UQÀM | CERMO Fondation Courtois

Centre d'excellence en recherche sur les maladies orphelines – Fondation Courtois

5e colloque annuel du CERMO-FC

Conférencier invité
Pr Mikko Taipale
U.Toronto

24 novembre 2023

Au cœur des sciences de l'UQAM, Montréal

cermofc.uqam.ca/colloque-du-cermo-fc/

Merci à nos partenaires:

UQÀM | Faculté des sciences
Université du Québec à Montréal

UQÀM | Département de chimie

UQÀM | Département d'informatique

UQÀM | Département des sciences biologiques

GRSC Groupe de recherche en signalisation cellulaire

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

SCIEX The Power of Precision

10X GENOMICS

Agilent

D·Mark

ZEISS

Waters™

WISENT BIOPRODUCTS

ThermoFisher SCIENTIFIC

illumina®

INRS Institut national de la recherche scientifique

avantor™

SOMMAIRE

Le zèbre, symbole des maladies rares……1

Mot de bienvenue de la directrice……2

Les membres du CERMO-FC……3

Les professionnel.es de recherche du CERMO-FC……4

Les partenaires de l'évènement……5

Plan d'accès……6

Plan de la salle……7

Programme en bref……8

Programme détaillé……9

Conférence du Pr Mikko Taipale, University of Toronto……11

Présentations orales étudiant.es (Partie 1 et 2) ……12

Présentations de lauréats des subventions de recherche du CERMO-FC……22

Présentations par affiches……23

UQÀM CERM Fondation Courtois

Le zèbre est le symbole des maladies rares à la suite d'une réflexion du Dr Théodore Woodward à ses étudiants en médecine dans les années 1940 : « Quand vous entendez des bruits de sabots derrière vous, ne vous attendez pas à voir un zèbre ». Pourtant, lorsqu'un médecin voit des symptômes, il ne devrait pas uniquement penser aux maladies communes, mais également aux maladies rares. Le zèbre rappelle ainsi que les maladies rares/orphelines sont bien présentes dans notre société et qu'il ne faut pas les oublier.

Mot de bienvenue de la directrice

Chères et chers collègues,

C'est avec un immense plaisir que nous vous accueillons pour cette cinquième édition du colloque annuel du Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines – Fondation Courtois (CERMO-FC). Cet évènement représente une opportunité exceptionnelle de mettre en lumière la recherche dans le domaine des maladies orphelines.

Nous sommes ravis de constater la grande participation de nos membres, avec près de 180 personnes inscrites. Ce rendez-vous phare de notre programmation scientifique revêt une importance particulière pour maintenir les liens entre nos membres et développer de nouvelles collaborations de recherche. Notamment, la richesse de nos expertises multidisciplinaires offre l'opportunité de favoriser la création de nouveaux ponts entre la recherche fondamentale et la recherche appliquée. J'en profite pour vous rappeler que les concours de subvention de recherche collaborative du CERMO-FC sont ouverts jusqu'au 8 décembre 2023. Nous aurons le plaisir d'entendre les progrès réalisés par certaines équipes récipiendaires des dernières années lors d'une session de présentations.

La relève sera également mise en avant à travers 10 présentations orales et plus de 80 projets présentés par affiche par les étudiant.es diplômé.es et les stagiaires postdoctoraux affilié.es à différentes composantes du réseau UQ (UQAM, INRS, UQTR et UQAC) et d'autres institutions (Université de Montréal, CR-CHU Sainte-Justine, CR-CHUM, Université McGill, IRCM, Université Laval, University of Ottawa, University of Copenhagen, et Coastal Carolina University). Nous aurons aussi le privilège d'assister à la conférence plénière offerte par le Pr Mikko Taipale de l'Université de Toronto, intitulée : « Mislocalization of missense variants in human disorders ».

Je tiens à remercier la faculté des sciences de l'UQAM, les départements des sciences biologiques, de chimie, et d'informatique de l'UQAM, ainsi que le groupe de recherche en signalisation cellulaire de l'UQTR, le centre de recherche du CHU Sainte-Justine, l'INRS, et nos partenaires industriels, qui ont apporté un soutien financier essentiel à la réussite de cette cinquième édition.

Je souhaite à toutes et à tous un excellent colloque !

Pre Claire Bénard
Directrice par intérim du CERMO-FC
Prof. titulaire, Dép. Sciences biologiques, UQAM
Chercheure boursière Senior FRQS
Prof. associée, Dépt. Neurobiologie, Univ. Mass Chan Medical School (USA)
https://www.benardlab.com/

Les membres du CERMO-FC

Membres régulier.es

ANNABI Borhane	UQAM	KIBAR Zoha	CHU St-Justine
ARCHAMBAULT Denis	UQAM	KOURRICH Saïd	UQAM
AVERILL Diana	UQAM	LAPRISE Catherine	UQAC
BARBEAU Benoit	UQAM	LEDUC-GAUDET Jean-Philippe	UQTR
BÉNARD Claire	UQAM	LEFEBVRE Joël	UQAM
BERTHOUX Lionel	UQTR	LEFRANCOIS Stéphane	INRS
BOURGAULT Steve	UQAM	LUSSIER Marc	UQAM
BOYCOTT Kim	U. of Ottawa	MATEESCU M. Alexandru	UQAM
CAMPEAU Philippe	CHU St-Justine	MOUNIER Catherine	UQAM
CAPPADOCIA Laurent	UQAM	NARBONNE Patrick	UQTR
CASTONGUAY Annie	INRS	OUBAHA Malika	UQAM
CHATEL-CHAIX Laurent	INRS	PATTEN Kessen	INRS
CÔTÉ Jean-Francois	IRCM	PEARSON Angela	INRS
DIALLO Abdoulaye Baniré	UQAM	PEPIN Genevieve	UQTR
DRAGON François	UQAM	PERNET Erwan	UQTR
DUCHESNE Elise	UQAC	PILON Nicolas	UQAM
DUMONT Nicolas	CHU St-Justine	PLANTE Isabelle	INRS
FAURE Christophe	CHU St-Justine	RAMASSAMY Charles	INRS
FISETTE Alexandre	UQTR	REINHARZ Vladimir	UQAM
GAGNON Alexandre	UQAM	REYES-MORENO Carlos	UQTR
GAUTHIER Charles	INRS	SAMARUT Éric	UdeM
GERMAIN Marc	UQTR	SCORZA Tatiana	UQAM
GOUSPILLOU Gilles	UQAM	SILVERSIDES David W.	UdeM
HEINONEN Krista	INRS	SINCENNES Marie-Claude	INRS-UQAC
JARAMILLO Maritza	INRS	SLENO Lekha	UQAM
JENABIAN Mohammad-Ali	UQAM	ST-PIERRE David H.	UQAM
JOLY-LOPEZ Zoé	UQAM	TÉTREAULT Martine	UdeM
KEMBEL Steven	UQAM	VANDERPERRE Benoît	UQAM

Membres associé.es

BCHETNIA Mbarka	UQAC	GAMBERI Chiara	Coastal Carolina U.
BÉRUBÉ Gervais	UQTR	LACHANCE Véronik	UQAM
CALMETTES Charles	INRS	OCHALA Julien	U. of Copenhagen
DAVID Anu	CHU St-Justine	RASSART Éric	UQAM
DESCOTEAUX Albert	INRS	ROBERT Marie-Claude	CHU St-Justine
DOYON Yannick	U. Laval	SORET Rodolphe	UQAM
FODIL Nassima	U. McGill	STAGER Simona	INRS
		VAILLANCOURT Cathy	INRS

Les professionnel.es de recherche du CERMO-FC

Nous remercions chacun des professionnel.les de recherche pour l'excellence de leur travail dans l'accompagnement personnalisé de vos projets de recherche. Nous vous invitons à vous joindre à nous pour les remercier !

Geneviève Bourret
Plateforme de génomique

Farzaneh Rahmdani
Plateforme de bio-informatique

Tatiana Cardinal
Plateforme de Transgenèse et édition du génome

Grégoire Bonnamour
Plateforme d'analyses cellulaires et d'imagerie

Leanne Ohlund
Plateforme de métabolomique et protéomique

Phuong Trang Nguyen
Plateforme de biophysique et criblage biomoléculaire

Hermance Beaud
Coordination

Les partenaires de l'évènement

Le comité organisateur souhaite grandement remercier la Faculté des sciences, et les départements des sciences biologiques, de chimie, et d'informatique de l'UQAM ainsi que nos partenaires académiques et industriels pour leur soutien précieux à la réussite du 5e colloque du CERMO-FC.

UQÀM | Faculté des sciences
Université du Québec à Montréal

UQÀM | Département de chimie

UQÀM | Département d'informatique

UQÀM | Département des sciences biologiques

GRSC
Groupe de recherche en signalisation cellulaire

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

INRS
Institut national de la recherche scientifique

SCIEX
The Power of Precision

10x GENOMICS

ZEISS

Agilent

D·Mark

illumina®

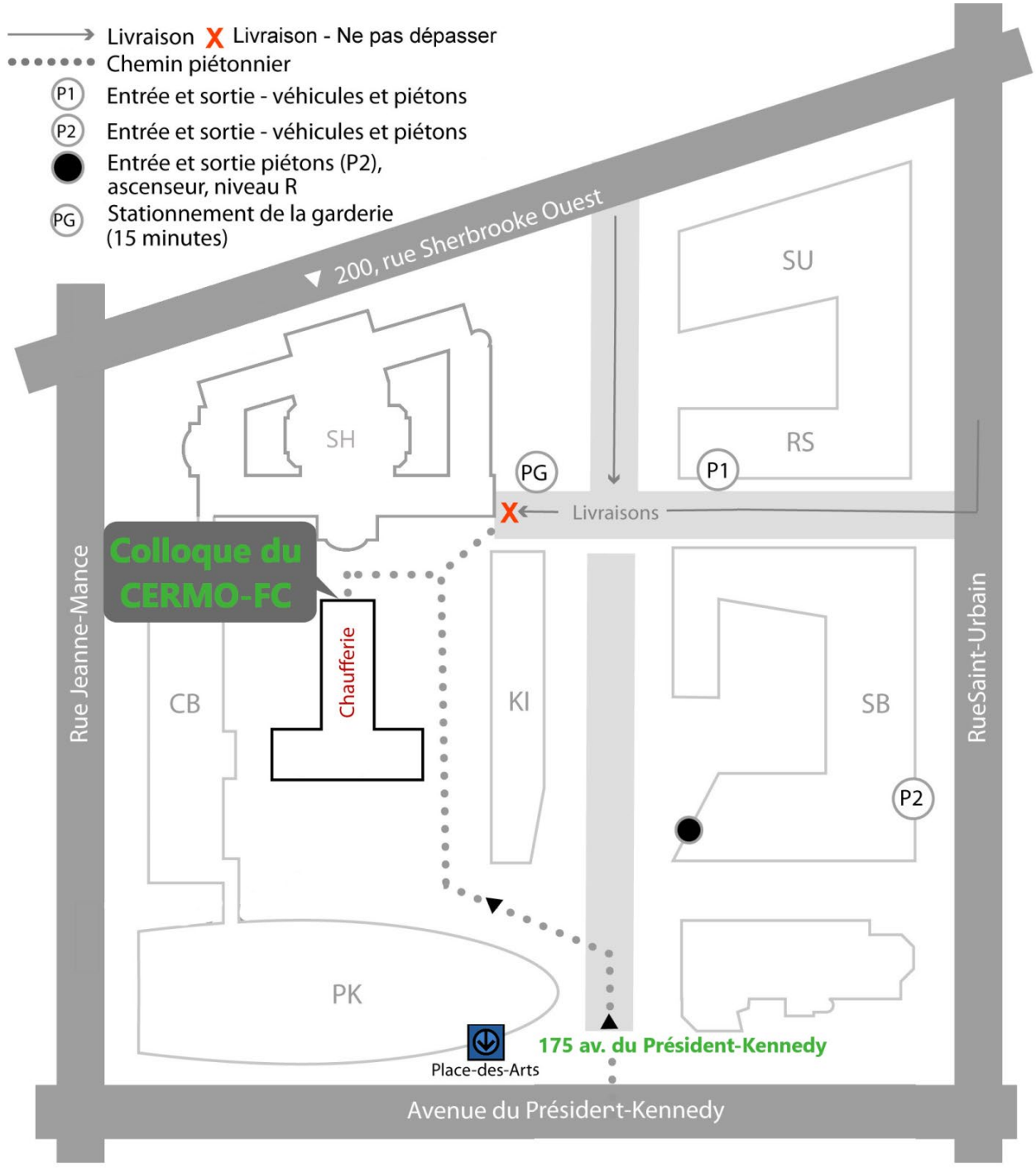
WISENT BIOPRODUCTS

ThermoFisher SCIENTIFIC

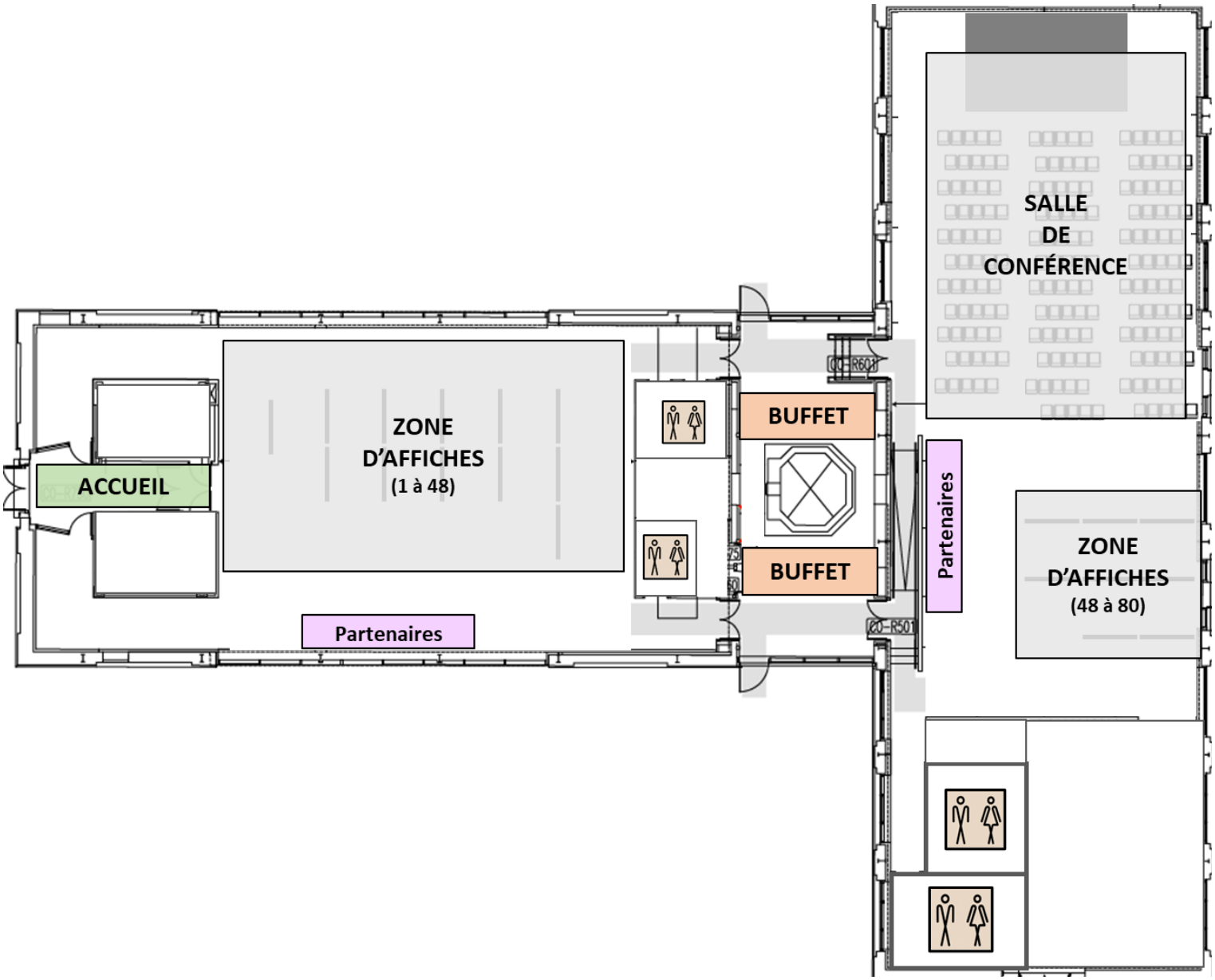
Waters™

avantor™

Plan d'accès


Livraison
X Livraison - Ne pas dépasser
Chemin piétonnier
P1 Entrée et sortie - véhicules et piétons
P2 Entrée et sortie - véhicules et piétons
Entrée et sortie piétons (P2), ascenseur, niveau R
PG Stationnement de la garderie (15 minutes)
200, rue Sherbrooke Ouest
SU
SH
RS
PG
P1
X
Livraisons
Colloque du CERMO-FC
Rue Jeanne-Mance
Chaufferie
CB
KI
SB
RueSaint-Urbain
P2
PK
Place-des-Arts
175 av. du Président-Kennedy
Avenue du Président-Kennedy

Plan de la salle



UQÀM CERMO Fondation Courtois

Programme en bref

Vendredi 24 novembre 2023

9h00-9h15	**Mot de bienvenue de la Directrice**
9h15-10h30	**Présentation orales étudiant.es – Partie 1** Modératrice : Pre Zoé Joly-Lopez
10h30	Pause santé
10h30-11h30	**Lauréats des subventions de recherche du CERMO-FC** Modératrice : Pre Claire Bénard
11h30-12h30	**Session d'affiches – Section paires**
12h30	Lunch
13h00-14h00	**Session d'affiches – Section impaires** Université McGill
14h00-15h15	**Conférence du Pr Mikko Taipale, University of Toronto** *Mislocalization of missense variants in human disorders* Modératrice : Pre Lekha Sleno
15h15-16h30	**Présentation orales étudiant.es – Partie 2** Modérateur : Pr Alexandre Fisette
17h00	**Remises de prix et Mot de clôture de la directrice**
16h30-19h00	Cocktail réseautage

Programme détaillé

Vendredi 24 novembre 2023

9h00-9h15 Mot de bienvenue de la directrice

9h15-10h30 Présentation orales étudiant.es – Partie 1
Modératrice : Pre Zoé Joly-Lopez

9h15 O1 – Paul Fabre, CHU Sainte-Justine/UdeM (Nicolas Dumont)
The impact of bioactive lipid mediator class switching on myogenesis and skeletal muscle function.

9h30 O2 – Zhiqiang Guo, UQAM (Catherine Mounier)
Oleate promote triple negative breast cancer cell migration by enhancing filopodia formation in a PLD2/Cdc42 dependent pathway

9h45 O3 – Elizabeth Leduc, UQAM (Nicolas Pilon)
Un mécanisme de compensation prévient l'apparition de défauts associés au syndrome CHARGE chez les organismes présentant une déficience complète de FAM172A

10h00 O4 – Anjali Vishwakarma, UQTR (Marc Germain)
Mitochondrial Dysfunction: The Endocytic Pathway Connection

10h15 O5 – Viviana Barragan, INRS (Laurent Chatel-Chaix)
A mitoproteomic analysis of flavivirus-infected cells unveils the proviral role of PLA2G15 and the alteration of the mitochondria-lysosome contacts sites

10h30 Pause santé

10h45-11h30 Lauréats des subventions de recherche du CERMO-FC
Modératrice : Pre Claire Bénard

10h45 R1 - Laurent Cappadocia
Outils moléculaires pour promouvoir la SUMOylation des variants de la protéine MeCP2 et faciliter le traitement du Syndrome de Rett

11h00 R2 - François Dragon
Le poisson zèbre comme modèle pour étudier une nouvelle ribosomopathie

11h30-12h30 Session d'affiches – Section paires

Vendredi 24 novembre 2023

12h30 Lunch

13h00-14h00 Session d'affiches – Section impaires

14h00-15h15 Conférence du Pr Mikko Taipale, University of Toronto
Mislocalization of missense variants in human disorders
Modératrice : Pre Lekha Sleno

15h15-16h30 Présentation orales étudiant.es – Partie 2
Modérateur : Pr Alexandre Fisette

15h15 O6 – Ikram Ajala, UQAM (Benoit Vanderperre)
AltSLC35A4, an alternative protein has a key role in mitochondria

15h30 O7 – Maria Carla Hermida Borroto, CHU Sainte-Justine/UdeM (Philippe Campeau)
The MSL2-associated neurodevelopmental disorder (MANDS), its distinct episignature and related cellular epigenetic dysregulation

15h45 O8 – Fanny Nobilleau, Université de Montréal (Éric Samarut)
Investigation of rfc1 loss of function as a cause of the Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS) in a zebrafish model

16h00 O9 – Marin Pascal, UQAM (Claire Bénard)
Mécanismes de maintenance de l'architecture du système nerveux : rôle de SAX-7/L1CAM et des cellules gliales

16h15 O10 – Nathan Ghafari, UQAM (Lekha Sleno)
Étude métabolomique ciblée et non ciblée du syndrome de Hunter par LC-HRMS

17h00 Remises de prix et Mot de clôture de la directrice

16h30-19h00 Cocktail réseautage

Conférence du Pr Mikko Taipale, University of Toronto

Mislocalization of missense variants in human disorders

Mikko Taipale is an Associate Professor in the Donnelly Centre and the Department of Molecular Genetics at the University of Toronto. He received his MSc in genetics at the University of Oulu, Finland (close to the arctic circle). He then joined the international PhD programme in EMBL in Heidelberg, Germany. He completed his PhD in Asifa Akhtar's lab, working on chromatin regulation by histone acetylation. He then joined Sue Lindquist's lab at the Whitehead Institute for postdoctoral training. There, he focused on the client recognition mechanisms of Hsp90 chaperone and co-chaperones and on developing high-throughput protein/protein and drug/target interactions. Mikko started his lab at the Donnelly Centre and the University of Toronto in 2014. The Taipale lab is focused on diverse aspects of functional proteomics and genomics, including protein homeostasis, transcriptional regulation, disease variant phenotyping, and host/pathogen interactions.

