

Apports des modèles drosophiles dans l'AF- *Véronique Monnier, Maria Russi, Hervé Tricoire (Univ Paris Diderot)*

Mars 2019 – Article à l'occasion du renouvellement des travaux

Pourquoi utiliser les drosophiles pour étudier l'ataxie de Friedreich ?



La drosophile, mouche du vinaigre, est utilisée dans les laboratoires du monde entier depuis plus d'un siècle. Elle permet de réaliser des expériences rapides sur un grand nombre d'individus. Il est possible de modéliser l'ataxie de Friedreich chez la mouche et d'utiliser ces modèles pour réaliser des cribles génétiques et pharmacologiques. Cela permet de mieux comprendre la fonction de la frataxine et d'évaluer de nouvelles approches thérapeutiques.

Ainsi, un **modèle cardiaque** de l'ataxie de Friedreich a été développé et utilisé pour réaliser des cribles pharmacologiques, à la recherche de molécules améliorant la fonction du cœur. **Le criblage de molécules candidates** ainsi que de la chimiothèque Prestwick (une chimiothèque constituée de 1280 molécules, composés chimiques déjà utilisés chez l'homme comme médicaments) **a permis d'identifier chez la mouche 11 molécules, dont le bleu de méthylène, qui améliorent la fonction cardiaque de mouches présentant un déficit en frataxine.**

De nouveaux outils génétiques permettent également d'obtenir des **modèles de drosophiles « humanisés »**. Des expansions *GAA* provenant de patients ataxiques ont ainsi été introduites dans le gène de la frataxine chez la drosophile, ce qui entraîne des problèmes locomoteurs et une diminution de longévité.

Ces modèles permettent d'évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques, comme la **technique CrispR /Cas9**, qui peut être utilisée pour enlever l'expansion *GAA* du gène de la frataxine. Les études sur la drosophile servent alors à évaluer si cette technique est suffisamment efficace pour augmenter l'expression de la frataxine et pour améliorer la locomotion et la durée de vie des mouches.

Nouveaux modèles Drosophiles et stratégies thérapeutiques -

Véronique Monnier, Université Paris Diderot

Janvier 2020 - Article de fin des travaux

Cette étude a bénéficié d'un financement de l'AFAF dans le cadre des appels à projets de 2017 et 2018.

Résumé

Notre projet de recherche a eu pour but de développer de nouveaux modèles Drosophile de l'ataxie de Friedreich à expansions de triplets *GAA* et d'utiliser ces modèles pour tester deux types de stratégies thérapeutiques : l'utilisation du système CrispR Cas9 pour déléter les expansions de triplets et une approche pharmacologique en testant des molécules candidates.



Nous avons tout d'abord poursuivi la caractérisation de la première génération de modèle qui contient environ 200 triplets *GAA*, introduits dans le gène *fh* codant la frataxine de Drosophile. Ces mouches présentent une diminution forte de l'expression de la frataxine associée à un retard et une létalité développementale.

Nous avons pu obtenir des adultes en utilisant des outils génétiques permettant de surexprimer la frataxine uniquement pendant la période de développement. Ces adultes ont une durée de vie réduite et présentent des défauts locomoteurs.

Nous avons caractérisé les modifications transcriptionnelles présentes chez ces mouches par RNAseq (*séquençage de l'ARN*) et identifié la dérégulation de gènes impliqués dans le métabolisme des acides aminés ainsi que des signatures transcriptionnelles du stress oxydatif.

En parallèle, nous avons développé de nouveaux modèles avec un nombre plus réduit d'expansions (42 *GAA* et 65 *GAA*). Ces mouches peuvent se développer jusqu'à l'âge adulte mais ont une durée de vie réduite et des défauts locomoteurs. Ces effets sont très dépendants de la température à laquelle se déroule le développement de l'organisme, pour des raisons que nous cherchons encore à identifier. Cette nouvelle génération de modèles présente l'intérêt d'avoir des phénotypes plus modérés et seront très utiles pour les tests pharmacologiques sur organismes adultes.

Nous avons cherché à déléter in vivo les expansions de triplets *GAA* présentes dans le gène *fh* des mouches en utilisant le système CRISPR/Cas9. Pour cela, nous

avons développé les outils génétiques qui nous permettent d'exprimer la machinerie CRISPR/Cas9, dans tout l'organisme ou dans des tissus ciblés. Nous avons pu générer des évènements de délétion, mais ceux-ci sont en quantité trop faibles pour permettre une amélioration fonctionnelle. Nous avons développé de nouveaux outils qui pourraient permettre d'améliorer l'efficacité du système, et nous les testerons prochainement.

Enfin, nous avons réalisés des tests pharmacologiques, en évaluant la capacité de 30 molécules candidates à augmenter la survie des mouches déficientes en frataxine. Ces molécules ont été sélectionnées pour différentes propriétés (anti-oxydantes, anti-inflammatoires). Aucune de ces molécules n'a permis d'augmenter la survie des mouches à la concentration testée (10µM).

Par contre, nous avons mis en évidence un effet protecteur de la N-acétyl Cystéine lorsqu'elle est incorporée à plus forte dose dans l'alimentation, avec une augmentation de la durée de vie et de la fonction locomotrice des mouches.