



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

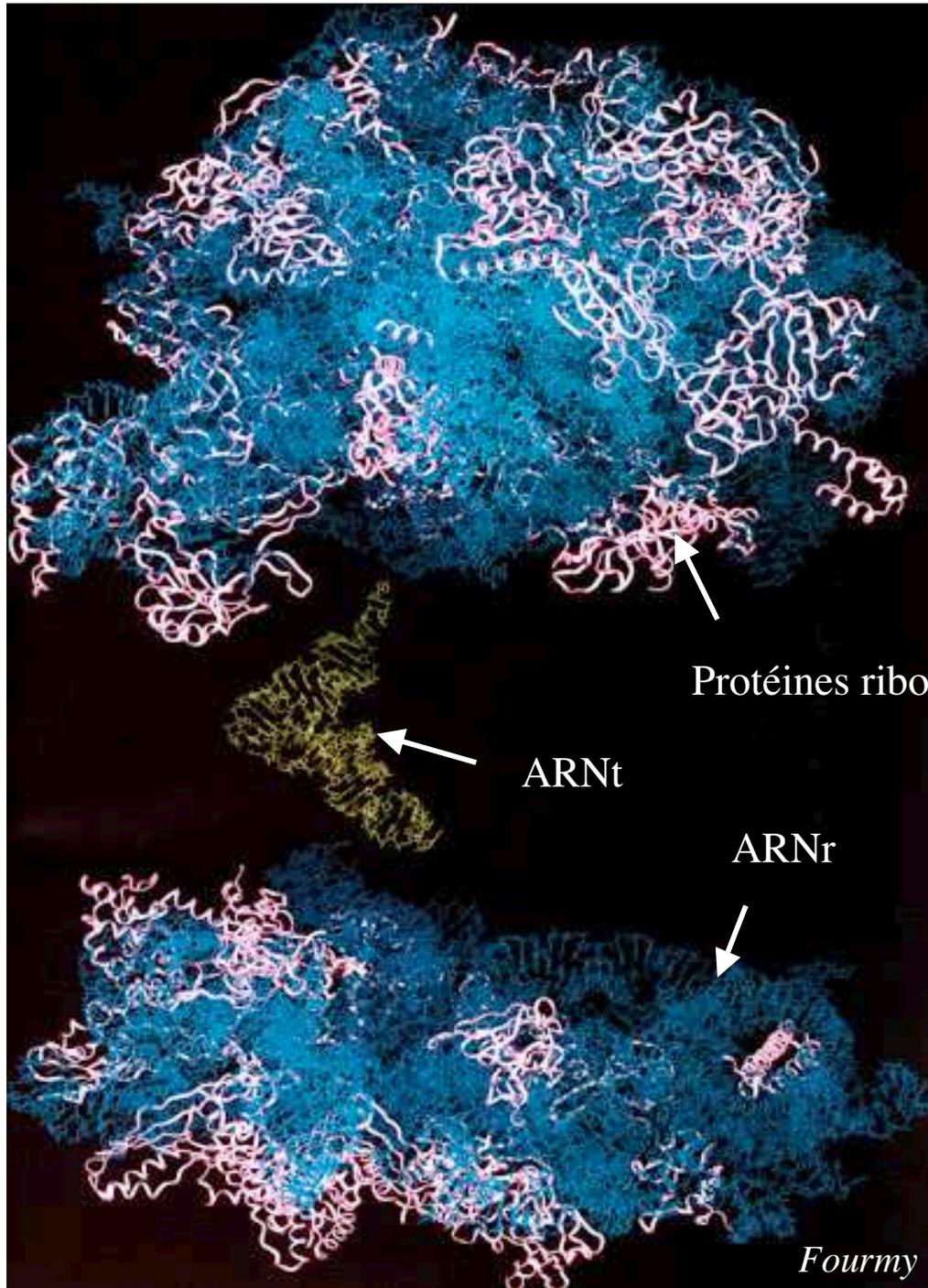
⇒ Gène *rpL5* (9%) et *rpL11* (7%), autres gènes mutés : *rps7*, *rps27a*, *rps15*, *rpL36*, (*Gazda et al., ASH 2007*), *rps17* (*Gazda et al., ASH 2007; Cmejla et al., 2007*)

⇒ 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



Protéines ribosomiques

ARNt

ARNr

Petite sous-unité ribosomique

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

Composition d'un ribosome eucaryote

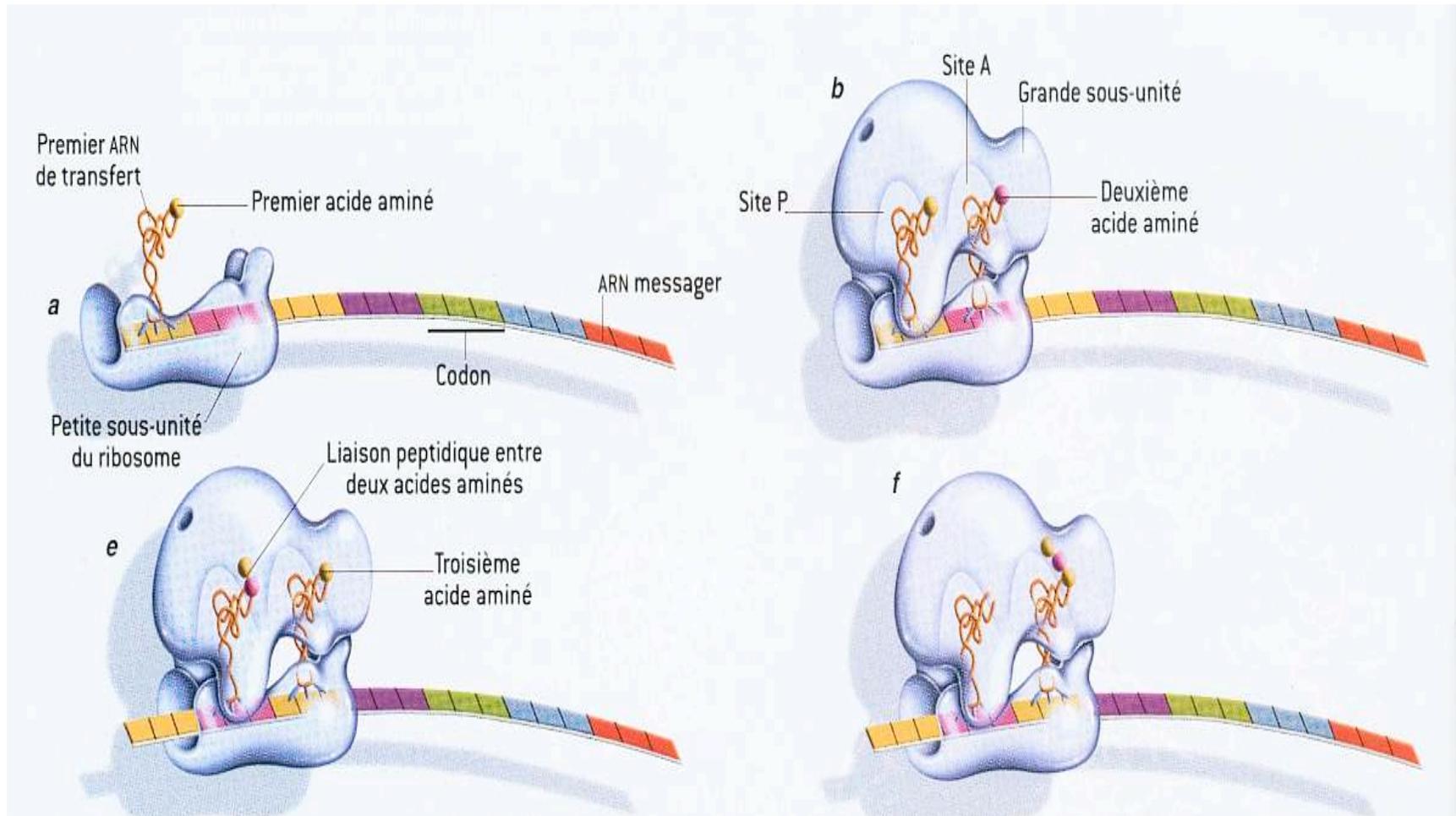
Composition of both ribosome subunits :