O1 - The impact of bioactive lipid mediator class switching on myogenesis and skeletal muscle function.

Paul Fabre[1, 2], Thomas Molina[1, 2], Zakaria Orfi[1, 2], Ines Mokhtari[1, 2], Ornella Pellerito[1], Nicolas Dumont[1, 2]

[1]CHU Sainte Justine, [2]Université de Montréal

Myogenesis process is highly regulated and is characterized by the activation of quiescent muscle stem cells, which become proliferating myoblasts that eventually exit the cell cycle to self-renew or to differentiate and fuse to form myotubes. Many extrinsic factors secreted by neighbouring cells in the muscle stem cell microenvironment were shown to regulate myogenic cell fate decision. However, the intrinsic mechanisms regulating muscle stem cells progression during myogenesis are still elusive.

Here we hypothesize that the bioactive lipids class switching, an auto-regulatory mechanism during which pro-inflammatory lipids mediators are replaced by pro-resolving lipid mediators, is a key regulator of myogenic fate.

This substitution is the consequence of a switch in the enzymatic profile, leading to the replacement of pro-inflammatory enzymes Cyclooxygenase-2 (COX-2) or 5-lipoxygenase (Alox5) by anti-inflammatory enzymes, 12- and 15- lipoxygenase (Alox12, Alox15).

Our *in vitro* experiments revealed that myogenic cells express bioactive lipids, the enzymes responsible for their biosynthesis as well as their receptors.

Furthermore, our analysis shows that the enzymatic switch occurs when myoblasts exit the cell cycle to differentiate. Using mice deficient in the different bioactive lipid enzymes our *in vivo* experiments demonstrated the impaired myogenesis. Besides, this defect is rescued by bioactive lipids administration. Moreover, pro-resolution lipid mediator treatment on mdx mice was shown to enhance muscle regeneration and strength in this dystrophic model.

In summary, our study will provide a better comprehension on the mechanisms regulating muscle stem cells during myogenesis, which could open new therapeutic avenues for skeletal muscle growth and regeneration.

O2 - Oleate promote triple negative breast cancer cell migration by enhancing filopodia formation in a PLD2/Cdc42 dependent pathway

Zhiqiang Guo[1], Karl-Frédérik Bergeron[1], Catherine Mounier[1]

[1]UQAM

Introduction: Monounsaturated fatty acids (MUFA), specifically oleate (OA), which are synthesized by stearoyl-coenzyme A desaturase-1 (SCD1), play a fundamental role in metabolic diseases. Studies have shown a positive correlation between high levels of SCD1 and MUFA with cancer development and metastasis. Our recent study showed that inhibition of SCD1 or treatment with OA are both associated with changes in cellular migration properties of triple-negative breast cancer (TNBC) cells, including altered speed and direction, as well as cell morphology. However, the underlying molecular mechanisms remain poorly understood.

Materials and Methods: Phalloidin-TRITC was used to visualize actin-rich cell protrusions and localization in fixed MDA-MB-231 and -468 cells by confocal microscopy. Primary antibodies (Cdc42, Arp2, and PLD2) with Alexa Fluor secondary antibodies were used in IF to analyze the protein localization. ML141 and CK666 were used to Cdc42 and Arp2/3 complex inhibition analysis. Cell migration was analyzed by wound healing assay.

Results and Discussion: OA induced rapid cell membrane ruffling of TNBC cells with significant formation of filopodia. Cdc42 was found to be potentially activated indicated by nucleus translocation. Arp2/3 complex only showed translocation change in MDA-MB-231 cells. Accordingly, inhibition of Cdc42, but not Arp2/3, abolished OA induced filopodia formation and cell migration. Bioinformatic analysis showed a high expression Cdc42 in TNBC and was associated with lower survival rate. Lastly, PLD2 was found to be involved in Cdc42-dependent filopodia signaling and cell migration. In conclusion, we showed that OA could promote TNBC cell migration by enhancing filopodia formation in a PLD2/Cdc42 pathway.

O3 - Un mécanisme de compensation prévient l'apparition de défauts associés au syndrome CHARGE chez les organismes présentant une déficience complète de FAM172A

Elizabeth Leduc[1], Lise Rivollet[2], Benoit Grondin[1], Sephora Sallis[1], Claire Bénard[2], Malika Oubaha[3], Nicolas Pilon[1]

[1]Laboratoire de génétique moléculaire du développement, Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada, [2]Laboratoire de génétique moléculaire, Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada, [3]Laboratoire de sénescence et développement vasculaire, Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada.

Des mutations du gène codant pour le régulateur co-transcriptionnel FAM172A ont été associées au syndrome CHARGE, une maladie génétique rare caractérisée par de multiples malformations. L'ensemble de ces malformations est répliqué chez les souris homozygotes pour un allèle hypomorphe de *Fam172a* (*Fam172a*$^{Tp/Tp}$). Étonnamment, la perte de fonction totale de FAM172A dans la lignée *Fam172a*$^{KO/KO}$ semble toutefois beaucoup moins problématique, avec pour seules conséquences une diminution de la fertilité et un léger retard de croissance. Des observations similaires ont été réalisées dans diverses lignées de *C. Elegans* portant une mutation dans le gène orthologue, *Y75B8A.31*. Ceci suggère donc qu'un mécanisme de compensation est engagé lorsque la perte de fonction de FAM172A atteint un seuil critique.

En accord avec cette hypothèse, une analyse transcriptomique de fibroblastes embryonnaires *WT* vs *Fam172a*$^{Tp/Tp}$ vs *Fam172a*$^{KO/KO}$ a mis en évidence la régulation à la hausse de nombreux gènes adaptatifs (enzymes métaboliques, régulation rédox, synthèse protéique) lors de la perte de FAM172A. Le facteur de transcription ATF4 étant le principal régulateur de la réponse intégrée au stress, engendrant cette signature transcriptomique, nous avons ensuite vérifié si le gène *Atf4* était une cible directe de FAM172A. Des analyses CUT&RUN et transcriptomiques ont permis de le valider, démontrant la présence de FAM172A au promoteur d'*Atf4* et sa surexpression lors de la perte de FAM172A. Ainsi, notre modèle de travail actuel suggère que FAM172A limite l'activation par ATF4 de la réponse intégrée au stress, alors que la perte critique de FAM172A la déclenche, prévenant alors le développement de malformations.

O4 - Mitochondrial dysfunction: the endocytic pathway connection

anjali vishwakarma[1], lilia chikhi[1], mathieu ouellet[1], kiran todkar[1], marc germain[1]

[1]Université du Québec à Trois-Rivières

Mitochondria, commonly regarded as the cellular powerhouse, have recently gained recognition for their involvement in various biological processes. They interact with organelles like the endoplasmic reticulum, peroxisomes, and lysosomes, impacting functions such as calcium signalling, apoptosis, and cellular metabolism. Given their roles in regulating endocytosis, understanding the connection between mitochondrial dysfunction and the endocytic pathway is important. Mitochondria plays a vital role in regulating the structure and function of lysosomes, which are organelles that receive and degrade materials from early endosomes in the endocytic pathway. Since lysosomes are the terminal organelle in the endocytic pathway, our goal was to explore the changes in early endosomes in mitochondrial dysfunction cells. To study this, we used various chemical and genetic cellular models. We focused on OPA1 knockout (KO) cells, which are linked to a rare disease called dominant optic atrophy. We also examined cells from patients with mitochondrial disorders.

Our work reveals that mitochondrial dysfunction leads to perinuclear aggregation of early endosomes, disrupting cargo trafficking to lysosomes and recycling endosomes. We found that this is caused by oxidative stress-dependent changes in centrosomes and microtubules. Importantly, antioxidants that decrease the oxidative stress present in cells with mitochondrial dysfunction rescued this endosomal phenotype. Altogether, our work identified a new crosstalk between mitochondria and early endosomes, providing valuable insights into the pathogenesis of neurodegenerative diseases and potential therapeutics targeting mitochondrial-endosomal interactions.

O5 - A mitoproteomic analysis of flavivirus-infected cells unveils the proviral role of PLA2G15 and the alteration of the mitochondria-lysosome contacts sites

Viviana Andrea Barragan Torres[1], Olus Uyar[1], Nicolas Tremblay[1], Anais Anton[1], Andreas Pichlmair[2], Pietro Scaturro[3], Laurent Chatel-Chaix[1]

[1]INRS, [2]Institute of Virology, Technical University of Munich, School of Medicine, Munich, Germany, [3]Institute of Virology, Technical University of Munich, School of Medicine, Munich, Germany

Dengue virus (DENV) and Zika virus (ZIKV) are two expanding flaviviruses, whose viral infections constitute major public health concerns worldwide, especially considering that no antivirals are available for these viruses. Published and preliminary work from our research group has demonstrated that both DENV and ZIKV alter the morphology of the mitochondria, which is accompanied with major perturbations in their roles in metabolism, apoptosis, and innate immunity. Considering this, we hypothesized that DENV and ZIKV hijack mitochondrial functions by modulating their composition and interaction with other cytoplasmic components. To assess this, we performed a label-free mass spectrometry-based proteomic analysis of mitochondria isolated from control and DENV- or ZIKV-infected cells complemented with a medium-throughput RNAi screening. We identified SNX33, KDM5A and PLA2G15 as flavivirus regulators whose mitochondrial association was significantly changed upon infection. Notably, the knockdown or the pharmacological inhibition of the lysosomal phospholipase PLA2G15 impaired viral replication. Live cell imagining of infected cells showed alterations in the mobility and distribution of lysosomes upon flavivirus infection. This correlated with a decrease in PLA2G15/mitochondria colocalization (in accordance with our mitoproteome data) as well as in the global abundance of contact sites between lysosomes and mitochondria as assessed by proximity ligation assays. The contribution of PLA2G15 to this flavivirus-mediated morphological alteration is currently under investigation. PLA2G15 inhibitors will be challenged in *in vivo* infections models to assess their therapeutic potential against DENV and ZIKV infection.

O6 - AltSLC35A4, an alternative protein has a key role in mitochondria

Ikram Ajala[1], Damien Lipuma[1], Benoît Grondin[1], Imadeddine Tiaiba[1], Benoît Vanderperre[1]

[1]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines - Fondation Courtois, et Département des Sciences Biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada

BACKGROUND: Dystroglycanopathies are a type of muscular dystrophies classified as rare diseases caused by abnormal glycosylation of α-dystroglycan. Glycosylation is partially corrected by restoration of CDP-ribitol levels in patients, but a curative treatment remains absent. We are interested in the *SLC35A4* gene encoding two proteins: SLC35A4 and AltSLC35A4. The poorly characterized reference protein SLC35A4 is implicated in CDP-ribitol import in the Golgi. The alternative protein AltSLC35A4 is highly conserved but uncharacterized.

OBJECTIVE: To investigate the molecular and cellular function of AltSLC35A4.

METHODS & RESULTS: Using immunostaining in cultured cells, we show that AltSLC35A4 localized to mitochondria. Alkali treatment and proteinase K assay on purified mitochondria revealed that AltSLC35A4 is inserted in the inner mitochondrial membrane. To identify AltSLC35A4-interacting proteins, we performed co-immunoprecipitation followed by mass spectrometry. Strikingly, we found that AltSLC35A4 interacts with mitochondrial cytoskeleton proteins (MYH9, MYH10, beta-actin and myosin/actin related proteins), suggesting a role in mitochondrial DNA replication or mitochondrial dynamics. These results will be confirmed by Turbo-ID. We generated knock-out and rescued cells to further explore AltSLC35A4's mitochondrial function and explore transcriptomic perturbations by RNA-seq.

CONCLUSIONS: Our study provides the first insight into the localization and interactions of AltSLC35A4. Future research will explore its molecular and cellular roles, deepening our understanding of its involvement in mitochondrial processes such as fission or mitochondrial DNA replication, that are found impaired in several muscular dystrophies.

O7 - The MSL2-associated neurodevelopmental disorder (MANDS), its distinct episignature and related cellular epigenetic dysregulation

Maria Carla Borroto[1, 2], Remzi Karayol[3], Sadegheh Haghshenas[4], Anoja Namasivayam[3], Jack Reilly[5], Michael A Levy[4], Raissa Relator[4], Jennifer Kerkhof[4], Haley McConkey[4], Maria Shvedunova[3], Andrea K Petersen[6], Kari Magnussen[6], Christiane Zweier[7], Georgia Vasileiou[8], André Reis[8], Juliann M Savatt[9], Meghan R Mulligan[10], Louise S Bicknell[10], Gemma Poke[11], Aya Abu-El-Haija[12], Jessica Duis[13], Vickie Hannig[14], Siddharth Srivastava[12], Natalie S Hauser[15], Myrthe van den Born[16], Uri Hamiel[17], Hagit B Feldman[17], Noa Henig[17], Shane McKee[18], Ingrid P C Krapels[19], Yunping Lei[20], Albena Todorova[20], Ralitsa Yordanova[21], Slavena Atemin[22], Mihael Rogac[23], Vivienne McConnell[18], Anna Chassevent[24], Kristin W Barañano[25], Vandana Shashi[26], Jennifer A Sullivan[26], Angela Peron[27], Maria Iascone[28], Maria P Canevini[29], Jennifer Friedman[30], Iris A Reyes[30], Janell Kierstein[13], Joseph J Shen[31], Faria N Ahmed[31], Xiao Mao[32], Justine Rousseau[1], Kenneth A Myers[33], Bekim Sadikovic[4], Asifa Akhtar[3], Philippe M Campeau[1]

[1]CHU Sainte-Justine, [2]Université de Montréal, [3]Max-Planck Institute of Immunobiology and Epigenetics, [4]Verspeeten Clinical Genome Centre, [5]Clinical Neurological Sciences and Epidemiology, Western University, [6]Randall Children's and Legacy Emanuel Hospitals, [7]Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, [8]University Hospital Erlangen, [9]Autism & Developmental Medicine Institute, [10]University of Otago, [11]Genetic Health Service New Zealand, [12]Boston Children's Hospital, [13]University of Colorado, [14]Vanderbilt University Medical Center, [15]Inova Fairfax Hospital, [16]Erasmus MC, [17]Tel Aviv Sourasky Medical Center & Sackler Faculty of Medicine, [18]Belfast City Hospital, [19]Maastricht University Medical Center, [20]Baylor College of Medicine, [21]Medical University-Plovdiv, [22]Genetic Medico-Diagnostic Laboratory Genica, [23]University Medical Center Ljubljana, [24]Kennedy Krieger Institute, [25]Johns Hopkins University School of Medicine, [26]Duke University School of Medicine, [27]San Paolo Hospital, [28]ASST Papa Giovanni XXIII, [29]University of Milan, [30]Rady Children's Hospital, [31]UC Davis, [32]Hunan Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, [33]Research Institute of the McGill University Health Centre

Epigenetic dysregulation has emerged as an important etiological mechanism of neurodevelopmental disorders (NDDs). Pathogenic variation in epigenetic regulators can impair deposition of histone post-translational modifications leading to aberrant spatiotemporal gene expression during neurodevelopment. The male-specific lethal (MSL) complex is a prominent multi-subunit epigenetic regulator of gene expression and responsible for histone 4 lysine 16 acetylation (H4K16ac). Using exome sequencing, here we identify a cohort of 21 patients with heterozygous *de novo* variants in MSL complex member *MSL2*. Pathogenic *MSL2* variants were associated with NDD phenotypes including global developmental delay, intellectual disability, hypotonia, and motor issues such as coordination problems, feeding difficulties, and gait disturbance. Dysmorphisms and behavioral and/or psychiatric conditions, including autism spectrum disorder, and to a lesser extent, seizures, connective tissue disease signs, vision problems, and other organ anomalies were observed in affected individuals. As a molecular biomarker, a sensitive and specific DNA methylation episignature has been established. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) derived from three *MSL2* patients exhibited reduced MSL2 levels. Remarkably, while NDD-associated variants in two other members of the MSL complex (*MOF* and *MSL3*) result in reduced H4K16ac, global H4K16ac levels are unchanged in iPSCs with *MSL2* variants. Regardless, *MSL2* mutations altered the expression of MSL2 targets in iPSCs and upon their differentiation to early germ layers. Our study defines the *MSL2*-associated neurodevelopmental syndrome (MANDS) as an NDD with distinguishable clinical features, a specific blood DNA episignature, and a distinct, MSL2-specific molecular etiology compared to other MSL complex-related disorders.

O8 - Investigation of rfc1 loss of function as a cause of the Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS) in a zebrafish model

Fanny Nobilleau[1], Meijiang Liao[2], Sanaa Tork[3], Nicolas Pillon[3], Kessen Patten[1, 4], Éric Samarut[1, 2]

[1]Université de Montréal, Montréal, Canada, [2]Centre de recherche du CHUM, Montréal, Canada, [3]UQAM, Montréal, Canada, [4]INRS-Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, Laval, Canada

The Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS) is a rare adult-onset ataxia with a prevalence of less than 1 in a million, characterized by imbalance and sensory neuropathy. Recent findings identified a biallelic intronic repeat expansion in the RFC1 gene as a major cause of CANVAS. RFC1 encodes a subunit of the replication factor C required for DNA replication and repair. Whereas the reference allele contains eleven repeats of the pentanucleotide AAAAG11, the pathogenic expansion is usually composed of hundreds of repeats.

However, the pathogenic mechanisms underlying are unknown. Recent papers identified frameshift mutations in *RFC1*, suggesting that a loss of function could drive pathogenicity.

Since knocking-out *RFC1* in mammals leads to embryonic lethality, we generated a zebrafish loss-of-function (KO) model of *rfc1* using CRISPR/Cas9 mutagenesis. We found that *rfc1*$^{-/-}$ larvae survive until 10 days post-fertilization (dpf). We showed that *rfc1*$^{-/-}$ embryos depict a severe morphological phenotype from 2 dpf onwards, characterized by a reduced head size and underdeveloped eyes. More importantly, we showed that the development of the cerebellum is severely affected with disorganized Purkinje cell organization and a severe reduction in the number of granule cells at 3 dpf. Our ongoing work now investigates how *RFC1* might regulate cerebellar cell progenitors' migration and/or differentiation *in vivo*.

Altogether, our work is the first to suggest that the CANVAS is, at least partially, caused by *RFC1* loss of function mechanisms. This is of particular importance in the identification of early CANVAS biomarkers needed for improving diagnosis and therapeutic perspectives.

