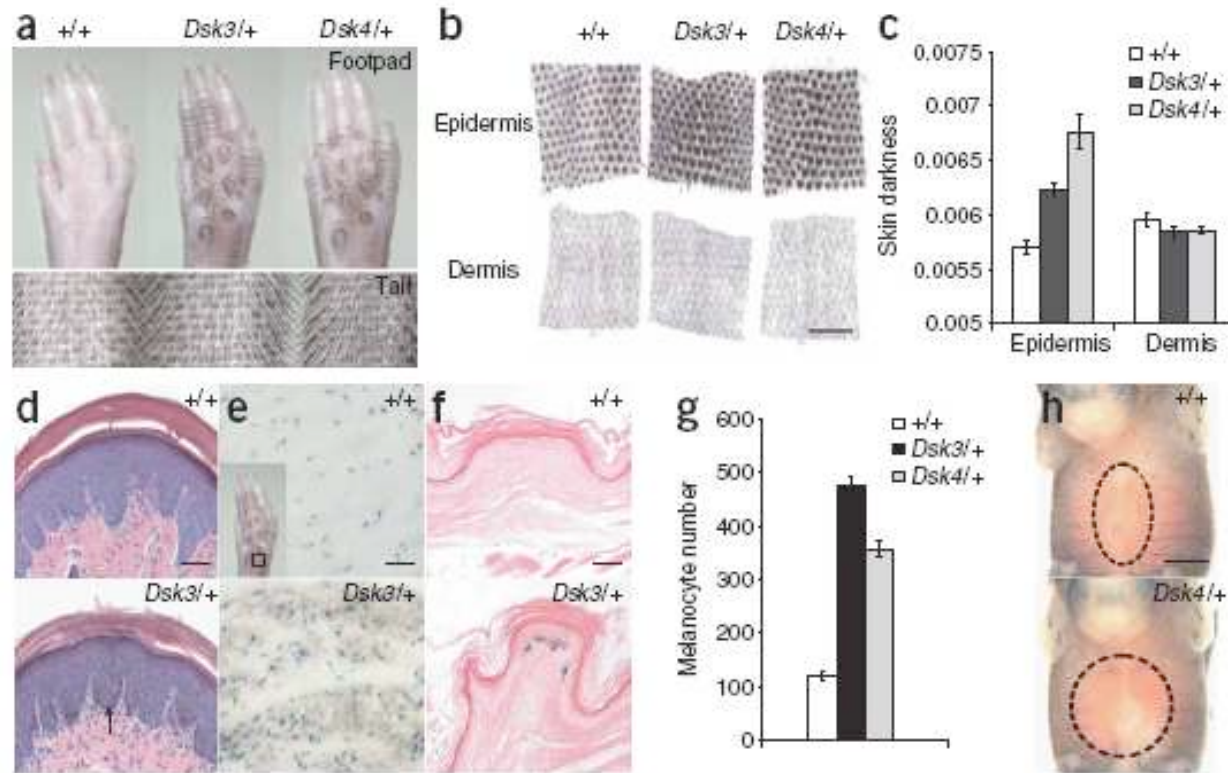
# Jusqu'ici, des modèles animaux décevants



- Un modèle de souris knock-out:
  - Équipe de Niklas Dahl, Suède
  - Souris homozygote:
    - mort très précocément, au stade de blastocystes
  - Souris hétérozygote:
    - sans phénotype d'ABD
    - absence d'anémie, pousse normale des progéniteurs érythroïdes.

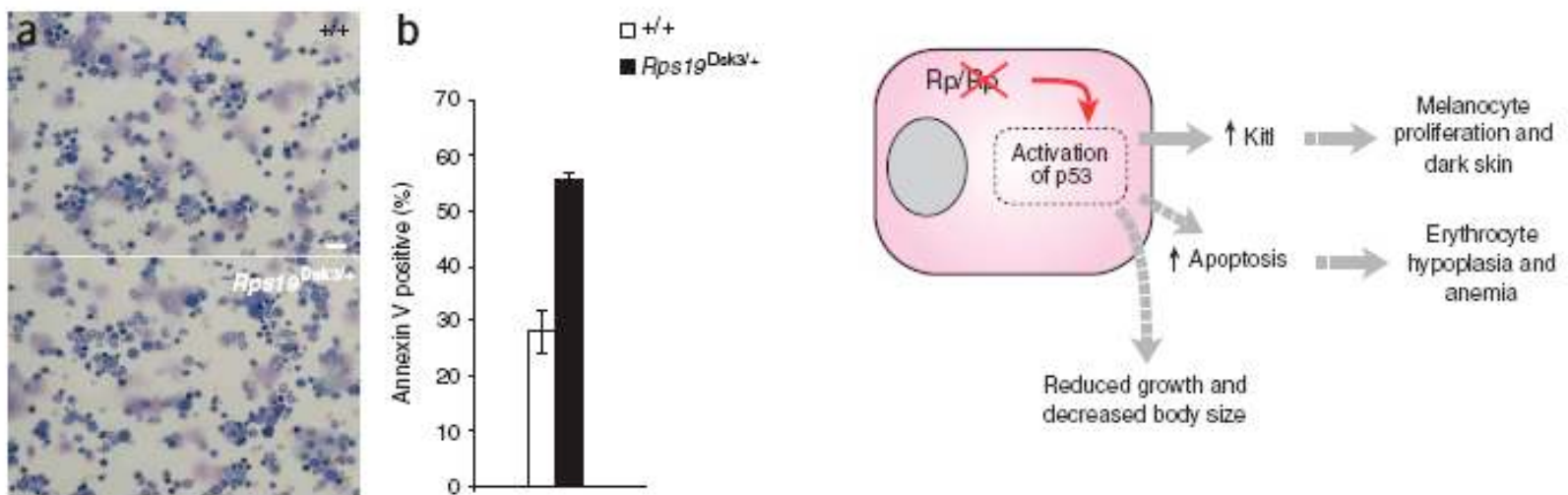


*Matsson et al.,  
Mol Cell Biol, 2004  
24: 4032-4037*



**Les souris dark skin,  
un hasard qui fait bien  
les choses!**

*McGowan et al.,  
Nature Genet, 2008*



# Inserm



Institut national  
de la santé et de la recherche médicale



## Remerciements

- L'association française, AFMBD
- L'ensemble des cliniciens, des patients DBA et leurs familles pour leur collaboration et leur aide.
- Unité INSERM 790, William Vainchenker, Villejuif, France.
- Centre de référence des maladies génétiques de l'érythrocyte et de l'érythropoïèse
- Nos collaborateurs
- La fondation Daniella Marie Arturi
- la fondation DBA, Etats-Unis.
- Ce projet est financé par le grant NIH n°1R01HL079565-01, ANR.