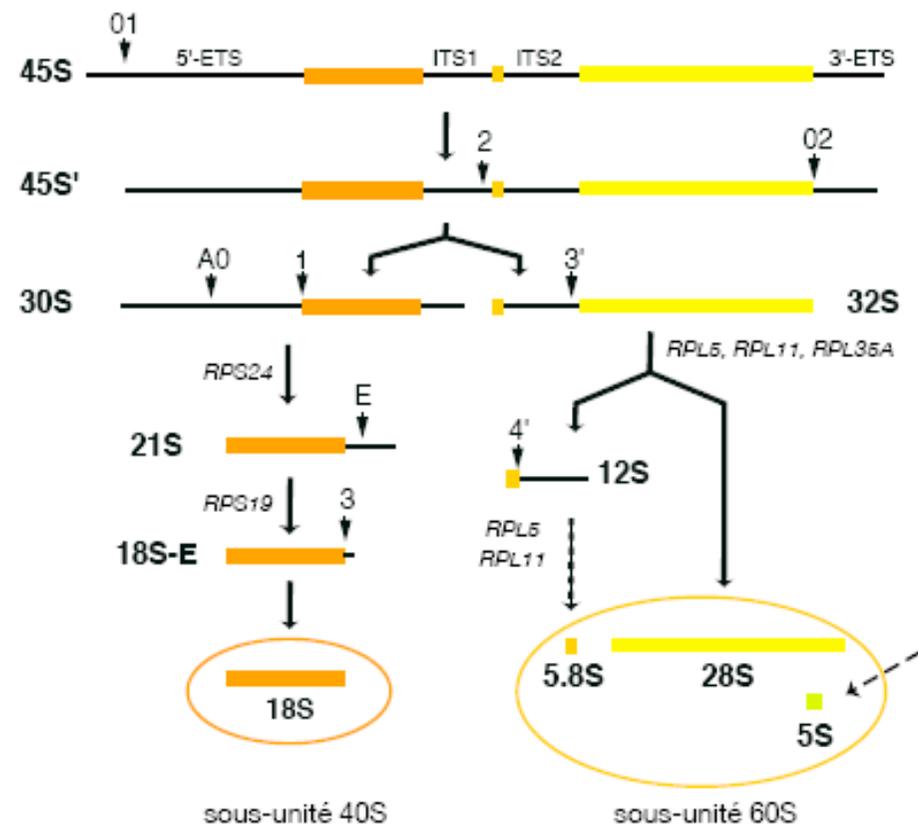
	Eukaryotes
Large subunit	
Sedimentation	60S
Number of proteins	42
rRNA	5S (120-121nt) 5.8S (158-160nt) 25S (3392-4718nt)
Small subunit	
Sedimentation	40S
Number of proteins	32
rRNA	18S (1798-1874nt)

