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

Identification des protéines neuronales ayant une ancre glycolipidique GPI impliquées dans l'épilepsie

Numéro de l'offre de stage : No. 9

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

Environ un tiers des protéines sont insérées dans les membranes cellulaires; soit par des domaines transmembranaires, ou par l'ajout de lipides à leurs structures, tel que le glycosylphosphatidylinositol (GPI). Les protéines ayant une ancre GPI jouent des rôles clés notamment dans l'embryogénèse, la neurogénèse, et le transfert des signaux cellulaires. Elles sont aussi impliquées dans des maladies telles que la "maladie de la vache folle", et la maladie causant des os souples appelée l'hypophosphatasie.

Jusqu'à 1% de nos protéines sont prédites bioinformatiquement comme ayant possiblement une ancre GPI, mais cela n'a été démontré que pour une minorité d'entre elles, et ces prédictions ont une faible sensibilité et spécificité. De plus, malgré le fait que de nombreuses protéines importantes pour la fonction du cerveau aient des ancres GPI, personne n'a systématiquement analysé quelles sont les protéines du cerveau ayant effectivement un ancre GPI. Nous proposons donc d'utiliser la spectrométrie de masse pour identifier les protéines du cerveau ayant une ancre GPI, et ensuite déterminer la fonction d'une fraction d'entre elles par des expériences dans les cellules et dans les souris. Ces expériences nous permettront de comprendre comment les neurones interagissent entres elles grâce à des protéines ayant des ancres GPI, et elles nous permettront aussi de déterminer quelles sont les protéines responsables de l'épilepsie et de la déficience intellectuelles dans les maladies où la synthèse des ancres GPI est déficiente (par exemple le syndrome de Mabry (gène PIGV)).

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

Rôle de l'étudiant dans le projet

L'étudiant isolera des protéines avec ancre GPI de deux sources : des cerveaux entiers et des cellules neuronales en culture. Après avoir rincé les cellules ou les homogénats membranaires, il devra isoler les protéines ayant une ancre GPI en les clivant grâce aux phospholipases C et D. Avant d'envoyer les échantillons en spectrométrie de masse, il devra s'assurer de l'efficacité des manipulations en faisant un Western blot avec des anticoprs soit pour : une protéine avec ancre GPI bien connue, une protéine transmembranaire sans ancre GPI, et une protéine cytoplasmique. Une fois la spectrométrie de masse effectuée dans un autre laboratoire, il analysera les données. Il devra déterminer si les protéines identifiées ont déjà bien été caractérisées quant à leur localisation. Il devra aussi regarder la séquence pour déterminer si la protéine possède un potentiel signal de localisation au réticulum endoplasmique et une potentielle séquence de type oméga (pour l'attachement à l'ancre GPI) dans sa région C-terminale. Si de bonnes protéines candidates sont identifiées qui ne sont pas connues comme ayant une ancre GPI, il vérifiera dans des cellules en culture par des Western blots (avec un anticorps spécifique à cette protéine) si la protéine est libérée dans la surface après clivage avec la phospholipase C et D.

Mots clés

Épilepsie, spectrométrie de masse, génétique.