

# Génétique du développement

## Prof. Eric BELLEFROID

tél. 02/650 97 32

Email : [ebellefr@ulb.ac.be](mailto:ebellefr@ulb.ac.be)

Localisation: IBMM, rue des Profs Jeener et Brachet 12, 6041 Gosselies

<http://gendev.ulb.ac.be/bellefroidlab/>

<http://uni.ulb.ac.be/groups/developmental-genetics>

## Thèmes de recherche

Le laboratoire étudie le développement du système nerveux des vertébrés. Nous nous intéressons en particulier aux mécanismes moléculaires contrôlant la transition des cellules souches neurales prolifératives en neurones et la diversification neuronale.

Les projets de recherche en cours concernent le rôle de facteurs de transcription dans le développement du cortex cérébral et dans le système nerveux périphérique. La fonction de ces facteurs est étudiée via des approches génétiques chez la souris et des expériences de perte et gain de fonction dans l'embryon d'amphibien. Leur mécanisme d'action est approché via la recherche de leurs cibles directes et des protéines avec lesquelles ils interagissent.

Ces recherches sur le développement normal du système nerveux sont primordiales pour mieux comprendre son fonctionnement, son évolution et l'origine des pathologies associées.

## Sujets de mémoire 2020-2021

Actuellement, les deux axes majeurs de recherche du laboratoire concernent :

- 1) le facteur de transcription Prdm12 et son rôle dans la différenciation et le fonctionnement des nocicepteurs
- 2) les facteurs de transcription Dmrt3-5 et leur rôle dans le développement du cortex cérébral.

### 1. Caractérisation du rôle du facteur de transcription Prdm12 dans la différenciation et le fonctionnement des nocicepteurs

La perception de la douleur est essentielle à la survie des animaux. Ce processus débute avec la détection de stimuli nociceptifs par des neurones sensoriels spécialisés, appelés nocicepteurs, qui transmettent ces informations vers le système nerveux central, aboutissant à la mise en place d'un comportement défensif réflexe ou volontaire suite à la sensation de douleur perçue. Des dérégulations de ce processus sont associées à de nombreuses maladies chez l'homme. Dans une étude récente sur des patients atteints d'insensibilité congénitale à la douleur, plusieurs mutations ont été identifiées dans le gène *Prdm12* seraient responsables de la maladie (Chen et al., Nat. Genet., 2015). Le gène *Prdm12* code pour une protéine à doigts à zinc appartenant à une famille de facteurs de transcription fonctionnant comme régulateurs épigénétiques de l'expression des gènes. *Prdm12* est fortement exprimé dans le système nerveux en développement et chez l'adulte dans les ganglions trigéminaux et rachidiens contenant les corps des neurones somatosensoriels. Des travaux récents du laboratoire ont montré que *Prdm12* est exprimé sélectivement dans les précurseurs neuronaux à l'origine des nocicepteurs et qu'il est essentiel pour leur développement, ce qui explique pourquoi des mutations au sein du gène *Prdm12* chez l'homme induisent une insensibilité congénitale à la douleur. De manière intéressante, les résultats obtenus indiquent aussi que *Prdm12* reste exprimé dans les nocicepteurs matures chez l'adulte, ce qui suggère qu'il pourrait aussi contrôler leur fonctionnement et jouer un rôle dans la nociception.

Nos travaux actuels visent (1) à mieux comprendre le mécanisme d'action de Prdm12 dans la différenciation des nocicepteurs et (2) définir son rôle dans les nocicepteurs matures. Ces questions sont abordées via la génération et caractérisation au niveau moléculaire, électrophysiologique et comportemental, de lignées de souris Prdm12 knock-out (KO constitutif et conditionnels) et de lignées Knock-in surexprimant de manière inductible Prdm12, ainsi que via la recherche de ses cibles directes (par ChiP-seq) et de ses partenaires d'interaction (via des approches AP-MS).

Les travaux envisagés devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes de la perception de la douleur. Ils devraient valider Prdm12 en tant que cible intéressante pour la mise au point de nouvelles approches de traitement de la douleur.

## **2. Caractérisation du rôle des facteurs de transcription *Dmrt3-5* dans le développement du cortex cérébral**

Le développement correct du cerveau dépend d'une balance correcte de la prolifération et de la sortie du cycle cellulaire/différenciation des progéniteurs corticaux. Une dérégulation de ce processus peut entraîner des anomalies de développement graves comme des microlissencéphalies.

Les gènes codant pour les facteurs de transcription à doigts à zinc *Dmrt3* et *Dmrt5* sont exprimés sélectivement dans les cellules progénitrices du cortex cérébral. Au laboratoire, via des approches génétiques chez la souris, nous les avons identifiés comme des régulateurs clés du développement du cortex. En effet, le cortex cérébral des souris où ces gènes sont délétés est fortement réduit et la mise en place des différentes aires du cortex est altérée. Chez l'homme, des mutations dans le gène *Dmrt5* sont également associées à un phénotype de microlissencéphalie. Nous étudions actuellement le mécanisme d'action de ces deux facteurs de transcription dans le choix des progéniteurs corticaux à se maintenir ou à sortir du cycle cellulaire et dans la régionalisation du télencéphale. Ces recherches impliquent notamment des expériences d'immunoprécipitation de chromatine suivie du séquençage d'ADN à haut débit (ChIP-seq) pour l'identification de leurs cibles directes, des expériences de gel-retard pour la caractérisation des séquences liées par ces facteurs et des expériences de type « gène rapporteur », en cellules en culture ou dans des animaux transgéniques, pour évaluer l'activité « enhancer » des fragments d'ADN cibles identifiés.