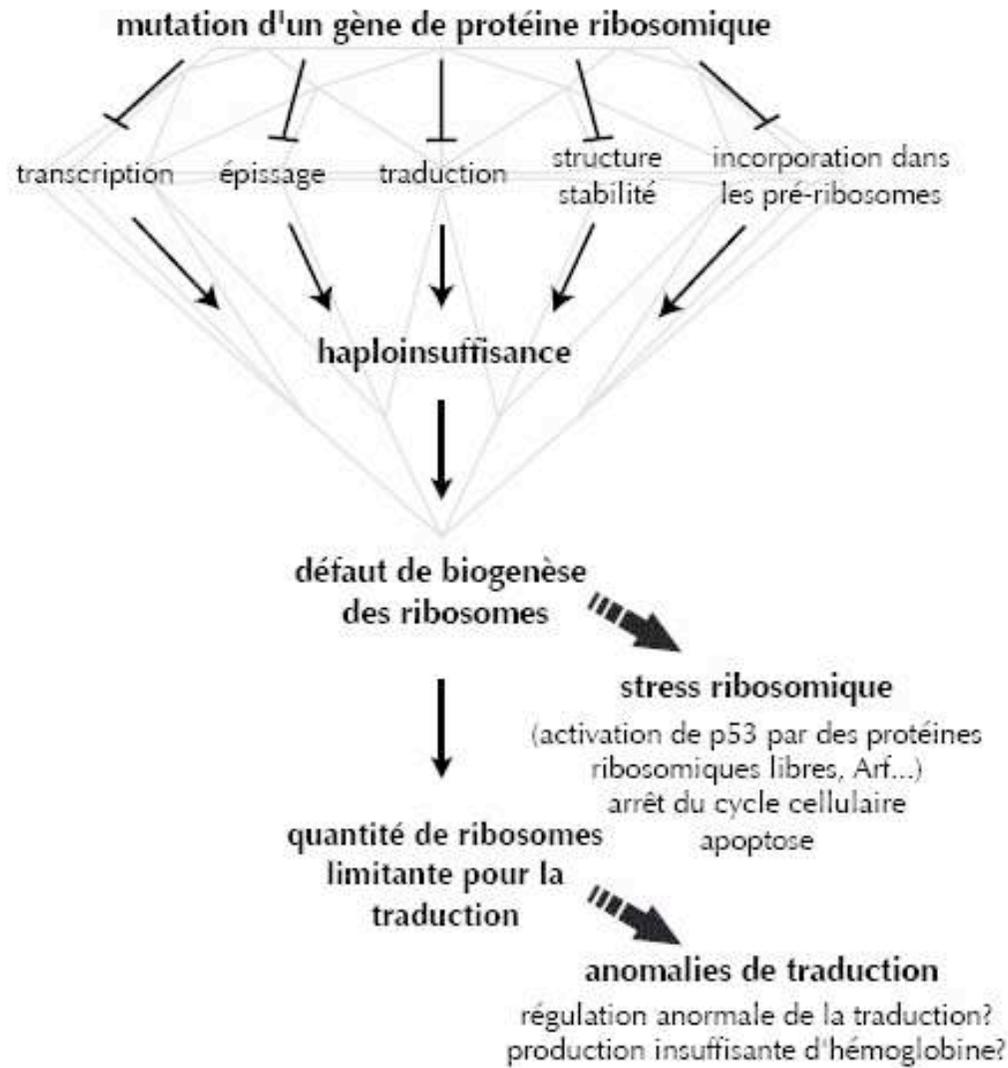
rRNA : ribosomal RNA; nt : nucleotide

Synthèse des protéine

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



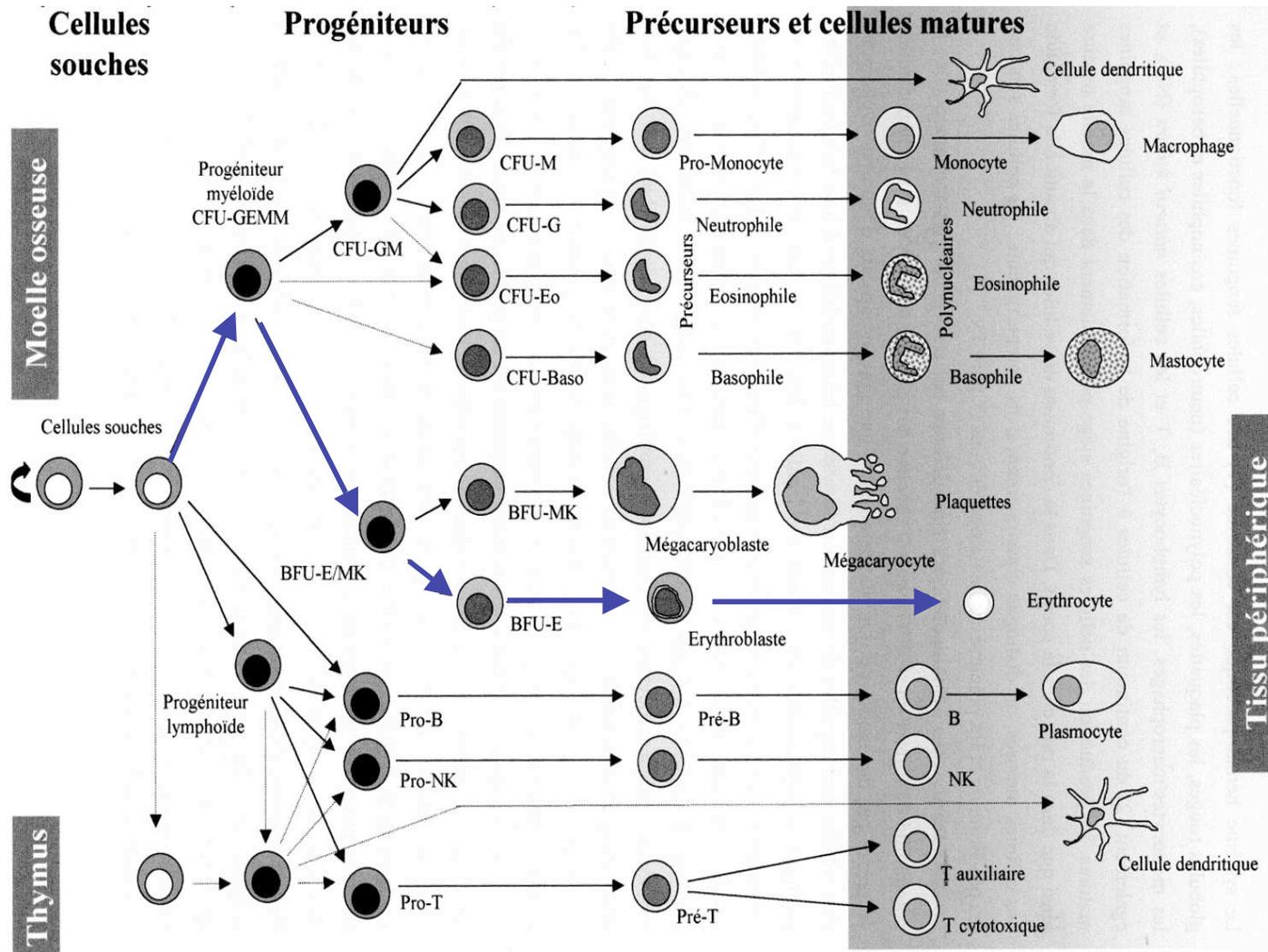




M/S, à paraître

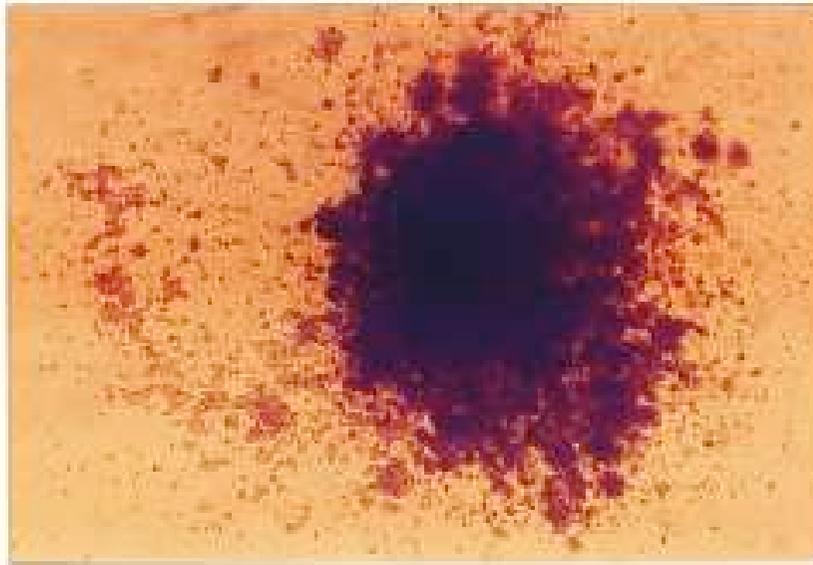
Cellules érythroïdes Humaines

Différents compartiments médullaires du système hématopoïétique

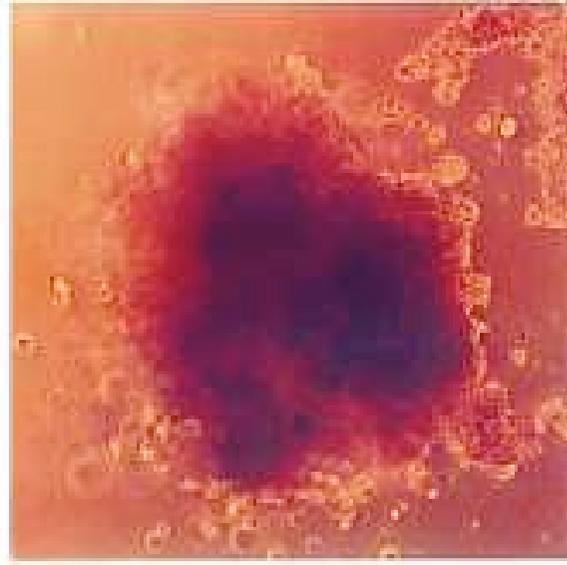


am:

CFU-GEMM



BFU-E

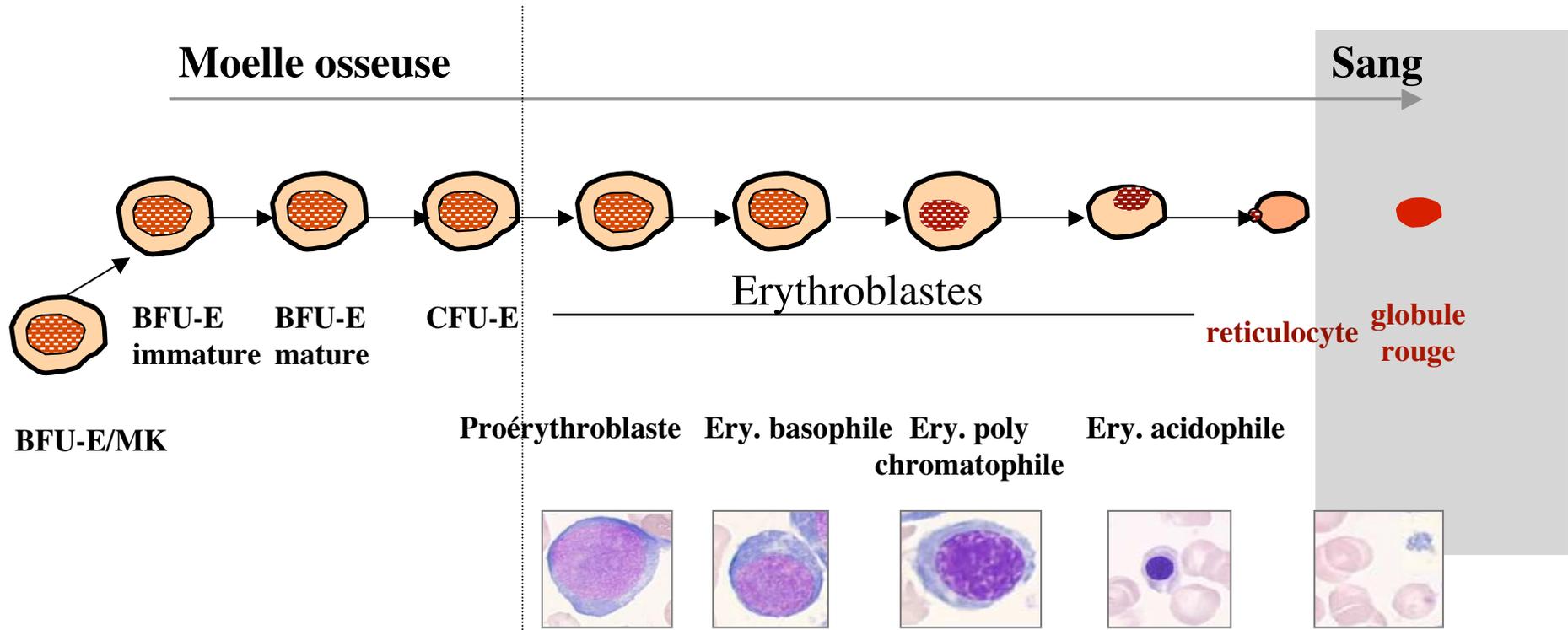


CFU-E



Erythropoïèse précoce

Erythropoïèse tardive

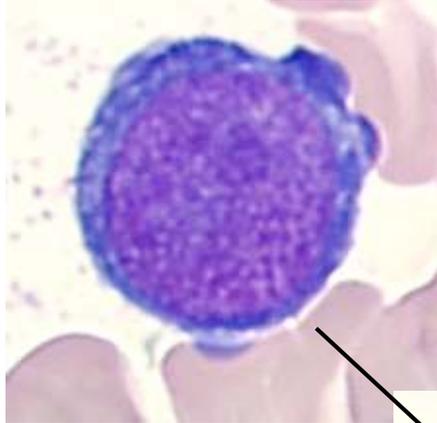


Progéniteurs

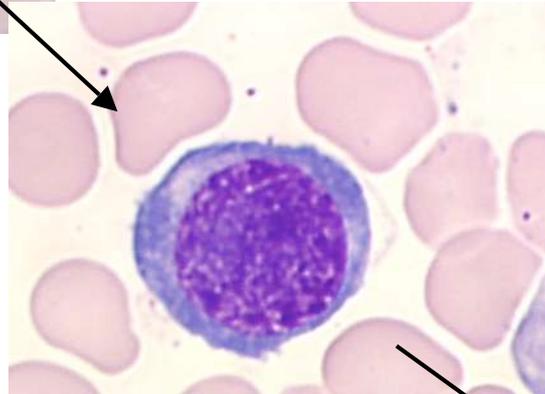
Précurseurs

Erythropoïèse

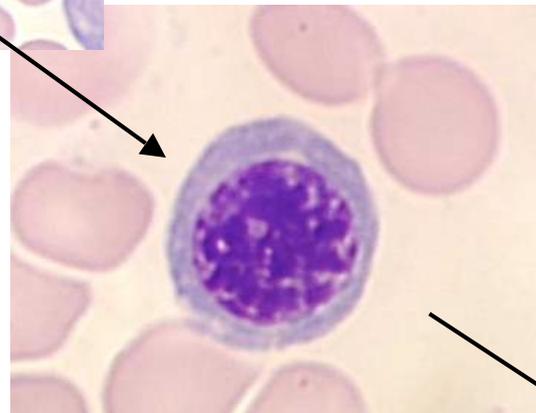
La lignée érythroblastique



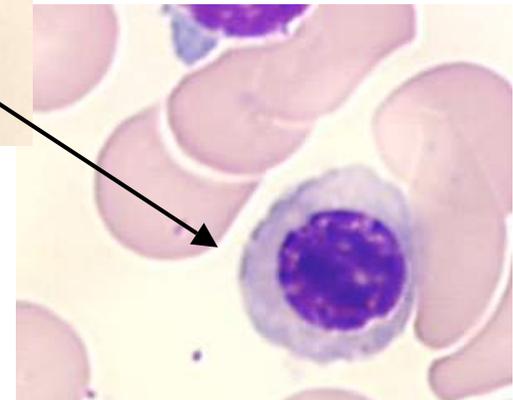
PROER
Proérythroblaste



ERB
Érythroblaste basophile