O9 - Mécanismes de maintenance de l'architecture du système nerveux : rôle de SAX-7/L1CAM et des cellules gliales

Marin Pascal[1], Marie Biard[1], Lise Rivollet[1], Claire Bénard[1, 2]

[1]Dépt. Sciences Biologiques, centre de recherche CERMO-FC, Université du Québec à Montréal,
[2]Dépt. Neurobiology, University of Massachusetts Chan Medical School, USA

Le système nerveux est assemblé chez l'embryon, puis **son architecture est maintenue sur le long terme** pour protéger les structures neuronales face à divers défis mécaniques. Des erreurs de formation ou de maintenance neuronale peuvent mener à des maladies neurodéveloppementales et neurodégénératives. Pour déchiffrer ces mécanismes, nous utilisons le ver *C. elegans*. Chez le nématode, une molécule clé de maintenance neuronale est SAX-7. Cette protéine qui fonctionne à la surface des neurones est homologue à la molécule d'adhésion cellulaire L1CAM. Chez des mutants nuls de *sax-7*, des neurones qui se développent normalement deviennent ensuite désorganisés. Grâce aux rapporteurs fluorescents que nous avons généré, nous avons remarqué que les cellules gliales avoisinantes de ces neurones ont également des défauts, qui précéderaient ceux des neurones. Pour comprendre l'implication la glie dans la protection du système nerveux, et le rôle de SAX-7 dans ce mécanisme, nous faisons des expériences de sauvetage des défauts neuronaux, synaptiques et gliaux en rétablissant *sax-7(+)* spécifiquement dans les neurones ou dans les glies. Nous testons aussi les effets de l'élimination de cellules gliales par apoptose contrôlée à différents moments de la vie de l'animal (par optogénétique, LaserTAC). Enfin, nous poursuivons l'étude moléculaire de SAX-7, en testant la fonctionnalité de versions recombinantes à copie unique. À terme, nos travaux pourraient aider au développement de stratégies thérapeutiques des patients atteints par le syndrome CRASH (<1/30000), qui est causé par des mutations dans L1CAM et ne bénéficie pas de traitement, ainsi qu'à la détection/traitement d'autres troubles neurologiques mal compris.

O10 - Étude métabolomique ciblée et non ciblée du syndrome de Hunter par LC-HRMS

Nathan Ghafari[1], Iskren Menkovic[2], Pamela Lavoie[2], Michel Boutin[2], Christiane Auray-Blais[2], Lekha Sleno[1]

[1]Université du Québec à Montréal (UQAM), Département de chimie, Montréal, QC, Canada, [2]Départment de pédiatrie, Service de génétique médicale, Faculté de médecine et des sciences de la santé Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada

La mucopolysaccharidose de type 2 (syndrome de Hunter) est une maladie rare dont la prévalence est de 1/100 000, et qui touche principalement les jeunes garçons. Elle est causée par une déficience enzymatique en iduronate sulfatase, qui va entraîner l'accumulation de glycosaminoglycanes (GAG), provoquant ainsi de multiples symptômes, tels que l'hydrocéphalie, l'hypertrophie du foie, la perte d'audition ou encore des problèmes respiratoires.

Dans cette étude métabolomique, une combinaison de méthodes LC-MS/MS ciblées et non ciblées a été utilisée pour observer les variations causées par MPS II dans un modèle de souris. Les métabolites ont été extrait à partir de foies de différents groupes de souris (sain, malade et traité par thérapie enzymatique substitutive). Une analyse quantitative ciblée a été réalisée à l'aide d'un kit commercial mesurant jusqu'à 623 métabolites (Biocrates) en utilisant la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-sMRM). Des étalons internes deutérés, ainsi qu'une gamme de calibration externe ont permis la quantification absolue de 546 métabolites. Une approche non ciblée a également été adoptée, avec et sans étape de dérivatisation, en utilisant un système de temps de vol quadripolaire à haute résolution pour compléter la méthode ciblée. Cette approche a permis d'identifier plus de de 800 métabolites. Les résultats obtenus à l'aide des méthodes ciblées et non ciblées seront comparés afin d'identifier et de mieux comprendre les variations métaboliques engendrés par MPS II. Une attention particulière sera portée sur les éventuelles biomarqueurs indiquant que le traitement enzymatique corrige les perturbations liées à la maladie.

Laurent Cappadocia

Outils moléculaires pour promouvoir la SUMOylation des variants de la protéine MeCP2 et faciliter le traitement du Syndrome de Rett

Le syndrome de Rett est une maladie rare et orpheline affectant majoritairement les filles et qui se manifeste par un développement anormal du système nerveux central. Ce syndrome est causé par des mutations survenant dans la région codante du gène MeCP2. La physiologie moléculaire de MeCP2 est complexe et des études récentes soulignent l'importance de modifications post-traductionnelles comme la SUMOylation dans la régulation de cette protéine. Notre objectif est de développer des outils moléculaires afin de modifier le niveau de SUMOylation de la protéine MeCP2 et déterminer l'impact de cette SUMOylation sur la fonction de cette protéine. Nous émettons l'hypothèse que la SUMOylation pourrait rétablir certaines des propriétés de la protéine MeCP2 et ainsi atténuer les effets néfastes des mutations. Cette présentation abordera les progrès réalisés envers la conception d'outils moléculaires permettant la SUMOylation de protéines d'intérêt ainsi que le développement de méthodes biochimiques et computationnelles associées.

François Dragon

Le poisson zèbre comme modèle pour étudier une nouvelle ribosomopathie

Nous allons faire une mise à jour de notre projet de recherche intitulé « Implementation of a zebrafish model to study a novel rare disease with severe developmental defects » qui porte sur une nouvelle ribosomopathie. Ces maladies d'origine génétique sont très rares et résultent de défauts de fabrication et/ou de fonctionnement des ribosomes.

Nos travaux actuels portent sur SHQ1, une protéine chaperone qui joue un rôle primordial dans la longue chaîne d'assemblage des ribosomes. Ce projet de recherche a été initié suite à l'identification de variants du gène SHQ1 chez deux sœurs (Canada) et deux frères (Australie). Les jeunes patients présentent un retard de développement, une hypotonie et une forme précoce de dystonie. Comme le gène SHQ1 est très conservé, la levure Saccharomyces cerevisiae a été utilisée comme modèle pour les analyses initiales des variants. Tel qu'anticipé, les mutations dans SHQ1 ont un effet délétère sur la formation des ribosomes. Pour mieux comprendre les conséquences neurologiques de ces mutations, nous avons entrepris de les étudier dans un modèle génétique très bien adapté à ce genre d'analyse, le poisson zèbre Danio rerio. Notre stratégie consiste à exprimer les formes mutantes du gène SHQ1 d'origine humaine dans des embryons de manière à suivre les effets précoces de ces mutations. D'autre part, nous voulons générer un modèle knock-out pour ce gène afin d'analyser les conséquences morphologiques et comportementales chez les poissons. L'ensemble de nos travaux permettra d'explorer les fondements d'une nouvelle maladie rare qui s'ajoute à la liste croissante des ribosomopathies.

François Dragon[1] et Kessen Patten[2]

1 CERMO-FC, Département des sciences biologiques, UQAM. 2 CERMO-FC, Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, INRS

1 - Kinase AMPK/AAK-1 and the homeostatic regulation of stem cell in C. elegans.

Xavier Lechasseur[1], Patrick Narbonne[1], Ange Brou[1], Olivier Gagné[1]

[1]Département de biologie médicale, UQTR

In *C. elegans*, homeostatic signaling blocks germline stem cell (**GSC**) proliferation when oocytes accumulate in the proximal part of the gonad as a result of sperm depletion. AAK-1, the *C. elegans* ortholog of the human AMP-activated protein kinase (AMPK), is required for homeostatic downregulation of GSC proliferation. We aimed to determine in which tissue(s) AAK-1 was required for homeostatic signaling. We first tagged endogenous AAK-1 using CRISPR/Cas9 to find that it was highly expressed in the gonadal sheath cells, but was also present at lower levels in the distal tip cell (DTC), intestine, and throughout the germline. We next performed *aak-1(RNAi)* in the *rrf-1* and *ppw-1* backgrounds to inactivate *aak-1* specifically in the germline and soma, respectively. These experiments clearly showed that AAK-1 expression was required in somatic tissues for homeostatic signaling, and thus functions cell non autonomously to suppress GSC proliferation. Using tissue-specific rescuing transgenes to restore AAK-1 function in *aak-1(-)* mutants, we determined that AAK-1 expression in the gonadal sheath cells was sufficient to rescue homeostatic signaling. Interestingly, the growth signaling effector MPK-1/MAPK is sufficient to promote GSC proliferation within the same tissue, raising the hypothesis that AAK-1 may interact with MPK-1 in the sheath cells to stop GSC proliferation. To genetically order this interaction, we constructed an *aak-1(-) mpk-1(-)* double mutant. The phenotype of this double mutant was similar to the *mpk-1(-)* phenotype, suggesting that *aak-1* may act upstream to inhibit *mpk-1* during homeostatic signaling, as part of the same pathway.

2 - Caractérisation d'une variante rare de la sous-unité PSMC5 du protéasome

Valerie C. Cabana[1, 2], Roxane Martel[1, 2], Marc P. Lussier[1, 2]

[1]Département de Chimie, Faculté des sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada., [2]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines, Fondation Courtois (CERMO-FC), Faculté des sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada.

Le protéasome est un complexe multiprotéique essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire. Il régule l'abondance des protéines et élimine les protéines mal repliées qui pourraient altérer ou endommager les fonctions cellulaires. PSMC5 est une des six ATPases situées dans la partie régulatrice 19S du protéasome. Récemment, une analyse génétique exhaustive chez une jeune Montréalaise de moins de 5 ans confirme la présence de novo d'une mutation dans gène PSMC5. Nous générons présentement des lignées cellulaires stables afin de tester l'hypothèse que la variante protéique de PSMC5 entraîne une réduction de l'activité du protéasome. Des résultats préliminaires dans des cellules HeLa transfectées démontrent que la variante de la protéine PMSC5 colocalise fortement avec des « agrégats » contenant de l'ubiquitine. Les travaux à venir permettront d'approfondir l'impact du variant PSMC5 sur l'activité du protéasome ainsi que sur le développement neuronal.

3 - Caractérisation de l'interaction entre la petite GTPase Arl8B et l'ubiquitine ligase RNF13

Audrey M. Sénécal[1], Valérie C. Cabana[1], Antoine Y. Bouchard[1], Laurent Cappadocia[1], Marc P. Lussier[1]

[1]Département de chimie, Faculté des sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada.

Le gène codant pour la protéine à domaine à doigt de zinc de type RING 13 (RNF13) est muté dans une forme rare et très grave d'épilepsie, soit l'encéphalopathie développementale et épileptique associée à RNF13, la DEE73. RNF13 est associée à des fonctions neurobiologiques et les phénotypes cliniques suggèrent fortement que RNF13 possède des fonctions importantes, mais encore inconnues dans le développement neuronal physiologique. Toutefois, plusieurs évidences suggèrent que RNF13 est impliquée dans la dégradation, le trafic et la localisation des protéines. Ce projet vise donc à identifier et à caractériser des protéines interagissant avec RNF13, afin d'améliorer les connaissances entourant l'impact de RNF13 au niveau de la voie endolysosomale neuronale. Ainsi, pour identifier des complexes protéiques associés à RNF13, Alphafold a été utilisé pour prédire des interactions possibles entre RNF13 et plus de 500 candidats. Parmi tous les candidats analysés, la petite GTPase Arl8B, qui est importante pour la fonction neuronale en contrôlant le trafic des vésicules synaptique, a été prédite pour interagir fortement avec RNF13. Comme prédit, une interaction entre RNF13 et Arl8B a pu être détectée par co-immunoprécipitation et l'interaction a été caractérisée (validation de l'interaction, de la localisation intracellulaire et identification des résidus d'interaction mutuels). De plus, nos résultats préliminaires suggèrent que l'interaction RNF13-Arl8B est fonctionnellement impliquée dans le trafic endolysosomal. En bref, cette étude permettra de mieux comprendre les fonctions cellulaires de RNF13 sur le tri endolysosomal et sur la fonction neuronale.

4 - La protéine adaptatrice AP-1 contribue à l'adressage des variantes protéiques liées à DEE73 vers les endosomes

Valerie C. Cabana[1, 2], Audrey M. Sénécal[1, 2], Antoine Y. Bouchard[1, 2], Laurent Cappadocia[1, 2], Marc P. Lussier[1, 2]

[1]Département de Chimie, Faculté des sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada., [2]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines, Fondation Courtois (CERMO-FC), Faculté des sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada.

À ce jour, plus de 100 gènes ont été associés à des encéphalopathies développementales et épileptiques (DEE). La DEE73 est causée par des altérations du gène codant pour l'ubiquitine ligase RNF13 bien que seulement deux variants, Leu311Ser et Leu312Pro, ont été associés à cette pathologie. Notre équipe a démontré que le trafic intracellulaire de RNF13 est assuré par un motif qui entre en contact avec des protéines de transport. RNF13 se localise dans les compartiments endolysosomaux en raison de son motif dileucine qui se lie au complexe de protéine adaptatrice 3 (AP-3). Les mutations dans le motif dileucine réduisent la capacité de RNF13 à interagir avec AP-3. En conséquence, ceci diminue la présence des variants L311S et L312P dans les lysosomes. Grâce au programme de prédiction de structure AlphaFold, nous avons découvert un autre motif permettant à RNF13 d'interagir avec AP-1, connu pour le transport entre le Golgi et les endosomes. L'objectif de l'étude est de caractériser l'importance de ce deuxième motif dans le trafic de RNF13. Lorsque ce nouveau motif ainsi que le motif dileucine sont altérés, l'export de RNF13 à partir du Golgi est inhibé. Par ailleurs, la répression génique d'AP-1 n'altère pas le transport de la protéine WT aux endosomes alors que les variants L311S et L312P se retrouvent coincés dans le Golgi, suggérant que ces variants empruntent une voie AP-1-dépendente. La poursuite de nos travaux permettra de révéler des informations précieuses sur les mécanismes altérés par les variations génétiques associées à DEE73.

5 - MIG-6/Papilin assure le maintien de l'architecture neuronale en remodelant la matrice extracellulaire et en influençant la voie de signalisation TGF-β

Ivan Valette[1], Malika Nadour[1], Noémie Frébault[1], Marie Biard[1], Lise Rivollet[1], Claire Bénard[1, 2]

[1]Dept Biological Sciences, CERMO-FC Research Center, Université du Québec à Montréal, Canada,
[2]Dept Neurobiology, University of Massachusetts Medical School, USA

Suite au développement neuronal embryonnaire, l'architecture du système nerveux est maintenue au long de la vie, malgré la croissance, la maturation et le vieillissement, assurant ainsi la fonctionnalité de circuits neuronaux. Nous cherchons à décortiquer les mécanismes de maintenance neuronale, tant intrinsèques qu'extrinsèques aux neurones, en utilisant *C. elegans* comme modèle. Nous avons identifié des mutants de *sax*-7/L1CAM, codant pour une molécule d'adhésion neuronale, dont des structures neuronales se développent normalement initialement, mais deviennent désorganisées par la suite. De plus, nous avons découvert des mutations du gène *mig-6* capables de supprimer les défauts de maintenance neuronale des mutants *sax-7*. MIG-6/Papiline est une molécule conservée de la matrice extracellulaire similaire aux ADAMTS. Nos analyses révèlent que la perte de *mig-6* conduit à la formation de structures fibrotiques de collagène IV, dont l'accumulation contribue à la maintenance neuronale. Aussi, la voie de TGF-β, régulatrice de la fibrose chez les mammifères, impacte le remodelage du collagène IV chez le ver et participe au maintien neuronal. En effet, lorsque *mig-6* est dysfonctionnel, l'interruption de la signalisation TGF-β accroît le nombre de structures fibrotiques de collagène IV et améliore la maintenance neuronale. A l'opposé, la suractivation de la voie TGF-β contrecarre la suppression de défauts de maintenance neuronale par la perte de *mig-6*. Ainsi, MIG-6/Papiline médie le maintien neuronal en interagissant avec TGF-β et en remodelant la matrice extracellulaire. Ces travaux aideront à déchiffrer les bases de maladies neurodégénératives rares incomprises à ce jour, pour contribuer au développement de diagnostic et/ou de thérapies.

6 - Cellular and molecular mechanisms underlying the neuronal dysfunction in Hunter syndrome

Ivan Valette[1] Marin Pascal[1], Méganne Latreille[1], Lise Rivollet[1], Claire Bénard[1, 2]

[1]Dept Biological Sciences, CERMO-FC Research Center, Université du Québec à Montréal, Canada,
[2]Dept Neurobiology, University of Massachusetts Medical School, USA

Mucopolysaccharidoses (**MPS**) are lysosomal storage disorders caused by mutations in genes encoding lysosomal enzymes that catabolise glycosaminoglycans. MPS II is a rare X-linked (~4/1000000 live-born males), progressive, multisystem disease caused by mutations in the **IDS** gene, which encodes the lysosomal enzyme iduronate-2-sulfatase. These mutations result in abnormal accumulation of heparan sulfate proteoglycans (HSPGs). Existing therapies are not curative, only attenuating symptoms with limited efficacy; intravenous enzyme replacement therapy with recombinant IDS is ineffective in the central nervous system, as it cannot cross the blood-brain barrier. Thus, current research focuses on understanding disease mechanisms to help develop new treatment strategies. One important question is how HSPGs accumulation leads to neuronal MPS II manifestations. Our hypothesis is that HSPGs are finely regulated for optimal extracellular matrix (**ECM**) composition via both biosynthesis and lysosomal degradation to ensure proper integrity and function of neurons and glia. Our goal is thus to determine the cellular and molecular consequences of dysregulated HSPGs on both neurons and glia, as well as on the ECM. We use *C. elegans*, an animal model for studying human disease, with significant evolutionary conservation with humans, including for HSPG biosynthetic enzymes/core proteins and ECM. We are assessing the impact of HSPGs dysregulation on neurons and glia, by using overexpression approaches and examining their localization and cellular consequences. We further aim to elucidate the relationships between HSPGs, ECM components, and lysosomal function.

7 - The extracellular matrix protein MIG-6/papilin mediates the maintenance of neuronal architecture

Malika Nadour[1], Ivan Valette[1], Marie Biard[1], Lise Rivollet[1], Andrea Thackeray[2], Philippe St-Louis[1], Maria Doitsidou[3], Claire Bénard[1, 2]

[1]Université du Québec à Montréal, [2]University of Massachusetts Medical School, [3]University of Edinburgh

After the embryonic assembly of the nervous system, neuronal circuits need to persist lifelong, but how neuronal organization is protected throughout life is not well understood. Research in our lab, using *Caenorhabditis elegans*, has uncovered neuronal and extracellular matrix molecules that are central to neuronal maintenance and act with great cellular specificity. One molecule identified in our genetic screen is MIG-6/Papilin, a conserved ADAMTS-like extracellular matrix protein, whose disruption suppresses neuronal maintenance defects in mutants for *sax-7*/L1CAM cell adhesion molecule. MIG-6/Papilin harbors a papilin cassette domain, present also in the extracellular matrix remodeling enzyme ADAMTS, which we show is required for neuronal maintenance. At the level of the extracellular matrix, *mig-6* mutants display fibrotic accumulations of collagen IV, whose high levels and reticulation are both necessary for neuronal maintenance. We hypothesize that the extracellular matrix is dynamically regulated to respond to the demands of maintaining neuronal organization, and that a crosstalk between neurons and the extracellular matrix is part of the mechanism. Moreover, we found that the TGF-β pathway, which is well known to regulate fibrosis in mammals, not only impacts collagen IV remodeling in the worm, but also participates in maintenance of neuronal architecture. Indeed, in *mig-6* mutants, loss of TGF-β signaling leads to increased collagen IV fibrotic structures accumulation and enhances the suppression of *sax-7* neuronal maintenance defects by loss of *mig-6*. Understanding neuronal maintenance, which involves the regulation/remodeling of the extracellular matrix, will provide insights into the pathogenic mechanisms of neurodegenerative conditions and rare connective tissues disorders.

8 - Understanding fibronectin-related skeletal dysplasia using in vitro and in vivo systems

Nazim Rabouhi[1, 2], Justine Rousseau[1], Raphaël Abourjaili-Bilodeau[1], Philippe Campeau[1]

[1]CHU Sainte-Justine Research Centre, [2]Univeristé de Montréal

Skeletal dysplasias are complex conditions affecting bone and cartilage growth. Our study focuses on unraveling the impact of fibronectin (FN) mutations on skeletal development in spondylometaphyseal dysplasia (SMD). We combine in vitro and in vivo analyses to elucidate the molecular mechanisms behind these conditions.