Les résultats de ces travaux devraient permettre de mieux comprendre comment les facteurs *Dmrt3/5* contrôlent la maintenance des progéniteurs corticaux, et fournir une explication à la microcéphalie observée dans les souris knock-out et chez l'homme.

Les étudiants intéressés par nos sujets de recherche sont invités à venir visiter le laboratoire pour discuter des projets en cours et obtenir plus de précisions sur les sujets de mémoire qui seront proposés au cours de l'année académique prochaine.

## **Quelques publications récentes**

1. Saulnier A, Keruzore M, De Clercq S, Bar I, Moers V, Magnani D, Walcher T, Filippis C, Kricha S, Parlier D, Viviani L, Matson CK, Nakagawa Y, Theil T, Götz M, Mallamaci A, Marine JC, Zarkower D, Bellefroid EJ (2013). The Doublesex Homolog *Dmrt5* is Required for the Development of the Caudomedial Cerebral Cortex in Mammals. *Cerebral Cortex*, 23, 2552-2567.

2. Parlier D, Moers V, Van Campenhout C, Preillon J, Leclère L, Saulnier A, Sirakov M, Busengdal H, Kricha S, Marine JC, Rentzsch F, Bellefroid EJ. (2013). The *Xenopus* doublesex-related gene *xDmrt5* is required for olfactory placode neurogenesis. *Dev. Biol.* 373, 39-52.

3. Bellefroid EJ., Leclère L., Saulnier A., Keruzore M., Sirakov M., Vervoort M., De Clercq S. (2013). Expanding roles for the evolutionarily conserved *Dmrt* sex transcriptional regulators during vertebrate embryogenesis. *Cell Mol. Life Sci.* 70, 3829-3845 .

4. Nagy, V., Cole, T., Van Campenhout, C., Khoung, T.M., Leung, C., Vermeiren, S., Novatchkova, M., Wenzel, D., Cikes, D., Polyansky, A.A., Koziaradzki, I., Meixner, A., Bellefroid, E.J., Neely, G.G., Penninger, J.M. (2015).

The evolutionarily conserved transcription factor PRDM12 controls sensory neuron development and pain perception. *Cell Cycle* 14, 1799-1808.

5. Th  lie, A., Desiderio, S., Hanotel, J., Quigley, I., Van Driessche, B., Rodary A., Borromeo, M.D., Kricha, S., Lahaye, F., Croce, J., Cerda-Moya, G., Ordonez Fernandez, J., Bolle, B., Lewis, K., Sander, M., Pierani, A., Schubert, M., Johnson, J.E., Kintner, C., Pieler, T., Van Lint, C., Henningfeld, K.A., J., Bellefroid, E.J., Van Campenhout C. (2015). *Prdm12* specifies V1 interneurons through cross-repressive interactions with *Dbx1* and *Nkx6* genes in *Xenopus*. *Development*, 142, 3416-3428

6. De Clercq S., Keruzore M., Desmaris E., Pollart C., Assimacopoulos S., Preillon J., Ascenzo S., Matson C.K., Lee M., Nan X., Li M., Nakagawa Y., Hocheppied T., Zarkower D., Grove E.A., Bellefroid E.J. (2016). *Dmrt5* together with *Dmrt3* directly control hippocampus development and neocortical area formation. *Cerebral Cortex*, 28, 493-509.

7. Muralidharan B, Keruzore M, Pradhan S, Roy B, Shetty A, Kinare V, D'souza L, Maheshwari U, Karmodiya K, Suresh A, Galande S, Bellefroid E.J\*, Tole S\* (2017). *Dmrt5*, a novel neurogenic factor, reciprocally regulates *Lhx2* to control the neuron-glia cell fate switch in the developing hippocampus. *J. of Neurosci.* 37, 11245-11254. \*Co-last authors.

8. Young, F. F., Keruzore, M., Nan, X., Gennet, N., **Bellefroid, E.**, & Liu, C. M. H. (2017). The doublesex-related *Dmrt2* safeguards neural progenitor maintenance involving transcriptional regulation of *Hes1*. *PNAS* 114(28), 5599-5607.

9. Desmaris, E., Keruzore, M., Saulnier, A., Ratie, L., Assimacopoulos, S., De Clercq, S., Nan, X., Roychoudhury, K., Kricha, S., Lingner, T., Henningfeld, K. A., Zarkower, D., Mallamaci, A., Theil, T., Campbell, K., Pieler, T., Li, M., Grove, E., Bellefroid, E. (2018). *DMRT5*, *DMRT3* and *EMX2* cooperatively block *Gsx2* at the pallium-subpallium boundary to maintain cortical identity in dorsal telencephalic progenitors. *J. of Neurosci.* 38, 9105-9121.

10. Desiderio S, Vermeiren S, Van Campenhout C, Kricha S, Malki E, Fletcher EV, Vanwelden T, Schmidt BZ, Henningfeld KA, Pieler T, Woods CG, Nagy V, C , Brunet JF and Bellefroid EJ (2019). *Prdm12* directs nociceptive sensory neuron development in trigeminal and dorsal root ganglia via two distinct mechanisms. *Cell Rep.* 26, 3522-3536.

11. Rati   L, Desmaris E, García-Moreno F, Hoerder-Suabedissen A, Kelman A, Theil T, **Bellefroid EJ\***, Molnár Z. \* (2019). Loss of *Dmrt5* Affects the Formation of the Subplate and Early Corticogenesis. *Cereb Cortex*. 2019 Dec 16. pii: bhz310. doi: 10.1093/cercor/bhz310. [Epub ahead of print]. \*Co-last authors.