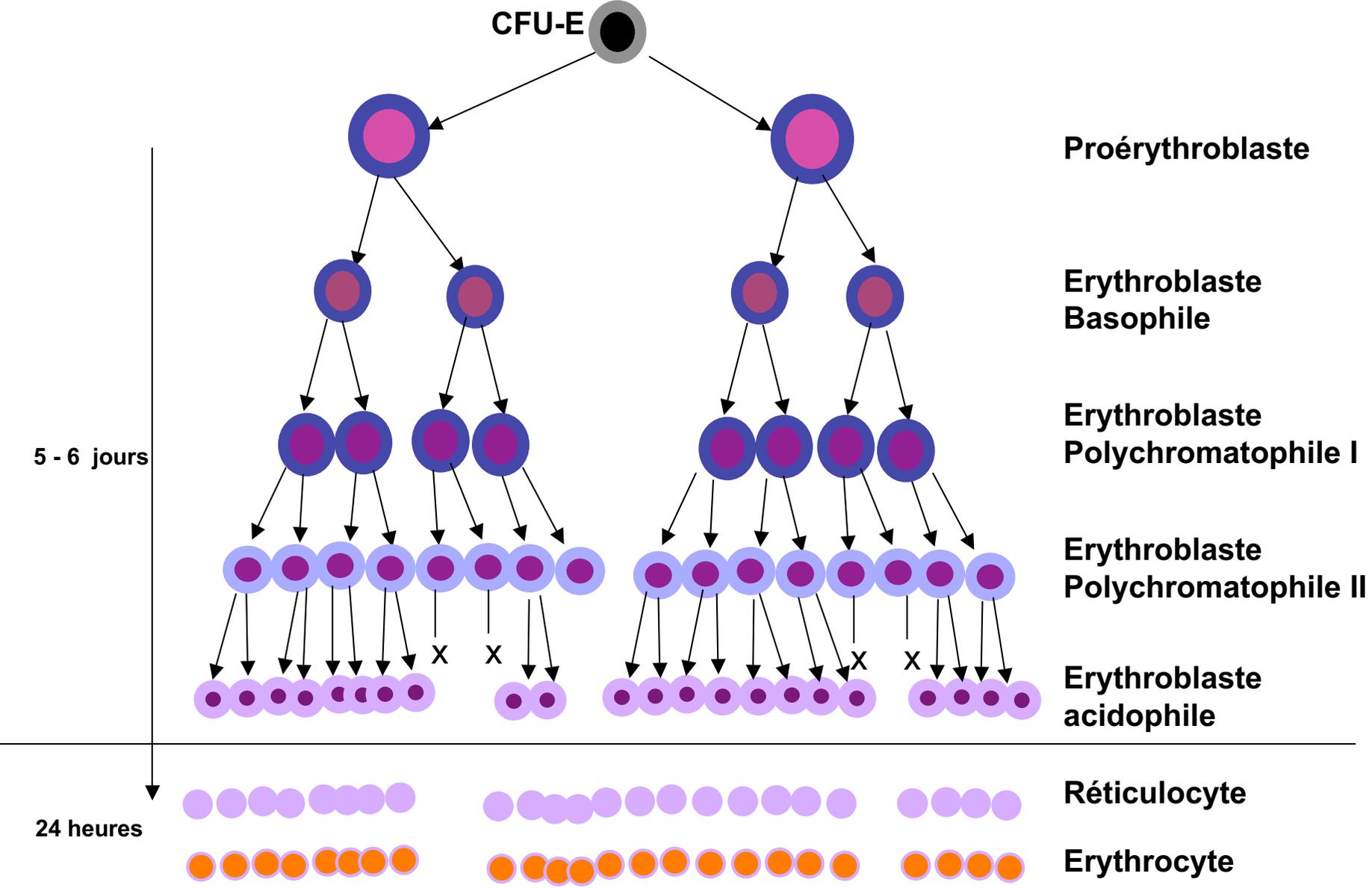


ERP
Érythroblaste
polychromatophile



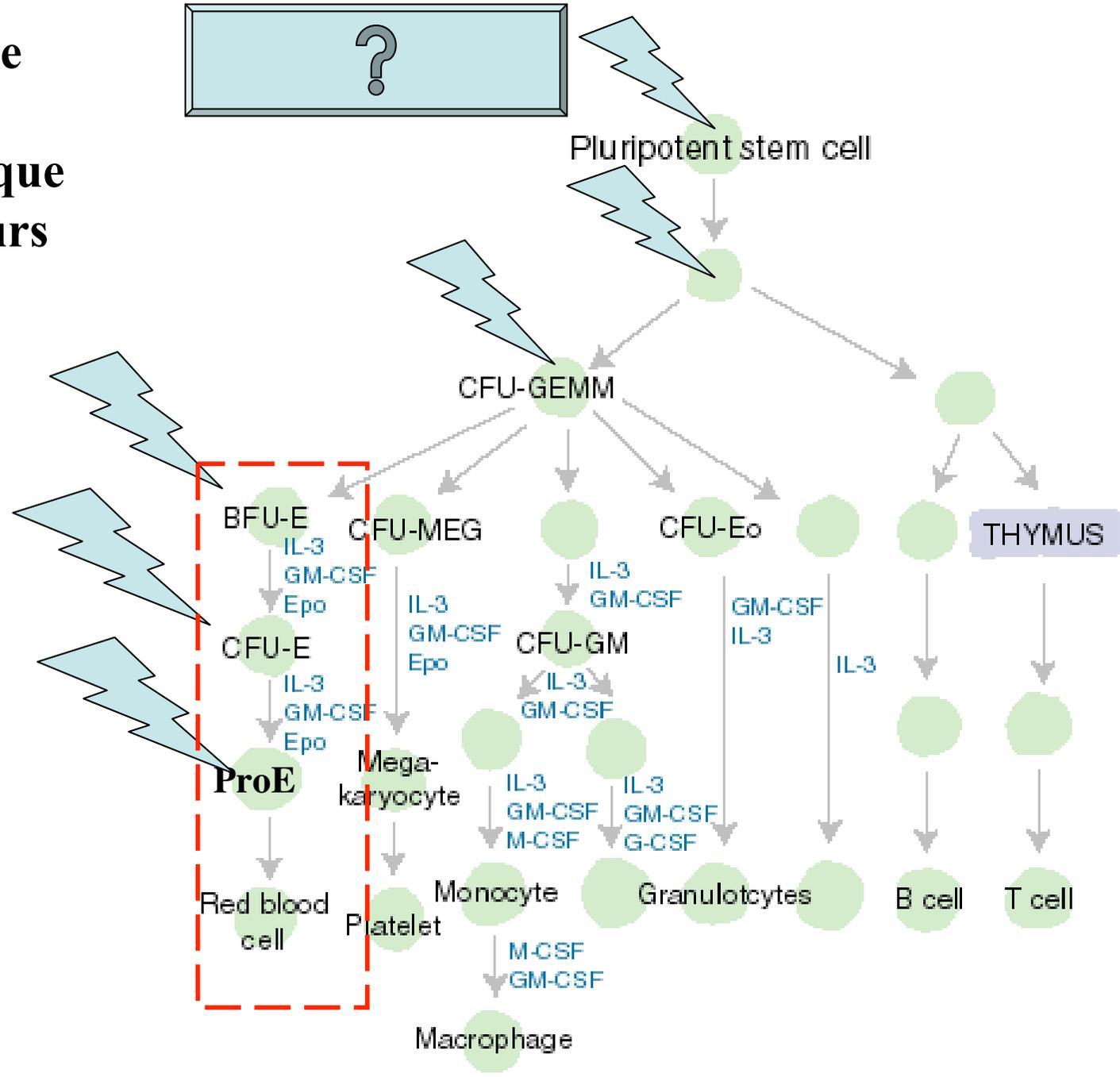
ERA
Érythroblaste acidophile

Erythropoïèse



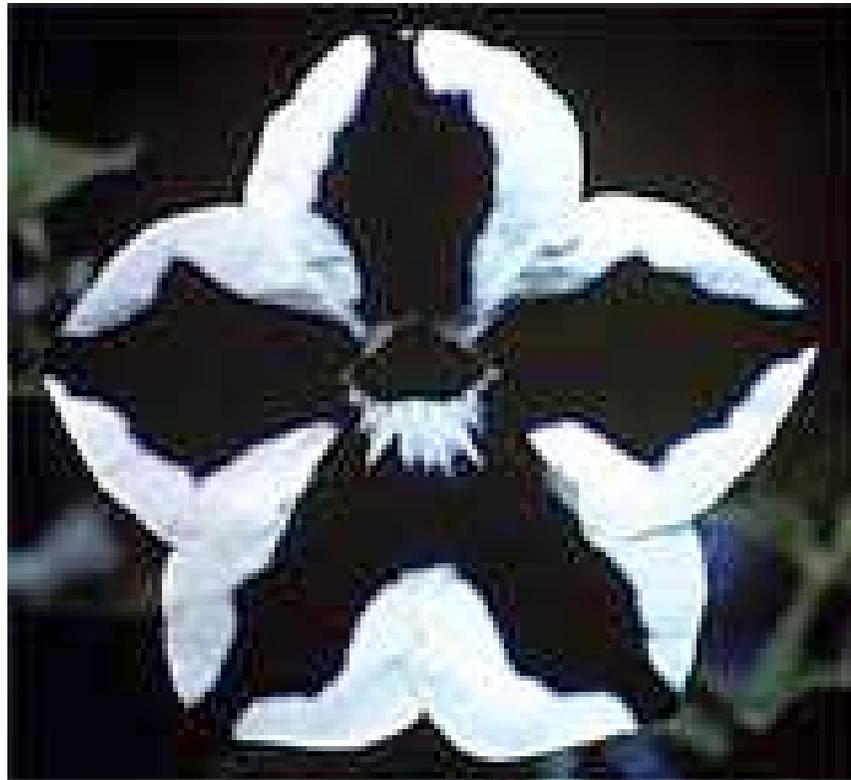
Et dans l'anémie de Blackfan-Diamond?

**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

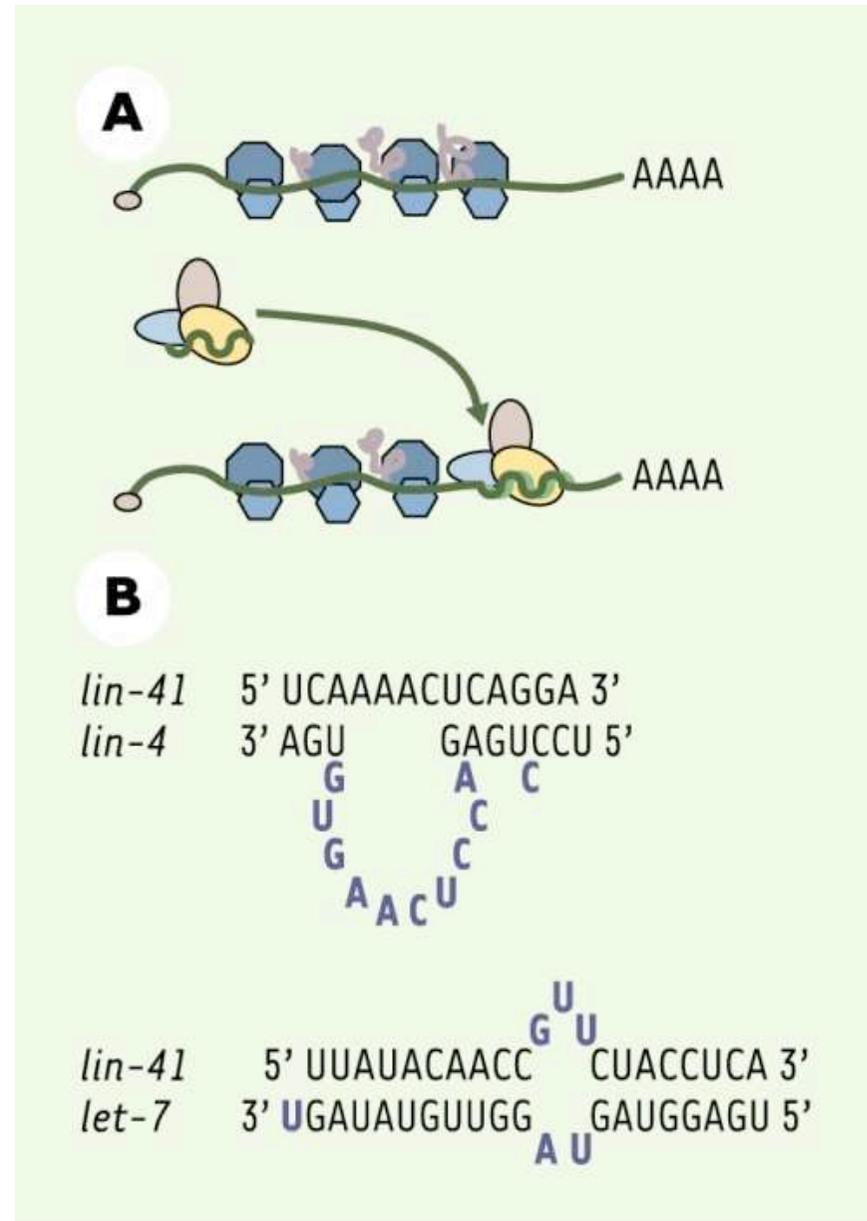
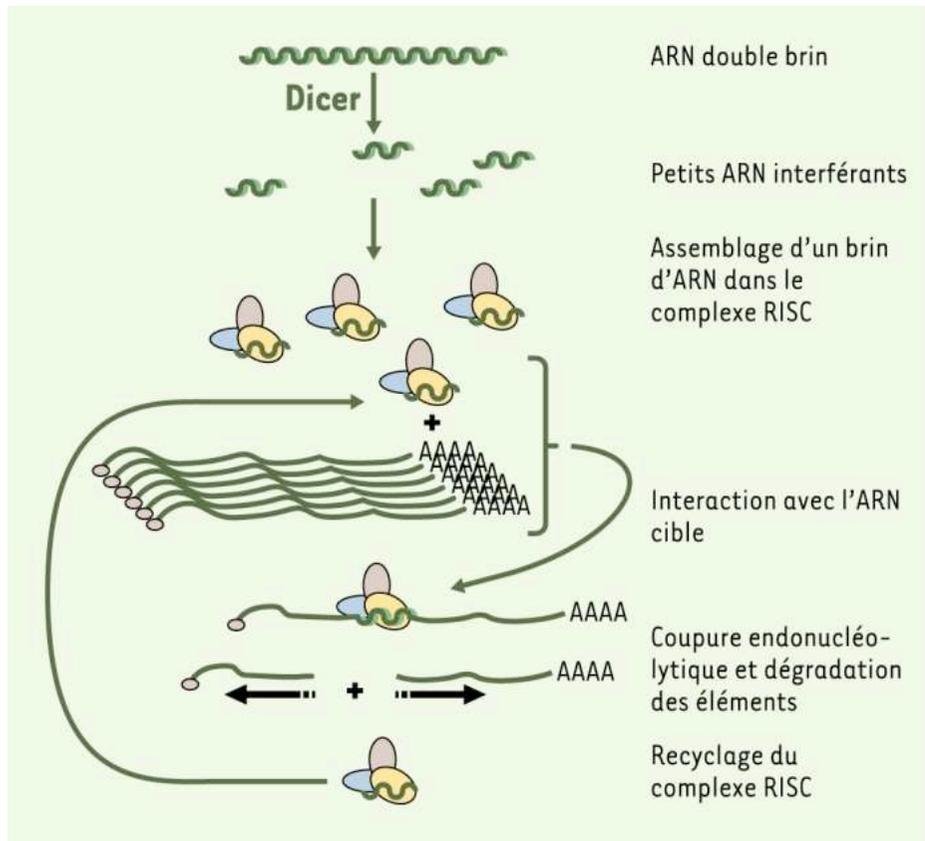
Et puis des vers de terre....