Our investigation starts with differentiation experiments using a CRISPR-modified ATDC5 chondrogenic cell line. These experiments indicate a fibronectin secretion defect, evident through cellular retention caused by the mutation as observed in both immunocytochemistry and western blot experiments. We then employ a mouse model with a p.Cys260Gly FN mutation (knockin - KI) introduced by CRIPSR, akin to an observed human mutation. Radiographic measurements, micro-computed tomography, and histological analysis of bone development over various time points (3, 7, and 8 weeks) were conducted but yielded non-significant differencesin WT versus KI, emphasizing the complexity of reproducing human phenotypes in mice.

Furthermore, our investigation includes immunohistochemistry analysis of FN staining in the growth plates of mutant mice femur and tibia, alongside a comprehensive examination involving three-dimensional micro-computed tomography analysis, specifically focused on assessing caudal vertebral heights.

Our research marks a significant stride in exploring the role of FN mutations in skeletal dysplasias. The insights garnered from this project have the potential to directly contribute to the advancement of therapeutic strategies, such as employing drugs decreasing the unfolded protein response.

9 - Bioactive copper(II) agents and their potential involvement in the treatment of copper deficiency-related orphan diseases

Mariela Gomez Perez[1], Narjara Gonzalez Suarez[1], Borhane Annabi[1], Mircea Alexandru Mateescu[1]

[1]Université du Québec à Montréal

The deregulation of copper homoeostasis can promote various diseases such as Menkes disease or hypertrophic cardioencephalomyopathy. We have recently synthesized solid copper(II) complexes ($[Cu(His)_2Cl_2]$ and $[Cu(Ser)_2]$), stable in physiological media and with potential as therapeutic agents. This report describes: i) the biocompatibility of these complexes at concentrations up to 100 µM using a differentiated Caco-2 cells model; ii) their transport across the intestinal epithelium using a transepithelial resistance assay and monitoring the amount of copper complexes at the apical and basolateral sides of the cells. The results suggest that the flow occurs through paracellular routes. The intracellular copper retention was <2.7% with no significant differences in intracellular copper content between 6 h and 48 h, suggesting an early copper retention process. Furthermore, this is the first evidence that demonstrates $[Cu(His)_2Cl_2]$ and $[Cu(Ser)_2]$ induce transcriptional downregulation of the four major copper transporters (*CTR1, DMT1, ATP7A, ATP7B*), and the upregulation of the metallothionein gene expression. A remarkable finding was the increase in cytochrome c oxidase activity observed after the treatment of differentiated Caco-2 cells with copper(II) complexes at concentrations of 50-100 µM. The understanding of the transport mechanisms of these copper(II) complexes across the intestinal epithelium and of their subsequent biological activities could contribute to the development of optimal pharmaceutical formulations for the therapy of copper deficiency-related diseases.

10 - Rôle d'EphrinB2 et EphB4 dans le remodelage vasculaire de l'œil et la sénescence au cours des rétinopathies vasculaires rares

Ariane Megne[1, 2], Malika Oubaha[1, 2], Amanda Szubinski[1], Abdoul Sango[1]

[1]Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Québec, Canada, [2]Centre d'excellence en recherche sur les maladies orphelines-Fondation Courtois (CERMO-FC)

La rétinopathie du prématuré (ROP), le vitré primitif hyperplasique persistant (PHPV) et la maladie de Coats sont des pathologies rares qui affectent le réseau vasculaire de l'œil et constituent un problème de santé majeur chez la population pédiatrique. En l'absence de traitement efficace, ces rétinopathies entraînent des complications allant d'un dysfonctionnent vasculaire à la perte totale de la vision, d'où l'importance de comprendre le développement vasculaire de l'œil dès le stade embryonnaire. Dès l'embryogenèse, les vaisseaux oculaires appelés hyaloïdes régressent pour être remplacés par les vaisseaux rétiniens. Dans les vaisseaux hyaloïdes et rétiniens, il a été découvert des populations de cellules sénescentes qui vieillissent précocement et participent à la revascularisation. Des études menées sur le développement vasculaire ont identifié des marqueurs moléculaires spécifiques des cellules endothéliales (CE) artérielles et veineuses qui expriment EphrinB2 et EphB4, respectivement. Le but de cette étude est d'effectuer une enquête approfondie sur le rôle de ces marqueurs artériel et veineux au cours du processus de remodelage vasculaire dans l'œil et l'implication de la sénescence lors du changement d'identité vasculaire dans un contexte physiologique et pathologique. Les profils d'expression des marqueurs de l'identité vasculaire ont été évalués à différents stades de développement par qRT-PCR et imagerie vasculaire. Nos résultats préliminaires révèlent un changement d'identité vasculaire et un processus de sénescence associé au cours du remodelage vasculaire. Ce projet apportera des réponses afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans le remodelage vasculaire et permettra de développer des cibles thérapeutiques pour le traitement des rétinopathies rares.

11 - In vivo functional study of an alternative protein encoded by the gene ZYX/zyx-1 with implications for dystrophinopathies

Noémie Frébault[1], Lise Rivollet[1], Benoît Grondin[1], Benoît Vanderperre[1], Claire Bénard[1, 2]

[1]Dept. Biological Science, CERMO-FC Research Center, Université du Québec à Montréal, Canada, [2]Dept. Neurobiology, University of Massachusetts Chan Medical School, USA.

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a rare genetic disease (5/100,000 people affected) caused by deficiency in the sarcolemmal protein dystrophin. Defective synapse maintenance and muscle degeneration are involved in this disease. The gene *ZYX* encodes Zyxin, a cell adhesion and mechanosensation protein, and its *C. elegans* homolog, *zyx-1*, is required for synapse maintenance and dystrophin-dependent muscle degeneration. Either overexpression or deficiency of *zyx-1* ameliorates the muscle degeneration phenotype caused by dystrophin deficiency, establishing *ZYX/zyx-1* as a promising therapeutic target for DMD treatment. In addition to encoding the canonical protein Zyxin, *ZYX/zyx-1* encodes a second distinct protein named AltZyxin produced from an alternative open reading frame (altORF), as revealed by mass spectrometry studies in both humans and *C. elegans*. Some AltORFs-encoded proteins have been found to physically interact with the canonical protein encoded by the same gene, modulating their expression, cellular localization, and molecular function. On the other hand, some alternative proteins have functions independent from the canonical protein. To decipher the mechanism by which the gene *ZYX/zyx-1* regulates synapse maintenance and muscular degeneration, we investigate the function of the alternative protein AltZyxin in synapse and muscle biology in *C. elegans*. For this, we have generated CRISPR-engineered mutations to disrupt either of the two encoded proteins specifically, and determine the behavioral and anatomical consequences. Neuron- and muscle-specific rescue assays, as well as localization studies using fluorescent reporters, will inform on the functions and interplay between Zyxin and AltZyxin. Finally, an *in vivo* TurboID screen is being prepared to identify AltZyxin interactors.

12 - INTS11 loss of function is associated with neurodevelopmental defects in zebrafish

Aveeva Herold[1], Meijiang Liao[1], Reza Maroofian[2], Éric Samarut[1]

[1]Univeristy of Montreal, CRCHUM, [2]Institute of Neurology, University College London, United Kingdom

The *INTS11* gene is a catalytic subunit of the Integrator complex that plays a central role in processing various nascent RNAs. Recently, patients with loss-of-function mutations in the *INTS11* gene have been reported to have severe neurodevelopmental issues, ataxic problems, and global developmental delays. To date, mutations in *INTS11* have not been linked to human diseases, and no evidence supports their role in neurodevelopmental problems. Therefore, we developed an *ints11* F0 CRISPRant knock-out (KO) model in zebrafish to functionally characterize loss-of-function mutations in this gene in vivo. Our *ints11*-KO larvae exhibited an increased accumulation of unprocessed snRNAs, confirming the disruption of the ints11 function. Moreover, *ints11*-KO larvae die prematurely by 14 days of age and display an aberrant behavioural phenotype, similar to other zebrafish genetic models of neurodevelopmental disorders. Furthermore, *ints11*-KO larvae show reduced brain size with reduced neuronal content. Finally, immunostaining results revealed a reduction in cerebellum size in our ints11-KO. Altogether, these data support the role of *INTS11* in brain development and are consistent with the neurodevelopment delays described in patients with deleterious mutations in this gene.

Our study shows how simple model organisms like zebrafish can help characterize the genetic etiology of genetic disorders. The results from our research could aid in more accurate diagnoses and open the path to unveiling key pathogenic mechanisms that could be leveraged for the development of treatment for patients with mutations in INTS11.

13 - Découverte par bioinformatique et caractérisation de ZNF24, une nouvelle SUMO E3 Ligase chez l'humain

Ali Harake[1], Antoine Bouchard[1], Laurent Cappadocia[1]

[1]UQAM-Departement de Chimie

La SUMOylation est une modification post-traductionnelle des protéines permettant aux cellules de s'adapter rapidement à des changements métaboliques ou environnementaux en modifiant les caractéristiques protéiques comme la localisation, la stabilité ou les interactions inter protéines. Cette modification réversible consiste en l'apposition d'une protéine nommée SUMO sur une protéine substrat via une liaison covalente. Son dérèglement peut causer des maladies telles que le cancer ou des maladies cardiovasculaires. La SUMOylation est un processus qui implique l'action de trois protéines : une E1 activant SUMO, une E2 conjuguant SUMO et une E3 amenant l'enzyme E2 vers des substrats spécifiques. Les E3 se divisent en 2 catégories: typiques (contenant un domaine RING) et atypiques (contenant d'autres motifs structuraux). Les atypiques contiennent des motifs d'interaction à SUMO (SIMs) qui sont permettent l'apposition de SUMO sur des protéines. Notre hypothèse est qu'il existe d'autres protéines ayant une activité E3 grâce à des motifs SIM ou des motifs similaires. Notre approche consiste en l'identification bio-informatique de protéines candidates grâce à des caractéristiques communes aux E3. Les candidats sont ensuite validés par un système rapporteur in bacterio. Ceux présentant une activité E3 auront un mécanisme d'action prédit par un programme de prédiction de structure Alphafold et validé in vitro. Nos travaux ont déjà mené à l'identification de une SUMO E3 Ligases: ZNF24. Cette protéine a été démontrée comme présentant une activité comparable à celle d'une ligase SUMO E3 déjà identifiée. Cette étude repousse les frontières de nos connaissance, offrant ainsi une compréhension plus approfondie des processus cellulaires.

14 - Le rôle du facteur cellulaire TMEM128 dans la réplication des flavivirus

Flavie Charbonneau[1], Viviana Andrea Barragan [1], Nicolas Tremblay [1], Anaïs Anton [1], Andreas Pichlmair [2], Pietro Scaturro [2, 3], Laurent Chatel-Chaix [1]

[1]Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, Institut national de la recherche scientifique, Laval, Canada, [2]Institute of Virology, Technical University of Munich, School of Medicine, Münich, Allemagne, [3]Leibniz Institute of Virology, Hambourg, Allemagne

Les flavivirus tels que le virus de la dengue (VDEN) et le virus Zika (VZIK) constituent un enjeu de santé publique majeur. Malheureusement, aucune thérapie antivirale n'est disponible à ce jour pour traiter ces maladies. L'infection par ces virus provoque une réorganisation spatiale et morphologique des mitochondries afin de créer un environnement intracellulaire qui est favorable à la réplication virale. En outre, suite à une analyse mitoprotéomique, nous avons récemment démontré que TMEM128, une protéine cellulaire encore non caractérisée, est recrutée à la mitochondrie lors de l'infection flavivirale et régule positivement la réplication virale par des mécanismes encore inconnus.

Nous faisons donc l'hypothèse que TMEM128 influence la réplication du VZIK et du VDEN par l'entremise de son interaction avec les mitochondries et la régulation de leurs fonctions. Tout d'abord, sa localisation intracellulaire sera caractérisée par microscopie confocale grâce à la surexpression d'une version étiquetée HA de la protéine. De plus, le rôle proviral de TMEM128 dans les cellules infectées par le VDEN ou le VZIK sera confirmée par une approche d'invalidation génétique (KO) par une approche CRISPR-Cas9. Finalement, le rôle de TMEM128 dans le cycle viral sera étudié en observant l'impact du KO de TMEM128 sur la morphologie mitochondriale, l'induction des interférons de type I et III, le métabolisme respiratoire, l'apoptose et la morphogenèse des usines de réplication flavivirale.

Au-delà d'élucider les fonctions endogènes de TMEM128, ce projet mettra en lumière une nouvelle interaction virus/hôte qui pourrait constituer une cible antivirale prometteuse.

15 - Increasing the detectability of phosphorylated metabolites as disease biomarkers by LC-HRMS/MS

Kathrina Mae Kumaresan[1], Nathan Ghafari[1], Lekha Sleno[1]

[1]UQAM

Metabolites are small molecule products and intermediates of metabolism that drive reactions essential for the survival of an organism. Phosphorylated metabolites are a group of these biomolecules that play essential roles in important metabolic pathways such as glycolysis, the pentose phosphate pathway and lipid metabolism. Due to their role in various metabolic pathways, perturbation in phosphometabolite concentrations can be linked to energy-related disorders. Therefore, studying these specific metabolites could allow a better understanding of perturbations in energetic pathways in disease. However, in many cases, phosphorylated metabolites are challenging to detect in complex biological samples by LC-MS/MS. We are currently developing an optimized workflow for sample preparation and increased detectability of these phosphometabolites in metabolite extracts. We have applied this method to look at perturbations in the liver of a MPS II (Hunter disease) mouse model and will contrast these results to those from untargeted metabolomics from the same samples.

16 - Molecular Mechanisms of Cellular Morphogenesis During Development

A.C Ramírez Suárez[1], R Dima [1], MB Tahé [1], Y Aghiles Chabi [1], L Rivollet [1], C Bénard[1]

[1]UQAM

Proper morphogenesis is critical for the development of highly specialized cells. Disturbances in cell morphology are intrinsically associated with defects in cell functions. Important progress has been made in deciphering the morphologic processes of outgrowth and guidance of cellular projections. However, the regulation of the appropriate number of cellular extensions remains unknown. Studies conducted by our group using *C. elegans* have revealed that the conserved heparan sulfate proteoglycan Syndecan is central in regulating the number of cell projections in the excretory canal cell. This cell is an excellent model for morphogenesis studies, and it shares developmental mechanisms with neurons. Our genetic analyses have further shown that Syndecan functions cell-autonomously, likely at its plasma membrane. Syndecan appears to cooperate with the Netrin guidance pathway receptors UNC-5/UNC5 and UNC-40/DCC, as well as with the extracellular membrane receptor integrin, to control cell projection number. We are progressing towards characterizing the distribution of these molecular players, and testing whether they depend on Syndecan function. We are also determining the functional requirements for integrins in this context. We are preparing a screen for intracellular interactors of Syndecan using a TurboID approach. On the long term, we will generalize the analysis of this mechanism in developing neurons. The proposed project is expected to contribute the understanding of pathogenic processes of orphan diseases like familial congenital mirror movement (ORPHA:238722) and the microvillus inclusion disease (ORPHA:2290) which are guidance receptors and cell polarity-based rare disorders.

17 - Syndécan, des molécules de guidage et des Rac-like GTPases coopèrent pour réguler le nombre d'extensions cellulaires dans des cellules polarisées

Raphaël Dima[1], Marianne Bah Tahé[1], Yann Chabi[1], Lise Rivollet[1], Anthony Arena[2], Alexandra Socovich[2], Daniel Shaye[2], Claire Bénard[1, 3]

[1]Dept Sciences Biologiques, centre de recherche CERMO-FC, Université du Québec à Montréal, Canada, [2]Dept Physiology and Biophysics, University of Illinois at Chicago, USA, [3]Dept Neurobiology, Univeristy of Massachusetts Medical School, USA

Au cours du développement animal, les cellules polarisées, y compris les neurones, établissent une morphologie spécifique pour assurer leur fonction. La cellule excrétrice de *C. elegans*, par exemple, crée quatre canaux le long de ses parois latérales pour l'osmorégulation, une fonction nécessaire à la survie des vers. Nous essayons de décortiquer un mécanisme permettant aux cellules polarisées de contrôler le nombre d'extensions qu'elles mettent en place lors de leur développement. Les protéoglycanes à chaînes d'héparane sulfate (HSPGs), composées d'un corps protéique et de chaînes latérales de glycosaminoglycanes d'héparane sulfate (HS), jouent un rôle crucial en régulant les interactions entre les signaux de guidage et leurs récepteurs lors d'événements morphogénétiques. Notre analyse de mutants hypomorphes de *rib-1* et *rib-2* chez *C. elegans*, les enzymes responsables de la synthèse des chaînes HS, a révélé que ces mutants ont des extensions surnuméraires : certains neurones unipolaires développent deux neurites, et la cellule excrétrice peut former jusqu'à huit canaux au lieu de quatre. SDN-1/Syndécan, un HSPG conservé, est essentiel pour réguler le nombre de canaux et fonctionne dans la cellule excrétrice. Il coopère avec des signaux et récepteurs de guidage spécifiques, ainsi qu'avec des régulateurs du cytosquelette (Rac-GTPases). Ainsi, notre étude aide à élucider les mécanismes de morphogenèse des cellules polarisées et éclaire le rôle de molécules de guidage, mise à défaut dans des pathologies génétiques rares, notamment la maladie des mouvements miroirs congénitaux. Ces découvertes enrichissent notre compréhension des troubles associés et ouvrent des voies pour des interventions futures.

18 - A molecular signature for the G6PC3 / SLC37A2 / SLC37A4 interactors in glioblastoma disease progression and in the acquisition of a brain cancer stem cell phenotype

Sima Torabidastgerdooei[1], Borhane Annabi[2]

[1]Département de chimie, Université du Québec à Montréal, [2]Chaire en prévention et traitement du cancer, Québec, Canada Département de chimie, Université du Québec à Montréal

Background: Glycogen plays an important role in glucose homeostasis and contributes to key functions related to brain cancer cell survival in glioblastoma multiforme (GBM) disease progression. Such adaptive molecular mechanism is dependent on the glycogenolytic pathway and intracellular glucose-6-phosphate (G6P) sensing by brain cancer cells residing within those highly hypoxic tumors. The involvement of components of the glucose-6-phosphatase (G6Pase) system remains, however, elusive. ***Objective:*** We questioned the gene expression levels of components of the G6Pase system in GBM tissues and their functional impact in the control of the invasive and brain cancer stem cells (CSC) phenotypes. ***Results:*** *In silico* analysis by GEPIA revealed higher expression in *G6PC3*, *SLC37A2*, and *SLC37A4* transcripts found in GBM tumor tissues in comparison to low-grade glioma and healthy tissue. The expression of these genes was validated by RT-qPCR and found elevated in established human U87, U251, U118, and U138 GBM cell models compared to human HepG2 hepatoma cells. *SLC37A4/G6PC3*, but not *SLC37A2*, levels were induced in 3D CD133/SOX2-positive U87 neurospheres when compared to 2D monolayers. Silencing of *SLC37A4*/*G6PC3* altered TGF-β-induced epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) biomarker SNAIL and cell chemotaxis. ***Conclusion:*** Two members of the G6Pase system, G6PC3, and SLC37A4, associate with GBM disease progression and regulate the metabolic reprogramming of an invasive and CSC phenotype. Such molecular signature may support their role in cancer cell survival and chemoresistance and become future therapeutic targets.

19 - Caractérisation du domaine GNAT de l'ARN acétyltransférase Kre33

Mouloud Faid[1], François Dragon[1]

[1]UQAM

Le syndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS), un syndrome progéroïde rare, est causée par une mutation génétique du gène *LMNA* et produit une protéine tronquée qui induit des anomalies nucléaires et des dysfonctions cellulaires. L'inhibition partielle de NAT10, une ARN acétyltransférase essentielle pour la biogenèse des ribosomes, a démontré des résultats prometteurs. NAT10 partage un domaine GNAT avec Kre33, son homologue chez la levure, incitant à étudier Kre33 pour mieux comprendre le rôle de NAT10 et améliorer les traitements de HGPS. Notre hypothèse est que l'altération d'un motif très conservé dans le domaine GNAT devrait provoquer des perturbations au niveau de la viabilité, la croissance cellulaire et la formation de N4-acétylecytidine (ac^4C) dans les ARNr 18S et $ARNt^{Ser/Leu}$. L'objectif principal est de muter ce motif de Kre33, puis d'analyser les fonctions métaboliques, la thermo-sensibilité et la formation des ribosomes pour évaluer l'impact de cette mutation sur le développement des levures. La méthodologie implique une mutagenèse dirigée du motif de GNAT, suivie de l'expression de l'enzyme Kre33 mutée à partir d'un plasmide dans une souche de levure contrôlée par le promoteur *GAL1*. Les résultats préliminaires des tests de viabilité indiquent une croissance plus lente à 30 °C (T optimale) et une thermo-sensibilité à 37 °C de la souche GAL::KRE33-MYC exprimant Kre33 mutée. De plus, les tests de croissance en milieu liquide ont révélé un ralentissement du taux de croissance de 13% de la souche mutée par rapport à la souche sauvage.

