



Centre de recherche
CHU Sainte-Justine
Le centre hospitalier
universitaire mère-enfant

Université
de Montréal

Identification grâce à un criblage CRISPR-Cas9 de gènes impliqués dans le transport des protéines avec ancre GPI impliquées dans l'épilepsie

Numéro de l'offre de stage : No. 10

Équipe de recherche

Philippe Campeau, M.D.

Médecin généticien, CHU Sainte-Justine

Professeur adjoint de clinique, Département de pédiatrie, Université de Montréal

Axe de recherche : Maladies musculosquelettiques et réadaptation

Coordonnées

p.campeau@umontreal.ca

Description du projet

Le laboratoire s'intéresse à la synthèse et le transport des protéines à ancre GlycosylPhosphatidyInositol (GPI-AP). Des mutations héritées dans les gènes codant pour ces protéines mènent à plusieurs symptômes comme l'épilepsie et la déficience intellectuelle. À travers le séquençage d'exomes de patients avec des phénotypes similaires, il a été possible d'identifier des nouvelles maladies causées par des mutations de gènes dans la voie de la synthèse (GPAA1, PIGP) ou encore du transport de ces protéines pour lequel peu de gènes ont été identifiées à ce jour.

L'objectif de ce projet est d'identifier certains des gènes importants pour ce transport. Pour cela, il faudra identifier par criblage des cellules humaines contenant des défauts génétiques menant à la diminution de protéines à ancre GPI à la surface cellulaire. À partir des gènes identifiés, ceux pouvant affecter le transport vésiculaire seront sélectionnés selon leurs domaines protéiques ou leur fonction connue, pour ensuite confirmer et caractériser leur rôle précis dans le transport des GPI-APs. Le criblage sera effectué en utilisant des cellules haploïdes afin d'abolir complètement les fonctions protéiques avec une seule mutation. Les gènes de tout le génome vont être mutés aléatoirement en utilisant une librairie CRISPR disponible via Addgene. Puis, les cellules avec une diminution d'expression des GPI-APs à leur surface seront sélectionnées par cytométrie en flux avec le marqueur FLAER. Les ARNs guides CRISPR dans ces cellules vont être séquencés et la liste de gènes obtenue sera analysée pour leurs fonctions. Les efforts vont être concentrés sur les protéines dont leur rôle dans la synthèse des ancras GPI n'est pas connu

PROGRAMME DE STAGE D'INITIATION À LA RECHERCHE BIOMÉDICALE DU CENTRE DE RECHERCHE CHU SAINTE-JUSTINE – ÉTÉ 2018



Centre de recherche
CHU Sainte-Justine
Le centre hospitalier
universitaire mère-enfant

Université 
de Montréal

Pour ces protéines, les effets sur le transport vésiculaire vont être répliqués dans les cellules haploïdes grâce à différents ARNs guides pour le même gène et confirmer la diminution en surface de ces protéines, en plus de corriger le défaut grâce à un cDNA pour ce gène. Dépendamment des protéines identifiées, la localisation cellulaire sera étudiée en utilisant l'immunocytochimie confocale, ainsi que les interactions avec les GPI-APs et autres protéines de transports par co-immunoprécipitation.

Ce projet est important pour comprendre un processus biologique peu étudié, ainsi que des maladies humaines avec l'identification potentielle de mutations dans ces nouvelles protéines de transports.

Mots clés

Épilepsie, CRISPR, génétique.