Et des mouches.....



Andrew Fire, Washington, USA, 1998

Sharp, Cambridge, Angleterre, 1998



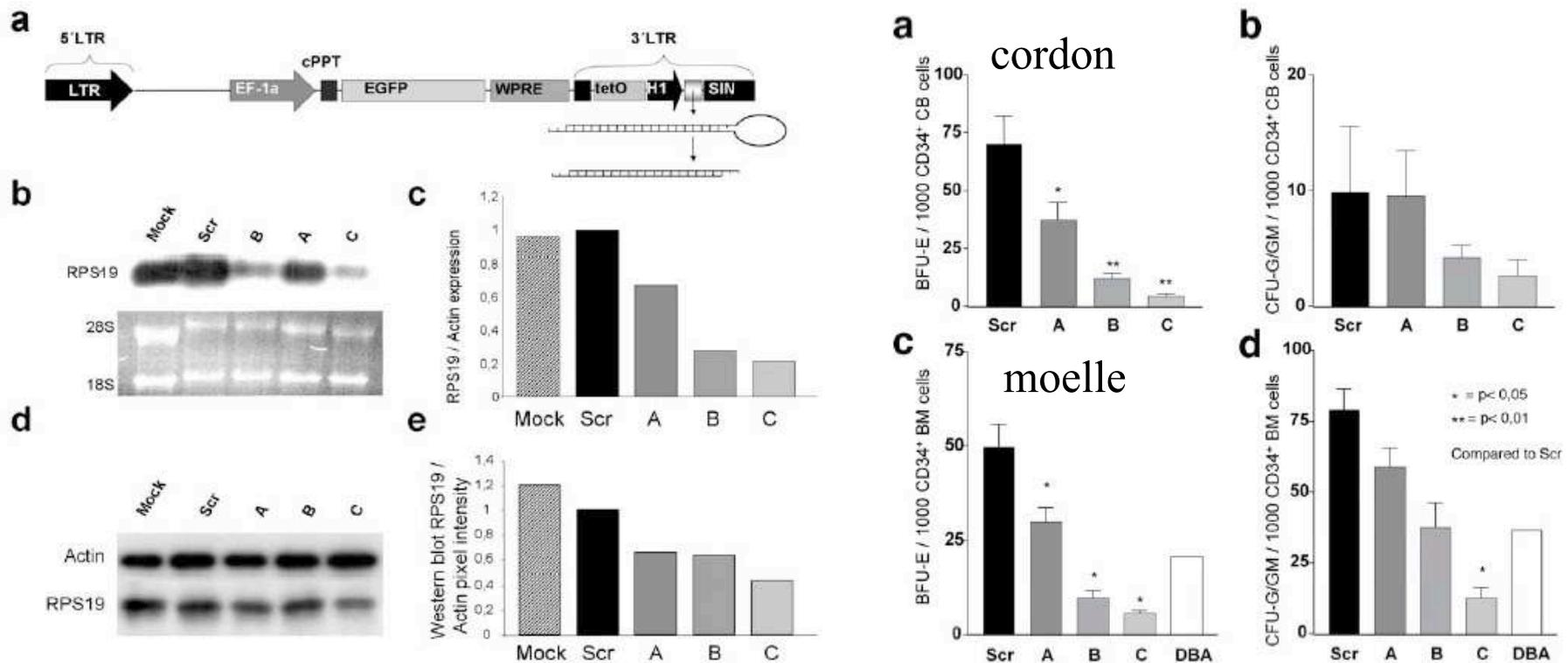
Un merveilleux outil

- 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*

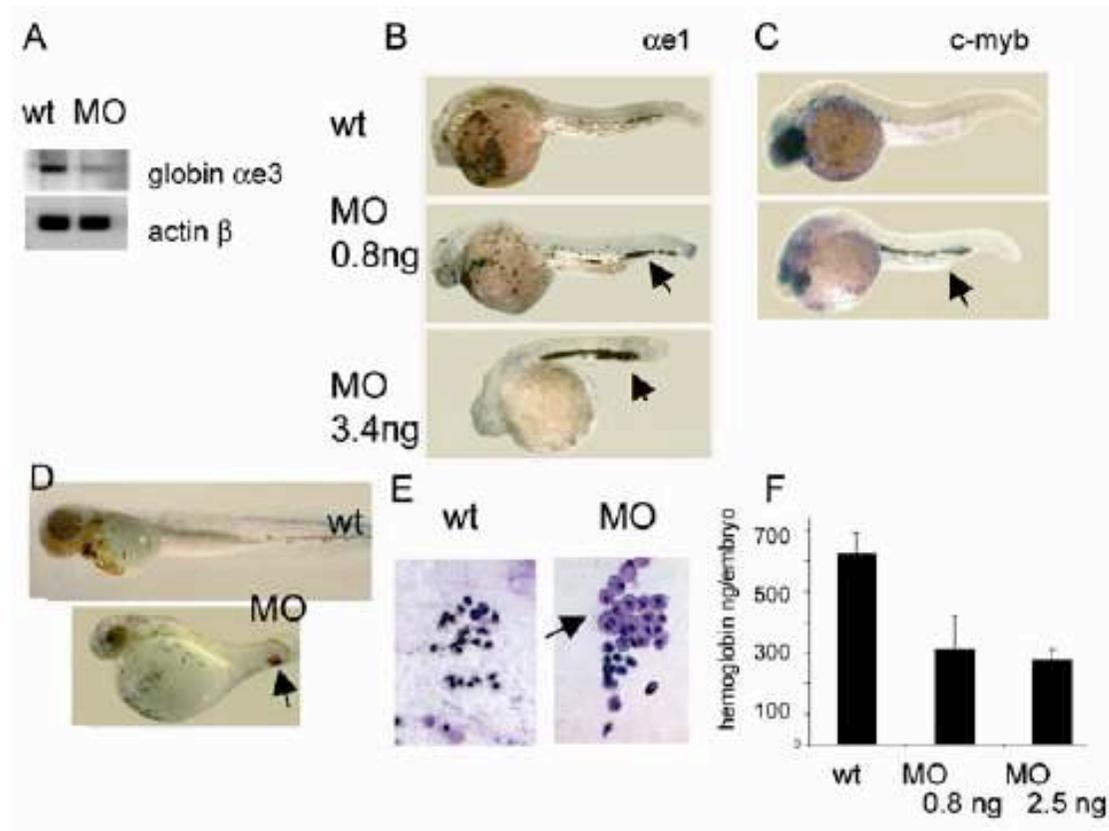
Après infection de CD34⁺, le siRNA spécifique de l'ARNm du gène RPS19 diminue la prolifération et la différenciation érythrocytaire *in vitro* (Flygare et al, *Blood*, 2005 et Ebert et al. *Blood*, 2005, 105, 4620 - 4627).