20 - Étude protéomique de larmes de patients atteints du syndrome de Sjögren

Maggy Lépine[1], Marie-Claude Robert[2, 3], Lekha Sleno[1, 3]

[1]Université du Québec à Montréal, Département de chimie, [2]Centre hospitalier de l'Université de Montréal, département d'ophtalmologie, [3]CERMO-FC, Centre d'Excellence de Recherche sur les Maladies Orphelines-Fondation Courtois

La sécheresse oculaire est l'une des maladies oculaires les plus fréquemment diagnostiquées dans le monde. Deux sous-types principaux existent, soit la sécheresse oculaire aqueuse, ainsi que la sécheresse oculaire évaporative. Le syndrome de Sjögren (SS) est une maladie auto-immune rare caractérisée par un dysfonctionnement des glandes exocrines, principalement les glandes lacrymales et salivaires qui provoque un syndrome de sécheresse oculaire aqueuse sévère. Elle est associée à un taux élevé de complications, notamment l'ulcération, la cicatrisation et la perforation de la cornée. Le patient peut également développer des complications systémiques et un risque plus élevé de développer un lymphome a été rapporté. Le diagnostic de la sécheresse oculaire impliquant le syndrome de Sjögren est difficile à établir.

Nous avons développé une méthode analytique non invasive pour l'étude des protéines lacrymales par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) dans le but d'identifier des biomarqueurs associés au syndrome de Sjögren.

Une liste de 74 protéines a été identifiée comme biomarqueurs potentiels. Ces protéines ont été filtrés sur la base d'une valeur p <0.05 et d'un changement d'intensité *(fold-change)* supérieur à 100%. La classification de ces protéines d'intérêt et l'ontologie des gènes ainsi que l'évaluation de l'implication des voies biologiques ont été effectués afin de réduire la liste de biomarqueurs potentiels. Cette étude permettra de mieux caractériser les voies biologiques impliquées dans le syndrome de Sjögren, mais aussi d'identifier un panel de biomarqueurs potentiels pour diagnostiquer la maladie.

21 - The PapMV-nano: A toll-like receptor agonist (7/8) in prevention of respiratory diseases

Philippe St-Louis[1], Marilène Bolduc[1], Henintsoa Rabezanahary[1], Megan Gilbert[1], Léa-Jeanne Blanchette[1], Caroline Garneau[1], Myriam Anger[1], Santa Mariela Olivera Ugarte[1], Julie-Christine Lévesque[1], Sachiko Sato[1], Mariana Baz[1], Denis Leclerc[1]

[1]Department of Microbiology, Infectiology and Immunology, Infectious Disease Research Center

Respiratory diseases are among the deadliest worldwide, causing an estimated 6 million deaths annually. Interventions to prevent and manage these diseases will have significant health and economic benefits. Toll-like receptors (TLRs) are sensors of pathogenic molecular patterns found in bacteria and viruses. TLRs 7 and 8 are localized in the endosome membrane and detect invading viral nucleic acids in the cytosol. Upon activation, they induce innate immunity, leading to the secretion of type I interferons and inflammatory cytokines. The activation of innate immunity in the lungs protects against respiratory diseases. However, the only TLR7/8 agonist on the market, imiquimod, can only be used topically due to severe adverse effects. Therefore, there is a need to find a safe way to stimulate TLR7/8 directly in the lungs. PapMV-nano is a rod-shaped plant virus-like nanoparticle made from recombinant papaya mosaic virus coat proteins assembled around a non-coding single-stranded RNA TLR7/8 agonist. We evaluated its internalization in macrophages by conventional and STED high-resolution confocal microscopy. We also evaluated the efficacy of PapMV-nano by immunizing mice through intranasal administration and confirmed the production of type I interferons and inflammatory cytokines. We then assessed the protective response of PapMV-nano by challenging K18-hACE2 mice with the ancestral SARS-CoV-2. We demonstrated that PapMV-nano reduced the severity of the illness compared to untreated mice. These preliminary results suggest that PapMV-nano is a promising approach to safely activate TLR7/8 directly in the lungs and could be used in the prevention of respiratory diseases.

22 - Pathogenic variants in a BLOC-One-Related Complex gene cause a neurodevelopmental disorder with lysosomal dysfunction that is recapitulated in a zebrafish model

Adeline Paimboeuf[1], Raffaella De Pace [2], Rezza Maroofian [3], Juan S.Bonifacino[2], Kessen Patten[1, 4]

[1]Institut National de la recherche, [2]National Institute of Health, [3]University College of London, [4]Université de montréal

BLOC-One-Related Complex (BORC) is a ubiquitously expressed protein complex composed of eight subunits named BORCS1-8. In line with its role in axonal lysosome transport, mutations in BORC subunits cause neurological defects in mice. The physiological importance of BORC in humans, however, remains to be determined. Five children from three families with a severe early-infantile neurodevelopment disorder was linked to pathogenic variants in the *BORCS8* gene. The affected individuals display global developmental delay, severe-to-profound intellectual disability, axial hypotonia, limbs spasticity, muscle wasting, dysmorphic facial morphology, optic atrophy and a leuko-axonopathy. We generated a *borcs8* F0 KO mutation in zebrafish using the CRISPR/Cas9 gene editing method. This model recapitulates the symptoms observed in the patients. Particularly, we found that *borcs8* F0 KO larvae exhibited a smaller body size, a smaller head and eye size compared to controls. We also show a defect in locomotor activity, explained by the reduced of areas of dorsal and ventral myotomes, but also by shorter and branching axons in our mutants and a drastic alteration in neuromuscular junction morphology in *borcs8* F0 KO larvae. Additionally, we found alterations in the lysosomal functioning in our mutants. Taken together, our study demonstrates that *borcs8* is critical for the development and function of the CNS.

23 - Prime editing in CAR T-cells at the MTOR locus for marker-free selection

Jean-Philippe Fiset[1], Sebastien Levesque[1], Yannick Doyon[1]

[1]Université Laval

The PI3K-AKT-mTOR signalling pathway, which is inhibited by rapamycin, plays a crucial role in regulating metabolism and is often overexpressed in tumor cells. This pathway represents an ideal target for our marker-free co-selection strategy. Prime editing is a CRISPR-based technology that enables the introduction of precise point mutations, small insertions, or short deletions without requiring donor DNA templates. We previously performed saturation prime editing at *MTOR* exon 45 to install all possible amino acid substitutions at a residue known to confer resistance to allosteric mTOR inhibition by rapamycin. We treated K562 cells with rapamycin and performed FACS-sorting followed by high-throughput sequencing. We identified five new rapamycin resistance mutations that altered mTORC1 activity and allowed robust growth and proliferation with or without drug treatment.

In the past, we developed a marker-free co-selection method using the CRISPR toolkit to simultaneously target a therapeutic transgene and the rapamycin-resistant mutation MTOR-F2108L. This approach has been demonstrated to be effective in CAR-T cells, where transposon-mediated insertion of the CAR and the MTOR-F2108L transgene allowed for the selection of CAR-T cells with rapamycin and an increase in their antitumor activity. However, current methods for CAR-T cell production rely on the random introduction, the use of prime editing techniques in CAR-T cells to modify the MTOR locus helps mitigate the risks associated with random vector insertion. Combined with our rapamycin-based selection strategy, this approach will enable the safer and more efficient selection of CAR-T cells and enhance their antitumor activity.

24 - Pathogenic validation of a new unstudied gene causing a neurodevelopmental disorder with microcephaly, dystonia and epilepsy.

Sabrina Maher[1, 2], Léa Lescouzeres[1], Elisa Calì[3], Reza Maroofian[3], Kessen Patten[1, 2]

[1]INRS- Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, Laval, Quebec, Canada, [2]Département de neurosciences, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada, [3]Department of Neuromuscular Diseases, UCL Queen Square Institute of Neurology, London, United Kingdom

Neurodevelopmental disorders (NDDs) represent a growing medical challenge in modern societies. Using genetic approaches, a homozygous recurrent deletion mutation in a new gene was identified in nine individuals from seven unrelated families with similar neurodevelopmental pathological profile. This NDD disease is characterized by a global developmental delay, microcephaly, epileptic encephalopathy, and movement abnormalities such as dystonia. The homozygous deletion mutation was identified in a new unstudied and well-conserved gene that is part of the mediator complex. To understand the underlying pathological mechanisms, we generated a new F0 knock-out (KO) zebrafish model using the CRISPR-Cas9 gene editing method. Our model recapitulates key clinical symptoms, such as morphological default, developmental impairment and movement abnormalities resulting in motor defects. More precisely, our model exhibits a small head and a reduce area of the brain, a decreased body length, as well as a smaller eye size compared to controls. The F0-KO zebrafish also shows defects in neuronal network in the brain and an increased seizure susceptibility. Lastly, our model also shows peripheral deficiencies such as muscles disorganisation. Altogether, these data identified a new gene associated with neurodevelopment. This new zebrafish disease model open perspectives for further studies on the pathophysiological mechanisms involved in a newly characterized neurodevelopmental disorder.

25 - Sex-and age-related distribution of Sigma-1R expression in the mouse brain

Khadija Tarmoun[1, 2], Véronik Lachance [1, 2], Victoria Le Corvec [1, 2], Said Kourrich [1, 2, 3]

[1]Department of Biological Sciences, University of Quebec at Montreal, Montreal, Canada, [2]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines - Fondation Courtois, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada , [3]Center for Studies in Behavioral Neurobiology, Concordia University, Montreal, QC, Canada

Sigma-1R (S1R) is a ubiquitous chaperone protein expressed in various brain regions, such as the hippocampus, amygdala, and striatum. Via its ligand-dependent (e.g., neurosteroids, especially sex steroids) and -independent activities, S1R engages in various signaling pathways that regulate several cellular and brain functions (e.g., protein homeostasis, neuronal excitability, synaptic plasticity, memory processes, and mood regulation). It is well-established that cellular mechanisms modulating S1R functions during aging are not static but continuously subjected to the ever-changing physiological milieu, which affects the expression and activity of critical proteins and hormones. Interestingly, S1R has been shown to affect these processes in a sex-specific manner during aging. S1R is also related to, and even identified as a causative agent of several chronic neurological disorders such as neurodegenerative diseases, memory impairment, and depression. Despite its critical functions, S1R expression profile in the brain throughout lifespan has yet to be explored. To fill this gap, we performed immunofluorescence labeling and confocal imaging to provide a map of S1R expression in the brain at different ontogenetic stages (juveniles, young and middle-aged adults) using both male and female mice. Our preliminary data show that S1R is densely expressed in the hippocampus and striatum of male and female juvenile mice, and dramatically decreases during adulthood. These results correlate with the locomotor and cognitive function impairments observed in mice lacking S1R.

26 - Joint Species Distribution Modeling of the contribution of the microbiome to asthma risk in premature infants

Sarah Piché-Choquette[1], Steven Kembel[1], Marie-Claire Arrieta[2]

[1]Université du Québec à Montréal, [2]University of Calgary

Asthma is a chronic respiratory disease affecting 1 in 8 Canadian children and accounting for approximately 30% of pediatric healthcare expenditure. Premature infants are at the highest risk of developing asthma and display widely different gut microbiomes from their term counterparts. Considering that recent studies have brought forward convincing evidence supporting causal links between early life dysbiosis and the development of asthma, our aim is to pinpoint microbiome features as well as environmental factors that could lead to the development of asthma.

More specifically, in collaboration with the Alberta BLOOM research initiative, we applied a Joint Species Distribution Modeling approach to detect biomarkers of microbiome development and environmental factors associated with atopic wheeze at age 1. Our study focussed on the ongoing longitudinal cohort study BLOOM, including microbiome data from preterm and term infants and related familial, stress and immune factors.

Our preliminary analysis of a subset of 60 infants led to the identification of 4 distinct microbial community types among the gut microbiomes of preterm infants between birth and equivalent term age. One of these community types is much closer to the microbiome of healthy term infants, both in terms of composition and function, and is therefore considered more mature and expected to be less prone to the development of asthma. We discuss whether microbiome maturation in premature infants could be promoted by probiotics.

27 - Unraveling the Role of Sex Chromosomes-Linked proteins DDX3(Y/X) and EIF2S3(Y/X) in Sex-Biased Manifestation of Nervous System Developmental Disorders

Mohammad Reza Omrani[1], Tatiana Cardinal[1], Nicolas Pilon[1]

[1]Molecular Genetics of Development Laboratory, Département des Sciences Biologiques, Université du Québec à Montréal (UQAM), Montréal, Québec, Canada

Sex hormones and sex chromosomes are both known to influence sexually dimorphic development of the nervous system and associated developmental disorders. However, in contrast to sex hormones and X-linked genes, we know very little about the role of Y-linked genes in this context. In 2020, we showed that upregulation of the Y-linked RNA-helicase coding gene *Ddx3y* is the cause of male-biased malformation of the enteric nervous system (ENS) in the *TashT* mouse model of Hirschsprung disease. Intriguingly, this study showed that transgenic overexpression of *Ddx3y* could not perturb ENS formation in female animals, only in males. We hypothesized that this is due to an obligate interaction between DDX3Y and another Y-linked mRNA translation initiation factor called EIF2S3Y. Using BiFC approach, we confirmed formation of DDX3Y/EIF2S3Y and DDX3X/EIF2S3X protein complexes. Importantly, BiFC competition assays showed that formation of the DDX3Y/EIF2S3Y complex can only be perturbed by overexpression of either Y-linked proteins DDX3Y or EIF2S3Y, not their X-linked homologs DDX3X and EIF2S3X. These finding thus suggest that DDX3Y/EIF2S3Y and DDX3X/EIF2S3X form mutually exclusive complexes which impact mRNAs translation in a sex stratified manner. Further studies will be performed to identify protein partners of DDX3 and EIF2S3 (both X and Y), and their mRNA targets. The expected results of this work will not only clarify the role of *Ddx3y* in ENS formation, but will likely have a broader impact on the global role of sex chromosomes in nervous system development.

28 - Defective Rab7 palmitoylation in Batten Disease

Laura Tejeda[1], Etienne Sauvageau [1], Stephane Lefrancois[1, 2, 3]

[1]Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, Institut national de la recherche scientifique, Laval, Canada H7V 1B7, [2]Department of Anatomy and Cell Biology, McGill University, Montreal, Canada H3A 0C7 , [3]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines - Fondation Courtois (CERMO-FC), Université du Québec à Montréal (UQAM), Montréal, Canada H2X 3Y7

Palmitoylation is a reversible post-translational modification (PTM) that is mediated by a group of enzymes known as palmitoyltransferases (PATs) and is reversed by thioesterases. We have previously shown that the small GTPase Rab7 is palmitoylated and that this modification is required to recruit retromer, a protein complex that mediates the endosome-to-trans Golgi network (TGN) retrieval of the lysosomal sorting receptors. Ineffective retrieval leads to defective lysosomes and loss of retromer function has been associated with various neurodegenerative diseases including Batten Disease. CLN5, a protein mutated in Batten disease, is required for the Rab7/retromer interaction, which enables retromer membrane recruitment.

In CLN5 knockout ($CLN5^{KO}$) HeLa cells, we found less palmitoylated Rab7 compared to wild-type cells, and we identified DHHC11 as a candidate PAT for Rab7 palmitoylation. Our data indicates that DHHC11 is required for Rab7 palmitoylation, and for retromer recruitment.

In addition to palmitoylation, Rab7 is phosphorylated on serine 72. Data from our group found that phosphorylation at this site is required for retromer recruitment. We identified the kinase NEK7 as the enzyme required for Rab7 phosphorylation and retromer recruitment. Interestingly, we also found that Rab7 phosphorylation at serine 72 is required for Rab7 palmitoylation, demonstrating an interplay between these two PTMs.

In summary, we found that Rab7 is phosphorylated on serine 72 and that this modification is required for Rab7 palmitoylation. These two modifications are required for retromer recruitment and thus for lysosomal function. In CLN5 Batten disease, Rab7 palmitoylation is reduced, resulting in defective lysosomes.

29 - Analysis of the neuroprotective effects of ephedrine in two mouse models of CHARGE syndrome

Sanaa Tork[1], Ouliana Souchkova[1], Said Kourrich[2], Kessen Patten[3], Nicolas Pilon[1]

[1]Molecular Genetics of Development Laboratory, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Quebec at Montreal (UQAM), [2]Behavioral Neurobiology Laboratory, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Quebec at Montreal (UQAM), [3]INRS- Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, Laval, QC, Canada

CHARGE syndrome (CS) is a rare genetic disorder affecting many organs, including the cerebellum. There is no cure for CS. Treatment options are very limited, being restricted to corrective surgery when this is possible. Affected children thus generally have a short life expectancy with a poor quality of life. Notably, cerebellar defects are believed to be the cause of intellectual disability related to autism spectrum disorder (ASD), but this remains poorly understood.

Recently, we identified ephedrine in a screen for drugs able to correct CS-related neurological deficits in a CS zebrafish model. The current study is now aimed at validating this therapeutic approach in our CS mouse models *Fam172*$^{Tp/Tp}$ and *Chd7*$^{Gt/+}$, which both phenocopy the behavioral problems and cerebellum malformations seen in human patients.

Using a postnatal (P) injection regimen, pups from P3 to P21 received intraperitoneal injections of ephedrine. At P30 and P60, various behavioral assays were used to assess locomotion (open field maze), anxiety (elevated plus maze), and social deficits (three-chamber test). The structural and cellular changes were identified using immunostaining with specific markers. We found that ephedrine treatment significantly rescued hyperactivity, anxiety, and social anomalies. This restorative effect lasted even in the adult stage (P60). Furthermore, this effect was associated with partial correction of cerebellar vermis foliation development. Therefore, we conclude that ephedrine is a very promising medication for alleviating ASD-related deficits in individuals with CS.

30 - VANGL2 is essential for long-term hematopoietic recovery after sublethal irradiation

Roxanne A. Gauthier[1], Sarah Bouali[1], Roxann Hétu-Harbour[1], Krista Heinonen[1]

[1]Institut National de la Recherche Scientifique Centre Armand-Frappier

WNT signaling pathways are essential for many functions of hematopoietic stem and progenitor cells (HSPC) during hematopoiesis. One of these pathways enables planar cell polarity (PCP). While several components of the WNT/PCP pathway are involved in regulating hematopoietic cells, one of them, the protein Van Gogh-like 2 (VANGL2), is poorly studied in hematopoietic cells even though it's highly expressed in HSPC and megakaryocytes. We previously demonstrated that VANGL2 is essential for sustaining HSPC during serial transplantations in mice. Our current research aims to determine the role of VANGL2 in its native environment during hematopoietic recovery and in myeloid progenitors. We hypothesized that in the absence of VANGL2, hematopoietic recovery would be incomplete or abnormal, accompanied by a decrease in platelet production. We irradiated control and *Vangl2*$^{\Delta/\Delta}$ mice at 4.5 Gy to induce toxic stress, destroying mature cells. To monitor hematopoietic recovery, we collected bone marrow and splenic cells 11 or 21 days post-irradiation and conducted regular blood draws. The cellular populations of these organs were analyzed using flow cytometry. We demonstrate that in the absence of VANGL2, there is an age-dependent disruption in HSPC proliferation, eventually leading to a loss of HSPC pool. Furthermore, there's an increase in erythro-megakaryocytic progenitors 11 days post-irradiation. Our research provides new insights into the differentiation of HSPC during acute stress.

31 - Le butyrate potentialise les effets pléiotropiques du GDNF dans le côlon de modèles murins de la maladie de Hirschsprung

Nejia Lassoued[1], Alexis Yero[2], Mohammad-Ali Jenabian[2], Rodolphe Soret[1], Nicolas Pilon[1]

[1]Laboratoire de Génétique moléculaire du développement et des maladies génétiques rares, Département des Sciences Biologiques, Université du Québec à Montréal (UQAM), Montréal, Québec, Canada, [2]Laboratoire d'immunologie-virologie, Département des Sciences Biologiques, Université du Québec à Montréal (UQAM), Montréal, Québec, Canada

La maladie de Hirschsprung (HSCR) est caractérisée par une absence de ganglions du système nerveux entérique (SNE) dans le côlon distal. Le SNE contrôle la motilité gastro-intestinale, tout en influençant le système immunitaire et la perméabilité épithéliale. Tous ces aspects sont affectés dans HSCR, qui entraine la mort des nourrissons par septicémie découlant d'entérocolite.

Présentement, une chirurgie avec multiples effets secondaires est le seul traitement. Comme alternative, nous avons développé une approche neuro-régénérative basée sur l'administration du facteur neurotrophique GDNF. Le GDNF induit de nouveaux ganglions du SNE dans la zone malade de 3 modèles de souris HSCR, améliorant les fonctions gastro-intestinales et retardant la mort de nombreuses souris. De nouveaux résultats montrent qu'un ajout de butyrate, un régulateur du système immunitaire et de la barrière épithéliale, potentialise l'effet du GDNF sur la survie des souris. Cette étude vise à élucider le mécanisme sous-jacent.

Nous avons analysé l'effet de la thérapie combinatoire sur le profil global du système immunitaire par cytométrie en flux. Ceci a démontré des proportions anormales de plusieurs populations de cellules immunitaires dans le côlon des souris HSCR. Le traitement avec GDNF ± butyrate a révélé des corrections complémentaires et/ou synergiques pour la plupart des changements observées, les ramenant à des niveaux similaires à la normale. Par immunofluorescence, nous avons également découvert que notre thérapie permet de rétablir l'expression et/ou la localisation de certaines protéines des jonctions épithéliales.

Ce travail suggère que le butyrate et le GDNF collaborent pour réparer l'écosystème intestinal, contribuant ainsi à éviter la septicémie.

32 - The Intricate Relationship Between HTLV Antisense Transcript-Encoded Proteins and HIV-1 Replication

Nahid Moghadam[1], Sonia Do Carmo[1]

[1]UQAM

HTLV-2, unlike HTLV-1, does not cause leukemia but is tentatively associated with an HTLV-1 myelopathy-like disorder. Interestingly, studies have reported that individuals co-infected with HTLV-2 and HIV-1 tend to progress more slowly to AIDS, possibly due to the protective effects of the HTLV-2 protein Tax2, which induces MIP-1a expression and inhibits HIV-1 infection. Given that cells from HTLV-2-infected individuals mainly express HTLV-2 Antisense Protein 2 (APH-2), our objective was to investigate whether this protein might also play a role in controlling HIV-1 replication in individuals with dual infections.In this study, we employed Jurkat T cells in both unstimulated and stimulated states, with stimulation achieved through the application of Phorbol myristate acetate (PMA)-ionomycin. Examining the direct impact on HIV-1 replication, we found that APH-2 expression led to increased luciferase activity when co-transfected with a full-length proviral DNA, while HBZ expression reduced reporter gene expression. Furthermore, Western blot analyses and ELISA assays indicated higher HIV-1 p24 levels in APH-2-expressing cells. To explore whether APH-2 modulated HIV-1 LTR (long terminal repeat) activity, we investigated the activation of two key transcription factors, NF-κB and NFAT, in stimulated Jurkat T cells. Unexpectedly, both HBZ and APH-2 inhibited NF-κB and NFAT activation, though to varying degrees. Additionally, both antisense proteins inhibited LTR activation, with APH-2 exhibiting a more modest effect. In conclusion, our results underscore the intricate relationship between HTLV antisense transcript-encoded proteins and HIV-1 replication. Further studies will be essential to determine the potential impact of APH-2 in individuals co-infected with HTLV-2 and HIV-1.

33 - Implication de FAM172A et CHD7 dans la régulation des R-loops dans le contexte du syndrome CHARGE

Sandrine Girard[1], Sephora Sallis[1], Élizabeth Leduc[1], Nicolas Pilon[1]

[1]Laboratoire de génétique moléculaire du développement et des maladies génétiques rares, Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada

Le syndrome CHARGE se classe au sein des neurocristopathies, maladies résultant d'un défaut de développement des cellules de la crête neurale (CCN). Des mutations sur différents gènes ont été associées à cette pathologie, incluant *CHD7* (*Chromodomain Helicase DNA Binding Protein-7*) et *FAM172A* (*Family With Sequence Similarity 172 Member A*). Bien que la relation fonctionnelle entre CHD7 et FAM172A soit actuellement nébuleuse, notre laboratoire a démontré que ces deux protéines se retrouvent au sein d'un même complexe. Nous avons aussi précédemment découvert que des problèmes de transcription et des dérèglements de l'épissage alternatif sont des mécanismes pathologiques communs à tous les cas de syndrome CHARGE, indépendamment du gène muté.

Pour approfondir nos connaissances sur ces mécanismes, nous nous sommes intéressés à un type particulier de structure nucléaire hybride ARN-ADN, les *R-loops*. Ces structures peuvent s'accumuler de manière anormale suite à des défauts d'épissage, entrainant des problèmes de réplication et dommages à l'ADN qui nuisent à la prolifération cellulaire. Cette cascade d'évènements pourrait expliquer la baisse de prolifération des CCN chez les embryons mutants pour *Chd7* ou *Fam172a*. Pour valider cette hypothèse, nous avons effectué des immunomarquages de CCN (SOX10), du spliceosome (SC-35), des R-loops (S9.6) et des cassures double-brins (gH2ax). Ceci a permis de démontrer, comme prédit, que la perte de fonction de CHD7 ou FAM172A entraine une même réduction des foci SC-35+ combinée à une même augmentation de foci S9.6+ et gH2ax+. Ces résultats ouvre ainsi une toute nouvelle piste de recherche sur le syndrome CHARGE, et potentiellement d'autres neurocristopathies.

34 - Regulation of SREBP1c transcriptional activity by oleate

Antoine Jutras-Carignan[1], Catherine Mounier[1]

[1]CERMO-FC

Sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP1c) regulates lipid homeostasis. Although the impact of nutritional and hormonal cues on SREBP1c is known, the molecular mechanisms remain uncertain. Intriguingly, oleate levels appear to influence SREBP1c acylation and activity. Acylation is a post-translational modification that affects protein localization, stability, and interactions with other proteins. The objective of this study is to characterize the molecular mechanisms involved in the regulation of SREBP1c activity by oleate.

A mass shift technique reveals three SREBP1c acylation states in mouse livers: unacylated, monoacylated, and diacylated. High oleate diets increase acylated SREBP1c. Through bioinformatics analysis, a cysteine residue on SREBP1c was identified as a potential acylation site. Mutation of this cysteine residue resulted in the prevention of SREBP1-c proteolytic cleavage, hampering the maturation of the transcription factor, and reducing its nuclear translocation and transcriptional activity in hepatocarcinoma cells. Alphafold modeling predicts an interaction between SREBP1c and acylating enzyme ZDHHC5. Inhibiting this enzyme reduces SREBP1c transcriptional activity and lipid droplet formation in response to oleate.

In summary, SREBP1c undergoes oleate-induced acylation, impacting its transcriptional activity and lipid metabolism responses. This novel regulatory mechanism advances understanding of lipid metabolism and related disorders. Identifying the acylating enzyme offers potential for innovative drug targeting.

35 - A genome-wide CRISPR/Cas9 screening identifies genetic modifiers of α-synuclein aggregates uptake

Benoît Vanderperre[1], Amitha Muraleedharan[1], Frédérique Larroquette[2], Rony Chidiac[3], Charlotte Tardif[2], Nishani Rajakulendran[3], Graham Macleod[3], Roxanne Larivière[2], Esther Del Cid Pellitero[2], Rhalena Thomas[2], Thomas Durcan[2], Stephane Angers[3], Edward Fon[2]

[1]Universitédu Québec à Montréal, [2]McGill University, [3]University of Toronto

Pathological aggregation and propagation of the protein alpha-synuclein (α-syn) in a prion-like fashion underlie the progression of Parkinson's disease (PD). Despite years of efforts, the process of α-syn aggregate uptake, including in dopaminergic neurons that are the primary cell type lost in PD, remains unclear and debated. Using a FACS-based, unbiased genome-wide CRISPR/Cas9 screening in human retina-pigmented epithelial cells (RPE-1) we identified key genes and pathways specifically implicated in α-syn PFFs intracellular accumulation, including heparan sulfate proteoglycans (HSPG) biosynthesis (a group of ubiquitously expressed cell surface glycoprotein-receptors) and Golgi trafficking. KO of the *C3orf58* gene, encoding a Golgi-localized putative kinase DIPK2A that might be linked to autophagosome-lysosome fusion, specifically impaired the uptake of α-syn PFFs uptake but not of tau oligomers, by preventing the binding of PFFs to the cell surface. Mutagenesis studies showed that the putative kinase activity of DIPK2A was not necessary for α-syn PFF uptake. RNA-seq in *C3orf58* KO cells revealed striking transcriptomic changes that point towards major changes at the plasma membrane and in the extracellular matrix. MS analysis of HS chains indicated major defects in HS maturation in *C3orf58* KO cells, explaining the cell surface binding deficit. RNA-seq data confirmed the expression of *C3orf58* in human dopaminergic neurons (iDNs) and, interestingly, iPSC-derived microglia differentiated from a *C3orf58* KO background exhibited a strong reduction in the internalization of α-syn PFFs. Altogether, our data unbiasedly confirm HSPGs as the major cell surface receptors that mediate α-syn PFFs binding and subsequent uptake leading to its prion-like cell-cell propagation.

36 - Analyse transcriptomique du phénotype inflammatoire des cellules souches mésenchymateuses préadipocytaires humaines : Une sous-population rare du microenvironnement tumoral du tissu adipeux

Carolane Veilleux[1], Marie-Ève Roy[1], Borhane Annabi[1, 2]

[1]UQÀM, [2]Chaire en Prévention et Traitement du Cancer

Problématique : Le microenvironnement tumoral au sein du tissu adipeux régule la composition du sécrétome des adipocytes matures. Ceci mène à l'instauration de conditions inflammatoires favorables à l'acquisition d'un phénotype cancéreux agressif. L'apport des cellules souches mésenchymateuses préadipocytaires (ADMSC) demeure cependant inconnu.

Objectif : Nous émettons l'hypothèse que la signature moléculaire du sécrétome des ADMSC soit influencée par le *Facteur de Nécrose Tumorale alpha* (TNFα), une puissante cytokine pro-inflammatoire tumorale.

Méthologie : Les ADMSC ont été traitées au TNFα (0 à 100 ng/ml), l'ARN total extrait et une analyse transcriptomique effectuée par RT-qPCR. L'implication possible de la voie de signalisation pro-inflammatoire JAK/STAT a été examinée à l'aide de l'inhibiteur pharmacologique AG490 et par répression génique de STAT3 à l'aide d'ARNs interférents.

Résultats préliminaires : Une surexpression de plusieurs gènes de l'inflammation (COX2, IL6, MMP9), et de l'adipogénèse (FABP4, LPL) après traitement au TNFα a été observée. STAT3 y apparait comme un régulateur signalétique.

Conclusion : Considérant le lien entre l'obésité et le cancer, notre étude met en évidence une régulation paracrine potentielle insoupçonnée des cellules souches préadipocytaires à la carcinogenèse.

37 - Multi-omic analysis of Hirschsprung disease in the TashT mouse model

Oriana Zambito[1, 2], Nejia Lassoued[2, 3], Rodolphe Soret[2, 3], Nicolas Pilon[2, 3], Lekha Sleno[1, 2]

[1]Université du Québec à Montréal (UQAM), Département de chimie, [2]CERMO-FC, Centre d'Excellence de Recherche sur les Maladies Orphelines-Fondation Courtois, [3]Université du Québec à Montréal (UQAM), Département des sciences biologiques

Hirschsprung disease is a rare malformation of the enteric nervous system with an incidence of 1 in 5000 births. Affected children lack nerve ganglion cells in the distal part of the colon, leading to functional obstruction and potentially fatal infection. This disease is also 4 times more prevalent in male babies. The *TashT* mouse model is used to understand this male bias. The current study is aimed at investigating disruptions in protein and metabolite levels from colon and fecal samples and observing how the multi-omic profile changes between male and female mice, with the latter not being affected by the disease.

Three groups of mice were used for this study, including wild-type mice, the *TashT* disease model, and the latter treated with glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF; which regenerates the missing enteric nervous system). Proteins from colon and fecal samples from the proximal and distal regions were precipitated using methanol, with the supernatant being used for metabolomic analysis and protein pellets used for bottom-up proteomic analysis, following tryptic digestion. Liquid chromatography coupled with high-resolution tandem mass spectrometry enabled the quantitative multi-omic study. Following tailored data processing, a list of proteins and putative metabolites was established based on statistically significant differences between groups of mice as well as between different sexes. We will present the methodology, as well as the results of this study and the prospects for future work.

38 - Potential therapeutic action of combining metformin and tauroursodeoxycholic acid for the treatment of polycystic ovary syndrome

Sherin Ali Nawaito[1], Mostafa Esmael[1], Ouliana Souchkova[1], Sanaa Tork[1], Said Kourrich[2], Catherine Mounier[3], Robert Scott Viger[4], Nicolas Pilon[1]

[1]Molecular Genetics of Development Laboratory, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Quebec at Montreal (UQAM), [2]Behavioral Neurobiology Laboratory, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, Université du Québec à Montréal, Montreal, Quebec, Canada, [3]Lipid Metabolism Laboratory, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, Université du Québec à Montréal, Montreal, Quebec, Canada, [4]Reproduction, Perinatal and Child Health, Centre de Recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Québec (CRCHUQ), Centre de recherche en Reproduction, Développement et Santé Intergénérationnelle (CRDSI) and Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Laval University.

Polycystic ovary syndrome (PCOS), a complex heterogenous disorder, is the leading cause of female infertility for which there is no cure. Metformin, an insulin sensitizing agent, is used for the treatment of some PCOS patients undergoing in vitro fertilisation but with variable efficacy. PCOS is also characterized by endocrine and metabolic abnormalities and was recently found to be associated with gut dysbiosis and psychiatric disorders as well. Moreover, gut dysbiosis was further found to be associated with lower levels of the secondary bile acid taurourosodeoxycholic acid (TUDCA).

We generated a new PCOS transgenic mouse model, named Greywick (Gw) that recapitulate the metabolic subtype of PCOS, by insertion of a neural crest-specific Gata4 promoter-driven RFP reporter. The present study was aimed at investigating both in vitro and in vivo effects of combined metformin and TUDCA treatment on the reproductive, metabolic, and behavioral aspects of Gw female mice.

in vivo-induced oocytes and 4-day-old embryos produced via *in vitro* fertilisation with WT sperms using *in vivo*-induced oocytes collected from 4-months-old female Gw lean and overweight mice, and wild-type controls that were previously treated for 1 month with combination therapy allowed to rescue the decreased number and viability of Gw oocytes. Moreover, following 2 weeks of gavage, combination therapy improved the reproductive and metabolic anomalies presented in Gw female mice. Interestingly, these treatments also alleviate the depressive-like behavior but not the anxiety-like behavior found in Gw female mice.

In conclusion, combined metformin and TUDCA is a promising therapeutic avenue for the treatment of PCOS.

39 - L'Apolipoprotéine D module l'inflammation chez des souris nourries avec une diète riche en gras et en sucre

Guillaume Desmarais-Fyfe[1], Éric Rassart[1], Catherine Mounier[1]

[1]Université du Québec À Montréal

L'Apolipoprotéine D (ApoD) est une petite protéine de la famille des lipocalines associée à la diminution de l'inflammation et du stress oxydatif au niveau du système nerveux. Produite majoritairement dans le système nerveux central (SNC), elle est cependant capable de traverser la barrière hémato-encéphalique et de s'accumuler au niveau systémique. A ce jour, peu d'études ont été faites pour évaluer si l'ApoD était capable de moduler l'inflammation hors du SNC.

Des souris surexprimant l'ApoD humaine au niveau du cerveau ont été mises sur une diète riche en gras et sucre pendant 12 semaines. Cette diète génère de l'inflammation systémique et des problèmes métaboliques et comportementaux. Les souris ont également subi des tests de tolérance à l'insuline et au glucose, et ont passé des tests de comportement relatifs à l'anxiété et la dépression. Finalement, les souris ont été euthanasiées et le niveau d'inflammation dans plusieurs organes a été évalué par qPCR, Western Blot, et ELISA en quantifiant de marqueurs d'inflammation (TNF-a, IL-6, MCP-1, ERK1/2).

Les résultats indiquent que la surexpression de l'ApoD n'a pas d'impact sur la prise de poids ni sur le développement des problèmes métaboliques. Cependant, les souris transgéniques montrent une diminution du comportement anxieux lors du test Open Field. De plus, la surexpression de l'ApoD semble diminuer l'inflammation au niveau du foie chez les mâles, tandis que l'inverse est observé chez les femelles. Cette modulation différentielle de l'inflammation semble être reliée à l'activation de la voie ERK1/2, qui est augmentée chez les femelles et diminuée chez les mâles.

40 - Impact of PERK overexpression in response to severe heat stress

Khadija Rezki[1], Diana Averill[1]

[1]UQAM

When exposed to thermal stress, cells activate various protective mechanisms to maintain cellular homeostasis. One such mechanism is the activation of Protein kinase R-like ER kinase (PERK). PERK is a key player in regulating the cellular stress response by initiating a signaling cascade that controls antioxidant genes through Nrf2 activation. It also suppresses protein synthesis through phospho-eukaryotic initiation factor 2 α (p-eIF2α) to prevent further cellular damage. This study aims to determine if overexpression of PERK could be beneficial and protects cells against severe heat stress. A HeLa (WT) cell line that overexpresses PERK (PERK OE) was developed and tested for its ability to protect against severe heat stress at 42°C. Surprisingly, the overexpression of PERK did not provide the expected protection but rather led to increased cellular damage, indicated by heightened caspase and calpain activities, elevated ROS levels, and increased expression of stress response genes and proteins, raising questions about the causes of this phenomenon, possibly involving cell-cycle arrest and proliferation rate changes. Overall, these findings suggest that PERK overexpression may not be beneficial in protecting cells against severe heat stress, however new avenues should be explored. A disruption of survival pathways is the trigger for several diseases. Wolcott-Rallison syndrome is caused by a deficiency in PERK. In this disease, the latter results in neonatal diabetes, exocrine pancreatic atrophy, growth retardation, and osteopenia[1]. To discover new therapeutic targets for various pathologies, better knowledge of the mechanisms involved in adaptive survival responses would be important.

41 - NR2F1 interacts with SOX10 to modulate neural crest cell fate decisions in a mouse model of Waardenburg syndrome type 4.

Baptiste CHARRIER[1], Nicolas PILON[1]

[1]Laboratoire de génétique moléculaire du développement, Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal (UQAM), Montréal, QC, Canada

Nr2f1$^{spot/spot}$ mice are a model for Waardenburg syndrome type 4, a rare disorder characterized by abnormal skin pigmentation, defective hearing and/or balance, and aganglionic megacolon. All these problems can be explained by defective differentiation of neural crest cells (**NCCs**) in melanocytes of the skin and inner ear, and both enteric neurons and glia of the enteric nervous system . The *Spot* insertional mutation upregulates *Nr2f1* expression in NCCs, which we found to be accompanied by the upregulation of several markers of enteric glia and Schwann cells in the developing gut and peripheral nerves, respectively. As SOX10 is believed to play a similar role, we here tested the hypothesis that NR2F1 and SOX10 (2 transcription factors) jointly activate a pro-glial transcriptional program in NCC-derived progenitors.

Immunofluorescence first showed that NR2F1 and SOX10 are co-expressed in a subset of migratory NCCs, while BiFC and luciferase assays revealed their functional interaction in the activation of key glial genes (*S100b*, *Mpz*). We then characterized the transcriptomic profile of *Nr2f1*$^{spot/spot}$ NCCs by bulk and single-cell RNA sequencing. These analyses not only confirmed the pro-glial role of NR2F1, but also suggested an anti-melanocytic role characterized by the downregulation of *Pmel, Mitf* or *Kit*. These studies further uncovered an upregulation of certain *Hox* genes, suggesting a new role of NR2F1 in the positional identity of NCCs. Finally, we found that increased levels of NR2F1 activates an ectomesenchymal differentiation program, crucial for cranial NCCs transitioning to skeletal progenitors. NR2F1 is thus a key modulator of multiple NCC fate decisions.