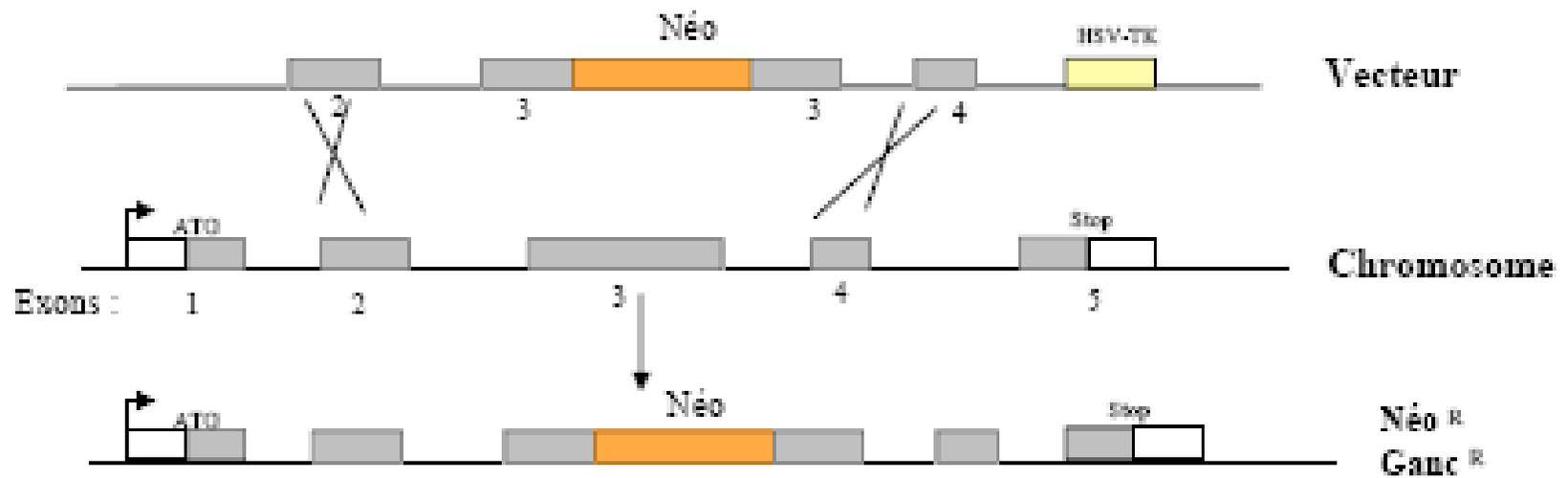


Modèles animaux

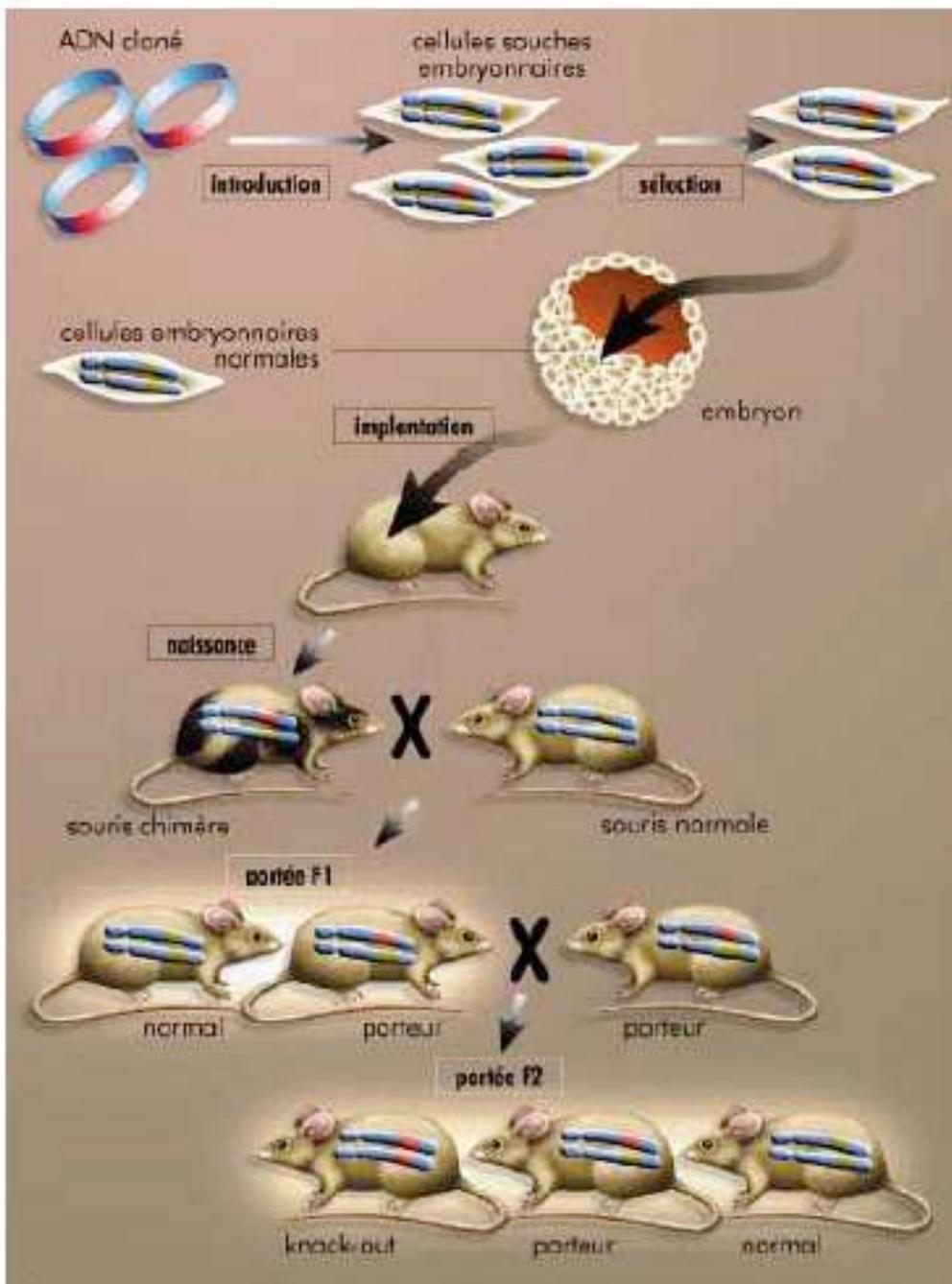
De grands progrès

Le modèle de poisson zebrafish

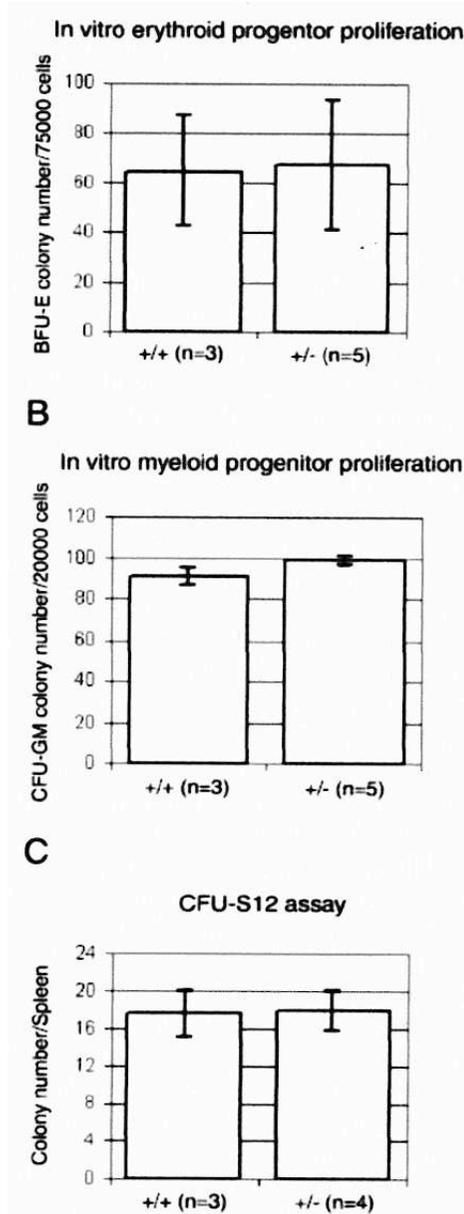




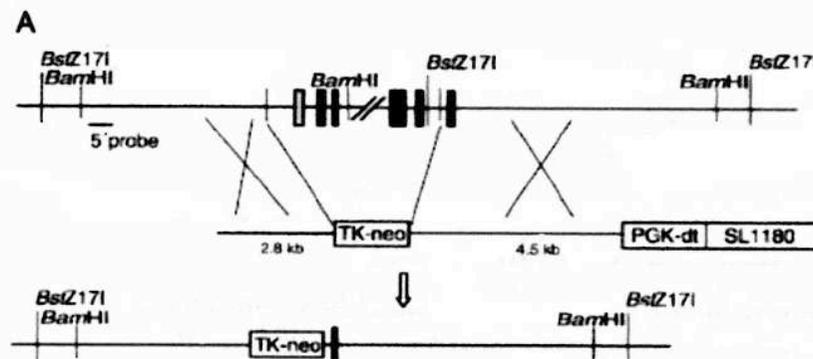
Knock-out



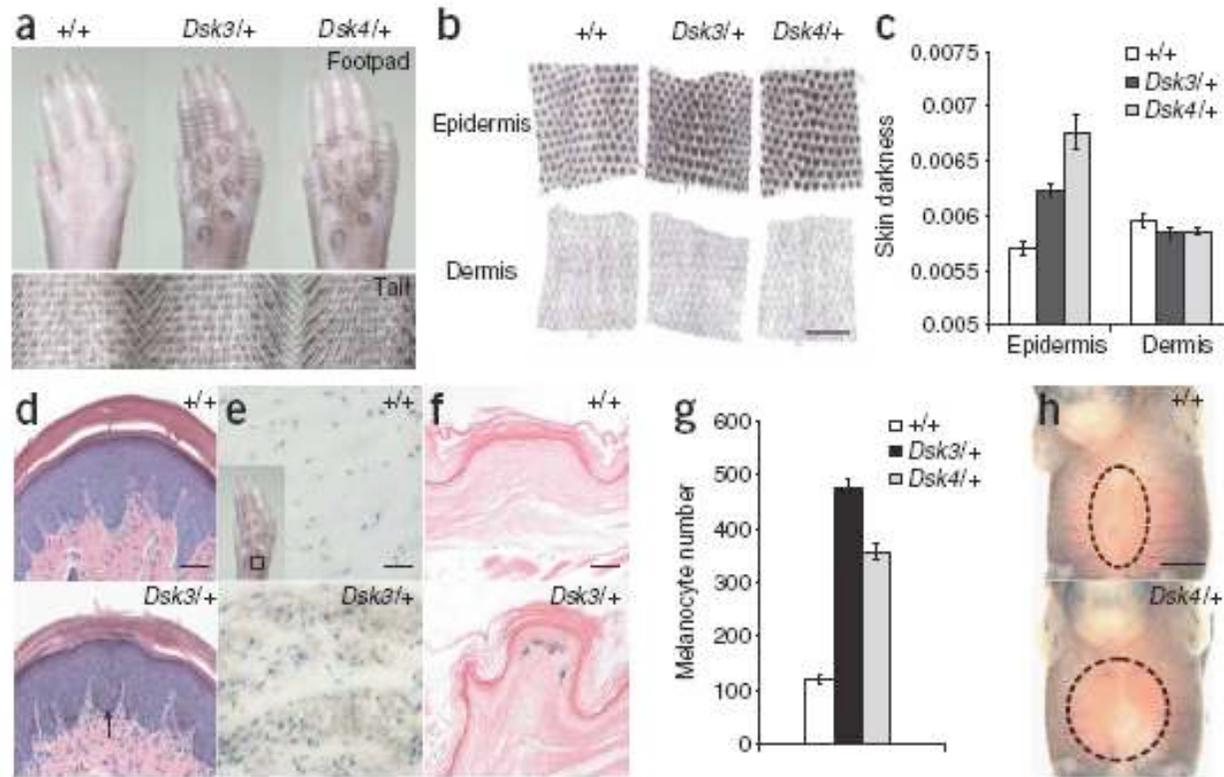
Jusqu'ici, des modèles animaux décevants