42 - LA DIVERSIFICATION DES CELLULES GLIALES ENTÉRIQUES EST INFLUENCÉE PAR DES FACTEURS SPATIOTEMPORELS ET LA SOURCE DE PROGÉNITEURS NEURAUX CHEZ LA SOURIS

Marie A. Lefèvre[1, 2], Zoé Godefroid [1], Rodolphe Soret [1, 2], Nicolas Pilon[1, 2, 3]

[1]Laboratoire de Génétique Moléculaire du Développement et des Maladies Génétiques Rares, Département des Sciences Biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, Quebec, Canada., [2]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines - Fondation Courtois (CERMO-FC), Université du Québec à Montréal, Montréal, Quebec, Canada. , [3]Département de Pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Quebec, Canada.

Les cellules gliales entériques (**CGE**) jouent un rôle central dans la régulation des fonctions gastrointestinales. Elles présentent une importante diversité en termes de localisation, morphologie, profil transcriptionnel et fonction. Cependant, les mécanismes responsables de cette diversité restent largement inexplorés.

Une approche permettant de catégoriser les CGE repose sur des critères topologiques et morphologiques, délimitant 4 principaux sous-types. A partir de cette classification, nous avons abordé la question suivante : quand les CGE acquièrent-elle cette diversité topo-morphologique ? Ensuite, nous avons déterminé si les différentes sources de progéniteurs entériques (cellules de la crête neurale *vs* précurseurs de cellules de Schwann (**PCS**)) contribuent à générer cette diversité.

Nous avons d'abord déterminé la temporalité d'émergence des sous-types de CGE dans différents segments de l'intestin de souris WT, pendant la période postnatale précoce. Par immunofluorescence, ceci a révélé une émergence asynchrone des sous-types gliaux. Ensuite, la contribution spécifique des PCS DHH+ a été examinée par traçage génétique de lignage cellulaire. L'analyse de souris *Dhh-Cre;R26R-YFP* a montré une plus grande contribution des PCS aux CGE dans le côlon que dans l'iléon. Plus intéressant encore, cette contribution est inégale parmi les sous-types de CGE, avec un biais en faveur du Type 4 dans la partie musculeuse/plexus myentérique et un biais pour le Type 2 dans la partie lamina propria/plexus sous-muqueux. Nos travaux actuels cherchent également à déterminer si les PCS génèrent des sous-types moléculaires spécifiques de CGE.

Collectivement, ces données constituent une base solide pour de futures études visant à élucider les mécanismes de diversification des CGE.

43 - Rôle de la Stearoyl-CoA Desaturase-1 dans la formation des lipoprotéines de très faible densité

Tania Guillemette[1], Alexandre Légiot[1], Catherine Mounier[1]

[1]UQAM

Contexte : L'apolipoprotéine B-100 (ApoB-100) est une protéine essentielle à la formation des lipoprotéines de très basse densité (VLDL). Le palmitate et le stéarate peuvent être convertis en acides gras mono-insaturés, soit le palmitoléate et l'oléate, respectivement, grâce à l'enzyme stéaroyl CoA-désaturase 1 (SCD1). Afin d'assurer l'acylation de l'ApoB-100, SCD1 pourrait rendre disponibles comme substrat l'oléate et la palmitoléate permettant ainsi la stabilisation de l'ApoB-100 et donc la formation de VLDL.

Méthodes : L'étude a été réalisée sur des cellules d'hépatocarcinome humains traitées à l'oléate et des souris SCD1 KO spécifique au foie (LKO) ont été nourries avec un régime riche en graisses saturées et en sucre (HFHS). Nous avons évalué l'interactome de SCD1 par spectrométrie de masse et déterminé la localisation subcellulaire de SCD1 et d'ApoB-100 par immunofluorescence. Les niveaux d'expression de plusieurs protéines en lien avec le métabolisme lipidique ont également été évaluées ainsi que le profil des lipoprotéines circulantes.

Résultats : Un lien fonctionnel entre SCD1 et ApoB-100 a pu être identifié. Lorsque les cellules sont exposées à un inhibiteur de SCD1, les concentrations d'ApoB-100 intracellulaire et extracellulaire diminuent. Un traitement au stéarate prévient la dégradation d'ApoB-100 et augmente la localisation d'ApoB-100 au sein du Golgi. Les souris LKO nourries avec une diète HFHS démontrent plus de stéatose hépatique comparativement aux souris WT. Le tissu adipeux viscéral est réduit chez les souris LKO, alors que le niveau plasmatique d'ApoB-100 est augmenté. Seules les femelles LKO présentent des niveaux de triglycérides inférieurs, les mâles présentent une augmentation de lipides circulants.

44 - Elimination of senescent cells by senolytics as a new therapeutic strategy for Myotonic Dystrophy Type 1

Taeyeon Kim[1, 2], Talita Conte[1, 2], Inès Mokhtari[1, 2], Tatiana Koike[1, 2], Ornella Pellerito[1, 2], Elise Duchesne[3, 4], Nicolas Dumont[1, 2]

[1]CHU Sainte-Justine Research Center, Montreal, [2]Université de Montréal, Montréal., [3]Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, [4]Saguenay-Lac-St Jean Integrated University Health and Social Services Center, Saguenay,

Myotonic dystrophy type 1 (DM1), a disease caused by an abnormal expansion of trinucleotide (CTG)n repeats in the *dystrophia myotonica protein kinase (DMPK)* gene, is the most common adult form of inherited myopathy. The disease affects the whole-body system, but particularly the skeletal muscle leading to myotonia, weakness, and atrophy. However, limited comprehension of the molecular mechanisms of DM1 pathogenesis has impeded the development of DM1 treatment.

Our groups and others have shown that cellular senescence, a state of irreversible cell cycle arrest, is a mechanism contributing to the pathogenesis of DM1. Our previous findings demonstrated that myogenic cells isolated from DM1 patients present the characteristics of cellular senescence such as high expression of cell cycle inhibitors and production of Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP), a cocktail of detrimental inflammatory cytokines and proteases. This senescent subset can be selectively eliminated by senolytics such as the Bcl-XL inhibitor A1155463, which restores proliferation and myogenesis capacity *in vitro*. In addition, we utilize DMSXL mice as a preclinical model of DM1. The qPCR and immunostaining data indicate the sign of cellular senescence in the skeletal muscle of DMSXL mice. Furthermore, treatment of DMSXL mice with senolytics shows an improvement in muscle force, suggesting a potential therapeutic benefit in targeting cellular senescence for DM1.

In conclusion, this project will enhance our understanding of the underlying pathogenesis mechanism of DM1 and propose a novel therapeutic strategy that can strengthen the skeletal muscle function of individuals affected by DM1.

45 - Développement d'outils dérivés du système St1Cas9 pour la correction génique in vivo des maladies métaboliques rares de l'enfant

Simon-Alexandre Lafontaine[1], Jean-François Rivest[1], Claudia Goupil[1], Daniel Agudelo[1], Diana Carolina Mayorga Gonzalez[1], Yannick Doyon[1]

[1]CRCHU de Québec - Université Laval

Les maladies génétiques orphelines affectent environ 500 000 enfants au Canada toutefois peu de traitements permettant de les soigner sont mis au point puisqu'elles affectent peu d'individus. Heureusement, il est possible de corriger certaines des mutations associées à ces maladies avec des plateformes capables de modifier l'ADN comme les éditeurs de base. En revanche, la modification ciblée et précise de l'ADN dépend de notre capacité à artificiellement forcer sa réparation ou à pouvoir atteindre de telles mutations. Ce projet a donc comme objectifs de concevoir des outils d'édition du génome permettant de couvrir un maximum de permutation de séquence autorisant l'accès à de tels défauts et de développer des protocoles permettant la prise en charge de telles pathologies.

Pour ce faire, le système St1Cas9 sera mis à l'épreuve par le biais d'éditeurs de base déjà bien définis dans la littérature afin de développer de nouvelles plateformes d'édition du génome possédant les caractéristiques propres aux orthologues de ce système CRISPR-Cas. Les nouvelles plateformes produites seront également éprouvées dans un modèle murin de la tyrosinémie héréditaire de type 1 par l'administration d'un vecteur viral adénoassocié à la souris néonatale malade afin de corriger le défaut métabolique qui l'affecte grâce à l'inactivation ciblée de l'enzyme HPD.

Ce projet promet un avancement original des connaissances par la caractérisation approfondie du système St1Cas9, lequel n'est pas très commun, ce qui permettra le développement de nouveaux outils d'édition du génome, mais qui permettra également d'appliquer ceux-ci à l'ingénierie des génomes ou à de potentielles fins thérapeutiques.

46 - Effects of oral cannabinoids on chronic inflammation in people with HIV on antiretroviral therapy: results of the CTNPT 028 randomized clinical trial

Ralph-Sydney Mboumba Bouassa[1], Ève Comeau[1], Amélie Pagliuzza[2], Yulia Alexandrova[1, 3], Suzanne Samarani[3, 4], Judy Needham[5, 6], Joel Singer[6, 7], Terry Lee[5, 6], Florian Bobeuf[4], Claude Vertzagias[4], Giada Sebastiani[3, 4], Shari Margolese[5], Enrico Mandarino[5], Marina Klein[3, 4], Bertrand Lebouché[3, 4], Jean-Pierre Routy[3, 4], Nicolas Chomont[2, 8], Cecilia T. Costiniuk [3, 4], Mohammad-Ali Jenabian[1]

[1]Department of Biological Sciences and CERMO-FC Research Centre, Université du Québec à Montréal, Montreal, QC, Canada, [2]Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montreal, Montreal, QC, Canada, [3]Infectious Diseases and Immunity in Global Health Program, Research Institute of the McGill University Health Centre, Montreal, QC, Canada, [4]Department of Medicine, Division of Infectious Diseases and Chronic Viral Illnesses Service, McGill University Health Centre, Montreal, QC, Canada, [5]CIHR Canadian HIV Trials Network, Vancouver, BC, Canada, [6]Centre for Health Evaluation and Outcome Sciences, St. Paul's Hospital, Vancouver, BC, Canada, [7]School of Population and Public Health, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada, [8]Département de Microbiologie, Infectiologie et Immunologie, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

Background: Several viral infections, including HIV infection are characterized by persistent and chronic inflammation despite therapy. Cannabinoids Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) have shown anti-inflammatory effects *in vitro* and in pre-clinical studies. Herein, we assessed the impact of oral administration of oral cannabinoids in people with HIV (PWH).

Methods: Ten PWH on antiretroviral therapy were randomized (n=5/group) to increasing doses of oral THC:CBD combination (2.5:2.5-15:15 mg/day) capsules or CBD-only (200-800 mg/day) capsules for 12 weeks. Blood specimens were collected prospectively 7-21 days prior to treatment initiation and at weeks 0 to 14. Plasma cytokine levels were determined via Luminex and ELISA. Immune cell subsets were characterized by flow cytometry. HIV DNA/RNA were measured in circulating CD4 T-cells and sperm by ultra-sensitive qPCR.

Results: Results from both arms were combined for statistical analysis. Plasma levels of IFN-γ, IL-1β, sTNFRII, and REG-3α were significantly reduced at the end of treatment ($p < 0.05$). A significant decrease in frequencies of PD1+ memory CD4 T-cells, CD73+ regulatory CD4 T-cells, and M-DC8+ intermediate monocytes was also observed ($p < 0.05$), along with a transient decrease in CD28-CD57+ senescent CD4 and CD8 T-cells. Ki-67+ CD4 T-cells, CCR2+ non-classical monocytes, and myeloid dendritic cells increased over time ($p < 0.05$). There were no significant changes in other inflammatory markers or HIV DNA/RNA levels.

Conclusions: overall, oral cannabinoid administration resulted in reduced inflammatory markers in PWH. These findings can guide future large clinical trials investigating cannabinoid anti-inflammatory properties in human diseases.

47 - Investigating expression of ASP in HIV-1-infected cell lines using the Nanoluc HiBit tag.

yong xiao[1], Benoit Barbeau[1]

[1]Université du Québec à Montréal, Department of biological sciences, CERMO-FC and Réseau Intersectoriel de recherche en santé de l'Université du Québec, Montréal, CANADA

Background: Previous *in silico* analyses of HIV-1 isolates provided strong evidence of the existence of the antisense open reading frame overlapping the HIV-1 env gene, termed Antisense Protein (ASP). Detection of ASP has been a challenge in CD4 T cells and, although we were successful in studying ASP in cells transfected with expression vectors, its detection and understanding of its regulation in the context of proviral DNA remains difficult. Our objective was to test the highly sensitive Nanoluc HiBit tag fused to ASP in the context of provirus to infect different cell lines.

Methods: Proviral DNA NL4.3 BaL were used to insert the double HiBiT tag at the C-terminus of ASP. VSV-G-pseudotyped NL4.3Balenv ASP 2XHiBit was generated to infect or transfect different cell lines/primary T cells, wich ere tested for ASP expression. Nanoluc Luciferase activity was measured in these cell lines according to manufacturer's instructions.**Results:** The NL4.3Balenv ASP 2HiBit construct generated a good signal in transfected 293T cells. Interestingly, ASP was easily detected in U87MG, U251MG, SHSY5Y, microglia CHEM-5, HEK293T and Huh-7 cells infected with VSV-G-pseudotyped viruses , while H9 CD4+ T, monocytic U937 and primary CD4 T cells showed a limited ASP signal upon infection.

Conclusions: These results show that HIV-1 ASP can present high expression level in certain microglial/neuroblastoma cell lines. ASP expression in these cells might imply a role in the establishment of latency in the brain. Such finding opens new avenues to study ASP expression and its role during HIV-1 infection.

48 - Inverse balance in plasma levels of the endocannabinoids N-arachidonoylethanolamine and 2-arachidonoylglycerol and their congeners in people with HIV with subclinical coronary artery disease: results from the Canadian HIV and Aging Cohort Study

Ralph-Sydney Mboumba Bouassa[1], Giada Giorgini[2], Chante Muller[2], Nayudu Nallabelli[2], Yulia Alexandrova[1], Madeleine Durand[3], Marc Messier-Peet[3], Carl Chartrand-Lefebvre[3], Cristoforo Silvestri[2], Nicolas Flamand[2], Vincenzo Di Marzo[2], Cecilia Costiniuk[4], Mohammad-Ali Jenabian[1]

[1]Department of Biological Sciences and CERMO-FC Research Centre, Université du Québec à Montréal, Montreal, QC, Canada, [2]Centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (IUCPQ), Université Laval, Laval, QC, Canada, [3]Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Montréal, QC, Canada , [4]Infectious Diseases and Immunity in Global Health Program, Research Institute of the McGill University Health Centre, Montreal, QC, Canada

Background: People with HIV (PWH) suffer from accelerated coronary artery disease (CAD), due to chronic systemic inflammation. Endocannabinoidome lipid mediators are key regulators of cardiovascular functions and inflammation and may be altered in chronic HIV infection. Herein, we assessed changes in plasma endocannabinoidome mediators in PWH with subclinical CAD.

Methods: 208 individuals (175 males, median age 56) were enrolled, including n=87 HIV+CAD+, n=69 HIV+CAD-, n=22 HIV-CAD+ and n=30 HIV-CAD-. The median duration of antiretroviral treatment was 15 years. Cardiac computed tomography angiography was performed to determine the presence of CAD. Endocannabinoids were quantified with high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) on plasma of all study participants.

Results: N-acylethanolamine (NAE) including N-arachidonoylethanolamine (AEA) (p=0.02), N-eicosapentaenoylethanolamine (EPEA) (p<0.0001), N-linoleoylethanolamine (LEA) (p=0.02), N-docosahexaenoyl-ethanolamine (DHEA) (p=0.03), and N-docosapentaenoylethanolamine (DPA-EA(n-6)) (p=0.01), were significantly lower in PWH. EPEA (p=0.04), DHEA (p=0.02) and N-palmitoylethanolamine (p=0.03) were significantly reduced in HIV+CAD+ compared to HIV+CAD-, while HIV-CAD- had higher levels of AEA (p=0.02), EPEA (p<0.0001), LEA (p=0.02), DHEA (p=0.02), and DPA-EA(n-6) (p=0.02) than HIV+CAD+. Monoacylglycerols (MAG), 2-eicosapentaenoylglycerol (p=0.015), 2-linoleoylglycerol (p=0.0004), 2-docosapentaenoylglycerol (p=0.0035), and 2-oleoylglycerol (2-OG) (p=0.0007), were significantly elevated in PWH. Moreover, 2-arachidonoylglycerol (p=0.09), and 2-docosahexaenoylglycerol (p=0.08), tended to be higher in PWH. 2-OG (p=0.03) was significantly elevated in CAD+ compared to CAD-. Total cholesterol was associated with LEA and N-stearidonoylethanolamine, triglycerides were associated with levels of MAGs.

Conclusions: Chronic HIV infection is associated with perturbed plasma levels of endocannabinoidome mediators. The opposite associations observed with NAEs or MAGs maybe predictive of subclinical CAD in PWH.

49 - Helical-constrained peptides as modulators of amyloid self-assembly and cytotoxicity

Margaryta Babych[1, 2], Phuong Trang Nguyen[1, 2], Vy Nguyen[1, 2], Frédérique Bérubé [1, 2], Steve Bourgault[1, 2]

[1]Université du Québec à Montréal, [2]Quebec Network for Research on Protein Function, Engineering and Applications, PROTEO

The islet amyloid polypeptide or amylin is a 37-residue peptide hormone playing a key role in glucose homeostasis. Nonetheless, IAPP is particularly known as the main component of amyloid deposits found in the pancreatic islets of type 2 diabetes patients. The structural modulation of this natively disordered peptide finely regulates its physiological role by affording high affinity to receptors, or its pathological implication through the formation of toxic oligomeric intermediates and eventually, insoluble cross-β-sheet amyloid fibrils. Increasing evidence suggests the presence of helical intermediates during conformational rearrangements preceding aggregation. However, the highly dynamic and heterogeneous nature of oligomers constitutes a major challenge for their structural and biological characterization. The objective of this study is to design helically stabilized derivatives of IAPP through side-chain stapling to investigate the role of transient helical conformations and to modulate the function/cytotoxicity duality of IAPP. Stabilization of the helical conformation was carried out between two non charged residues in the central domain and located on the same face of the helix (*i, i+4*) by lactamization and azide-alkyne click chemistry, respectively, conferring structural rigidity. The stabilized helical structure strongly altered the propensity of IAPP to self-assemble into amyloid fibrils, to perturb synthetic lipid vesicles, and to induce death of β-pancreatic cells. Overall, this study constitutes the first example of macrocyclization as a chemical tool applied to an amyloidogenic peptide, allowing a better understanding of the molecular basis of protein misfolding diseases, as well as being a promising route to identify potent and stable AMY receptor agonists.

50 - NMJ Analyser: a novel method to quantify neuromuscular junction morphology in zebrafish

Jaskaran Singh[1], Edward Pan[1], Kessen Patten[1]

[1]INRS

Neuromuscular junction structural integrity is crucial for transducing motoneuron signals that initiate skeletal muscle contraction. Zebrafish has emerged as a simple and efficient model to study neuromuscular junction structural morphology and function in the context of developmental neurobiology and neuromuscular diseases (NMDs). However, methods to quantify NMJ morphology from voluminous data of NMJ confocal images accurately, rapidly and reproducibly are lacking. To address this, we developed an ImageJ macro called “NMJ Analyser” to automatically and unbiasedly analyse NMJ morphology in zebrafish. From the Z-stack of a zebrafish hemi-somite, both presynaptic and postsynaptic fluorescently labelled termini are extracted from background signal, with larger clusters of termini being segmented into individual termini using an unbiased algorithm. The program then determines whether each presynaptic terminus is colocalized with a postsynaptic terminus and vice versa, or whether it is orphaned, and tabulates the number of orphan and colocalized pre- and postsynaptic termini. The usefulness of this ImageJ macro plugin will be helpful to quantify NMJ parameters in zebrafish, particularly during development and in disease models of NMDs. It can enable high-throughput NMJ phenotypic screens in the drug discovery process for NMDs. It could also be further applied to the investigation of NMJ of other developmental systems.