- 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.

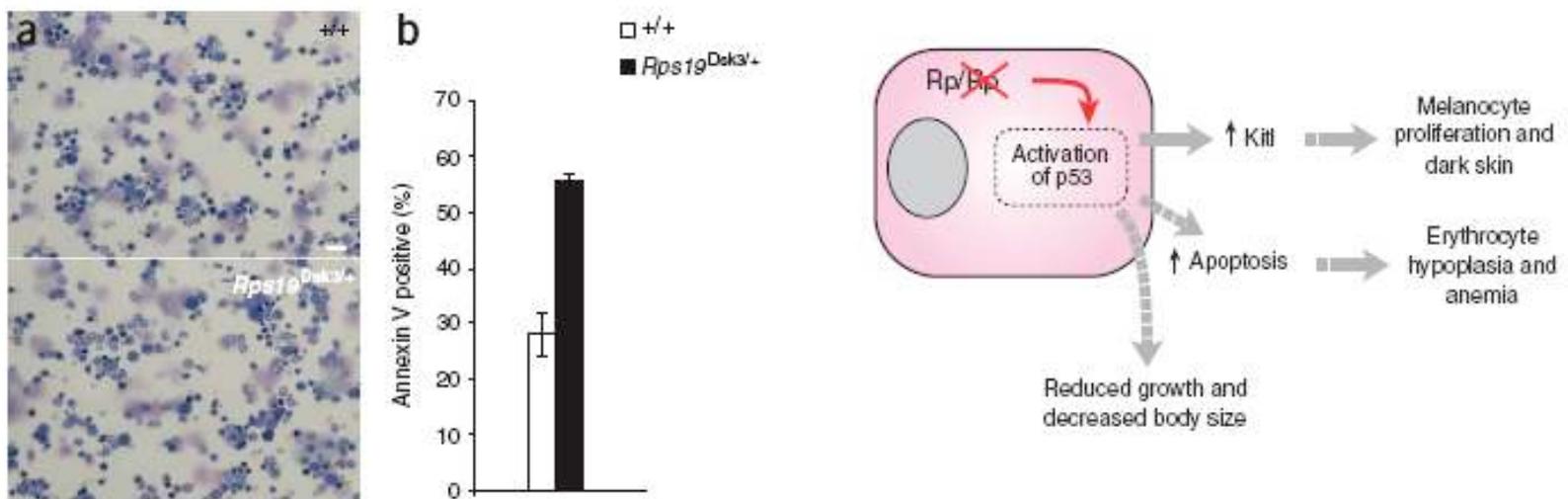


*Matsson et al.,
Mol Cell Biol, 2004
24: 4032-4037*



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

*McGowan et al.,
Nature Genet, 2008*



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.