51 - Neuroprotective effect of dietary restriction are mediated by the conserved transcription factor PHA-4/FOXO and the neuronal maintenance molecule SAX-7/L1CAM

Yann Chabi[1], Anagha Khandekar[2], Ju-Ling Liu[1], Lise Rivollet[1], Claire Bénard[1, 2]

[1]Dept Biological Sciences, CERMO-FC Research Centre, Université du Québec à Montréal, Canada, [2]Dept Neurobiology, University of Massachusetts Chan Medical School, USA

Cognitive decline during aging is well-known, however the mechanisms by which nervous system dysfunction is triggered during aging remain elusive. We use *C. elegans* to probe neuronal responses to aging. We surveyed age-related neuronal changes in wild-type animals and found neuron-type specific alterations during aging. Neuronal changes appear to be uncoupled from lifespan extension as most long-lived mutants do not delay these neuronal shifts. However, *eat-2* mutants -a genetic model of caloric restriction- stand out, as their age-related neuronal changes are markedly delayed compared to wildtype counterparts. Delving into the underlying pathways, we showed that the transcription factor PHA-4/FOXA, necessary for the longevity of *eat-2* mutants, is also required for the neuronal protective effects of dietary restriction. A potential target of PHA-4 is the gene *sax-7*, which functions to maintain neuronal architecture in *C. elegans*. SAX-7 is homologous to the L1CAM family of cell adhesion molecules in mammals, where it also plays post-developmental roles to preserve cognitive abilities in adults. We find that the expression level of SAX-7 is upregulated in calorically restricted animals. Moreover, increased levels of *sax-7* were sufficient to preserve youthful aspects of neuronal organization in otherwise normally aging animals. Given the conservation between the human and *C. elegans* genomes and neuronal processes, genes that halt or promote neuronal decline in the worm advance our knowledge of the principles underlying neuronal maintenance and aging and may provide insights into neurodegenerative diseases, including rare diseases with adult onset or that become more prevalent with age.

52 - Link between c9orf72 loss of function and cerebellar pathology in zebrafish ALS model

Jaskaran Singh[1], Léa Lescouzères[1], Kessen Patten[1]

[1]INRS

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a rare neurodegenerative disorder that selectively degenerates the motor neurons. A hexanucleotide repeat expansion (HRE) in *C9ORF72* is the major genetic cause of ALS in approximately 40% familial and 5% sporadic cases. Loss of motor coordination and fine balance are the clinical hallmarks of individuals with ALS, but the role of the brain region - cerebellum, which controls these functions, has been widely overlooked in ALS studies. *C9orf72* is highly expressed in the cerebellum and individuals with C9-ALS display widespread cerebellar atrophy. Therefore, we hypothesize that the loss of C9orf72 function will have a mechanistic link with cerebellar pathology in ALS that would be altering the synaptic morphology and function in the cerebellum. To investigate the cerebellar pathology in ALS, we used a *c9orf72* knockdown zebrafish ALS model that replicates the partial loss of C9orf72 observed in patients. We have observed both in larval and adult stages a general reduction in the volume of the head as well as atrophy of the brain and cerebellum. Purkinje cells (PCs) have a significant role in encoding and controlling zebrafish swimming, a key motor behavior. We have identified the loss of Purkinje cells (PCs) in the C9 KD fish which precedes any observed disruption in the neuromuscular junction (NMJ). Additionally, we performed single-cell RNA sequencing on the C9 KD zebrafish brain which gives us functional enrichment of novel genes in cerebellum. Our study aims to elucidate the specific alterations occurring in the cerebellum, enhancing our understanding of ALS.

53 - Using antisense oligonucleotide to restore CLN3 molecular function in Batten disease.

Etiene Sauvageau[1], Jessica Centa[2], Michelle Hastings[2], Guido Hermey[3], Stephane Lefrançois[1]

[1]Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie INRS, [2]Center for RNA Biomedicine, University of Michigan, [3]Institute for Molecular and Cellular Cognition, University Medical Center Hamburg-Eppendorf

CLN3 Batten disease is a lysosomal storage disorder mainly caused by a deletion of exons 7 and 8 in the CLN3 gene ($CLN3^{\Delta 7/8}$) creating a premature stop codon and a truncated CLN3 protein. Antisense oligonucleotides (ASOs) can restore the normal open reading frame and their therapeutic potential has been demonstrated for spinal muscular atrophy. Recent work has demonstrated the potential of ASOs in treating CLN3 Batten disease. Mice harboring the Δ7/8 deletion were treated with an ASO that induced skipping of exon 5 ($CLN3^{\Delta 5/7/8}$). This results in a longer protein compared to $CLN3^{\Delta 7/8}$, which reduced histopathology, improved motor coordination, and increased lifespan of a CLN3 disease mouse model ($CLN3^{\Delta 7/8}$). CLN3 interacts with the small GTPase Rab7 allowing for Retromer recruitment to the membrane and the endosome-to-trans Golgi Network (TGN) retrieval of the lysosomal sorting receptor Sortilin. We therefore tested whether ASO corrected versions of CLN3 could interact with Rab7 and how they impacted downstream interactions and function. We found that $CLN3^{\Delta 5/7/8}$ and $CLN3^{\Delta 6/7/8}$ could interact with Rab7, Retromer and Sortilin, while $CLN3^{\Delta 7/8}$ could not. We found that expressing $CLN3^{\Delta 5/7/8}$ and $CLN3^{\Delta 6/7/8}$ in $CLN3^{KO}$ cells rescued the Rab7/Retromer interaction to similar levels as wild-type CLN3, whereas only $CLN3^{\Delta 5/7/8}$ rescued the Retromer/Sortilin interaction. Our efforts are now to develop tools to test whether $CLN3^{\Delta 5/7/8}$ can rescue lysosomal function in $CLN3^{KO}$ HeLa cells and if this ASO corrected version of CLN3 also restores other functions such as autophagy and endocytic degradation, which was previously shown to be defective in $CLN3^{KO}$ HeLa cells

54 - DIVERS PROGENITEURS AVEC DES POTENTIELS DE DIFFÉRENCIATION COMPLÉMENTAIRES PARTICIPENT À LA RÉGÉNÉRATION DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE PAR LE FACTEUR NEUTROPHIQUE GDNF DANS LA MALADIE DE HIRSCHSPRUNG

alassane gary[1], Rodolphe Soret[1], Nejia Lassoued[1], Marie Lefèvre[1], Nicolas Pilon [1]

[1]Département des sciences biologiques\CERMO-FC, Université du Québec à Montréal, 141 Avenue Président Kennedy, Montréal QC H2X 3V7

La maladie de Hirschsprung (HSCR) est une malformation du côlon caractérisée par l'absence de ganglions contenant les neurones et cellules gliales du système nerveux entérique (SNE). Actuellement, la seule option thérapeutique est la résection chirurgicale de la zone malade, ce qui entraîne des complications permanentes. Comme alternative, nous avons récemment développé une thérapie régénératrice consistant en une administration postnatale de GDNF (facteur neurotrophique dérivé des cellules gliales). Le GDNF induit des ganglions du SNE dans la zone malade de trois modèles murins de HSCR. Ces nouveaux ganglions sont très semblables à des ganglions normaux, étant notamment bien balancés en neurones cholinergiques-nitrergiques. Le traçage génétique a révélé que des précurseurs de cellules de Schwann (SCPs, DHH+) sont à l'origine de 1/3 de l'ensemble des neurones induits par le GDNF. Ce projet vise à identifier d'autres sources de neurones.

En utilisant une analyse transcriptomique à cellules uniques, nous avons confirmé que les SCPs sont une cible du GDNF et mis en évidence une contribution potentielle des cellules gliales entériques de type GFAP+ SLC18A2+. Nous avons validé la contribution des cellules GFAP+, constatant qu'elles génèrent également environ 1/3 des neurones induits. Nos données suggèrent que bon nombre de ces progéniteurs GFAP+ sont en fait dérivés des SCPs. De plus, les neurones issus des SCPs DHH+ et des cellules gliales GFAP+ sont fortement biaisées vers un phénotype cholinergique. Un autre type de progéniteurs participe donc à la formation des neurones nitrergiques. La possibilité que des fibroblastes/péricytes soient cette autre source est présentement à l'étude.

55 - STUDY OF AMARYLLIDACEAE ALKALOIDS' ACTIVITY AGAINST BETACORONAVIRUS

Luan Martins[1], Natacha Merindol[1], Ghada Elfayres[2], Lionel Berthoux[2], Antonio Evidente[3], Isabel Desgagne-Penix[1]

[1]Department of Chemistry, Biochemistry and Physics, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada, [2]Département de Biologie Médicale, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, QC, Canada, [3]Institute of Sciences of Food Production, National Research Council, Via Amendola 122/O, 70185 Bari, Italy

The betacoronavirus genera includes both, life-threatening viruses, such as severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), and mild cold symptoms viruses, such as human coronavirus OC43 (HCOV-OC43). Although several antiviral compounds have been developed for SARS-CoV-2, RNA viruses can evolve to escape both the treatment and the immune system. Several plants families produce specialized metabolites with therapeutical properties, such as lycorine an Amaryllidaceae alkaloid (AA) with a potent and broad-spectrum antiviral activity. AAs encompass over 650 reported compounds with 9 different structural ring-types. To discover new anti-viral molecules, we screened 40 AAs of 7 ring-types. Seven AAs with high anti-coronaviral properties were selected for further analysis. We uncovered that pancracine, haemanthamine, haemanthidine and crinamine are as potent as lycorine (selectivity index = 42) to block HCOV-OC43 replication, while amarbellisine was 2.5 more potent (selectivity index = 105). Time-of-drug addition experiments revealed that they targeted a post-entry step consistent with the timing of viral RNA synthesis-or-of translation. Experiments measuring the viral RNA synthesis using RT-qPCR confirmed that a post-entry, pre-release step, that resulted in an impediment of viral RNA replication, was targeted. Finally, using a GFP-expressing SARS-CoV-2 replicon measuring viral replication by flow cytometry and RT-qPCR, we confirmed that the AAs presented an antiviral activity against SARS-CoV-2, with cherylline, haemanthidine and amarbellisine inhibiting more than 85% of viral RNA replication at non cytotoxic concentrations. This study describes new anti-coronaviral compounds and the key structural features associated with their properties, which could lead to the design of new antiviral agents.

56 - Élaboration et optimisation d'une méthode d'analyse de protéines biotinylées par LC-HRMS/MS appliquée aux études interactomiques BioID

Carina Lima[1], Audrey M. Sénécal[1], Marc P. Lussier[1], Lekha Sleno[1]

[1]Université du Québec à Montréal, Département de Chimie, Montréal, QC, Canada

L'étude des interactions protéine-protéine est primordiale afin de mieux comprendre certains processus biologiques. L'approche BioID se base sur le marquage des protéines à proximité par l'entremise d'une biotine ligase fusionnée à une protéine d'intérêt. Les protéines biotinylées peuvent ainsi être identifiées par spectrométrie de masse pour dresser une liste d'interacteurs potentiels. Cette approche nous donne un outil puissant afin de caractériser l'interactome d'une protéine d'intérêt.

Nous avons optimisé une approche permettant l'analyse des protéines biotinylées par LC-HRMS/MS, afin d'étudier l'interactome associé à la protéine RNF13, qui joue un rôle dans le mécanisme de certains variants génétiques d'encéphalopathies développementales et épileptiques. Tout d'abord, les conditions de marquages ont été optimisés chez des cellules Neuro2A exprimant RNF13-UltraID, permettant une biotinylation optimale des protéines. Les protéines biotinylées étant peu abondantes, une étape efficace d'enrichissement est nécessaire avant leur analyse par LC-MS/MS. Dans cette étude, deux méthodes d'enrichissement sur résine streptavidine ont été testées soit au niveau des peptides biotinylés et l'autre avec les protéines biotinylées directement. Dans la première approche, les protéines sont préalablement digérées avant l'enrichissement. Dans la seconde approche, les protéines sont enrichies avant d'être digérées directement sur la résine. Dans ce dernier cas, les peptides issus de la digestion n'ont pas le site de modification inclus, mais une seconde étape d'élution libère les peptides biotinylées pour nous donner cette information. Nous allons discuter des avantages et des inconvénients des différentes approches, des résultats générés et de leur validation par co-immunoprécipitation ou immunofluorescence.

57 - Caractérisation d'éléments régulateurs dérivés d'éléments transposables dans le génome du riz Oryza sativa

Aurore Johary[1], Zoé Joly-Lopez[1]

[1]Université du Québec à Montréal

Dans le génome humain, les éléments transposables (ET) peuvent être associés à des maladies orphelines tel que la maladie de Pompe.

Les ET sont des séquences abondantes et diversifiées d'ADN non-codant capables de se déplacer dans le génome. Ils contribuent de façon importante dans les génomes, notamment dans leur impact sur la régulation des gènes et même en tant que matière première à l'émergence de nouvelles séquences géniques et *cis*-régulatrices. Ce processus évolutif nommé exaptation des ET (cisETE), a été observé chez les mammifères et les plantes comme le riz qui représente notre modèle d'étude en raison de la grande possibilité d'échantillonnage ainsi que son petit génome.

L'objectif de mon projet est d'utiliser une approche intégrative alliant l'évolution, la génomique fonctionnelle et l'édition du génome, afin de mieux comprendre l'impact des séquences *cis*ETE dans le génome du riz (*Oryza sativa*).

Ainsi, nous caractériseront des candidats *cis*ETE possédant des signatures de ET à l'aide de méthodes bio-informatiques et évolutives. Les candidats seront ensuite sélectionnés basés sur des signatures génétiques dont la présence de région hypométhylées, d'accessibilité à la chromatine et d'évidence de contact physique entre ces *cis*ETE et des régions promoteurs de gènes codants. Nous allons sélectionner les candidats les plus prometteurs pour mieux déterminer leur fonctionnalité à l'aide d'une mutagénèse dirigée (CRISPR/Cas9), suivi d'un séquençage d'ARN.

Cette approche systématique et les méthodes d'étude des *cis*ETE dans les plantes seraient directement transposables dans les animaux et pourraient contribuer à mieux cerner les maladies orphelines associées à ce type de séquences.

58 - Notch1 Signaling Pathway is Required for Vascular Growth and Regression During Eye Development

Shaymaa Khazaal[1], Abdoul Razak Sango[1], Ariane Vanessa Megne[1], Alexa Silva Sosa[1], Malika Oubaha[1]

[1]Université du Québec à Montréal

Hyaloid vessels, temporary fetal blood vessels forming the embryonic vascular system, play a vital role in nourishing the developing retina. The timing of hyaloid regression varies between species, with humans experiencing regression near the end of the pregnancy trimester, while in mice, it occurs postnatally. As hyaloid vessels recede, retinal blood vessels develop concurrently. Any disruption to this developmental process can lead to hyaloid vessels abnormal persistence, contributing to rare eye diseases such as Persistence of Fetal Vessels. Notch1, a transmembrane receptor, exerts tight control over essential vascular development pathways, including angiogenesis, vascular differentiation, and the maintenance of vascular integrity. Nevertheless, its precise role in vascular regression has remained uncertain. Consequently, we crossed *Cdh5Cre-ERT2* mice with Notch1-floxed (*Notch*$^{fl/fl}$) mice, creating *Cdh5Cre-ERT2; Notch1*$^{fl/fl}$ model that permits controlled temporal deletion of Notch1 in endothelial cells. We showed that Notch1 displays high expression during the initial stages of hyaloid vessels development. Consequently, Notch1 knock-out specifically in endothelial cells resulted in abnormal vascular persistence, significantly causing eye blood vessels regression. Quantitative RT-PCR data demonstrated a substantial reduction in Notch1 expression in the Notch1 knock-out group. Interestingly, Notch1 knock-out retinas exhibited higher vascular density, diameter, and increased distances between vessels compared to the *Notch1*$^{fl/fl}$ control, but fewer vascular areas. Moreover, Notch1 knock-out retinas displayed reduced development of retinal vascular layers. In summary, we emphasize a critical role of Notch1 in hyaloid vessels early development, its significance in hyaloid vasculature developmental regression, and its essential role in the full development of the retina's three vascular layers.

59 - Define the role of mitochondria-lysosome contact sites in the coordination of mitochondrial connectivity and activity in starvation.

Anahita Kasmaie[1], Marc Germain[1]

[1]Department of Medical Biology, University of Quebec at Trois-Rivières, Quebec, Canada

Define the role of mitochondria-lysosome contact sites in the coordination of mitochondrial connectivity and activity in starvation.

Anahita Kasmaie[1], Marc Germain[1]

1- Department of Medical Biology, University of Quebec at Trois-Rivières, Quebec, Canada

Mitochondria are a central metabolic hub regulating many cellular processes including cell growth and differentiation, stem cell maintenance and apoptosis. The control of these processes is achieved by modulating mitochondrial activity through changes in mitochondrial architecture. Mitochondria form large networks that are maintained though mitochondrial fusion and fission and changes in response to cellular stress and metabolic cues. For example, amino acid starvation increases mitochondrial length to maintain ATP levels, which is required for cell survival. Mitochondria also depend on specific contact sites with other organelles for their activity, but how this contributes to the response to starvation remains unknown.

Here, we addressed this question by measuring the interaction between mitochondrial and lysosomes in cells grown in the absence of glucose. As cells normally use glucose for energy production, we also measured the use of lipids as an alternative carbon source in cells grown in the absence of glucose.

During glucose starvation, mitochondrial networks become more connected, and this was accompanied by an increased interaction between mitochondria and lysosomes. Cells which grew in nutrient-depleted medium also showed a significant decrease in lipid droplet staining, suggesting an increase in lipid usage. Overall, our results suggest that the changes in mitochondrial networks that are triggered by starvation are associated with changes in the interaction between mitochondria and other organelles.

60 - Régulation des gènes paralogues RPS18A et RPS18B de la levure Saccharomyces cerevisiae

Frédérique Servant[1], François Dragon[1]

[1]CERMO-FC, Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal (UQAM)

La composition des ribosomes eucaryotes n'est pas uniforme : des configurations alternatives contiennent un ensemble de protéines ribosomiques différentes, d'où la variété de ribosomes non-identiques. Cette hétérogénéité a donné naissance à l'hypothèse des « ribosomes spécialisés » qui participeraient à la traduction préférentielle de certains ARNm. Ces différences fonctionnelles pourraient expliquer certaines ribosomopathies, ces maladies génétiques causées par un défaut d'assemblage et/ou de fonctionnement des ribosomes.

Pour mieux comprendre les différences fonctionnelles associées à l'hétérogénéité des ribosomes, nous utilisons la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme modèle. La plupart des protéines ribosomiques de la levure sont encodées par une paire de gènes paralogues. C'est le cas de uS13 encodée par les deux gènes paralogues *RPS18A* et *RPS18B*, qui diffèrent principalement dans les régions introniques et 3'-UTR.

Nous avons trouvé que la délétion du gène *RPS18A* ralentit davantage la croissance cellulaire que celle du gène *RPS18B*, suggérant une différence fonctionnelle entre ces paralogues. De plus, la surexpression de l'un ou l'autre des paralogues conduit à une baisse des niveaux de protéine uS13. Cette régulation pourrait se faire à différentes étapes de l'expression génique comme la transcription, l'épissage ou la traduction. Afin d'éclaircir les mécanismes de régulation des gènes *RPS18A* et *RPS18B*, nous avons comparé l'abondance des pré-ARNm et des ARNm matures par RT-qPCR dans différents contextes de dosages géniques des paralogues. Nos résultats préliminaires suggèrent que l'expression de *RPS18A* serait régulée dès l'étape de transcription, alors que *RPS18B* subirait un contrôle au niveau de l'épissage.

61 - Vers une compréhension des intermédiaires transitoires catalysant la formation de fibres amyloïdes au moyen substitutions chimiques ciblées

Frédérique Bérubé[1, 2, 3], Margaryta Babych[1, 2, 3], Phuong Trang Nguyen[1, 2, 3], Steve Bourgault[1, 2, 3]

[1]UQAM, [2]PROTEO, [3]CERMO-FC

Les maladies orphelines associées à la formation de dépôts amyloïdes dans divers tissus sont nombreuses. Notamment, l'amylose à chaîne légère et l'amylose de la transthyrétine (TTR) qui mènent à différentes formes de polyneuropathies. Afin d'atteindre cette structure insoluble en fibres amyloïdes, les précurseurs protéiques passent par une multitude de conformations, ce qui rend l'élaboration de thérapie contre les amyloses particulièrement difficile. Comme le processus de fibrillation est rapide, dynamique et conformationnellement hétérogène, l'étude du noyau compétent catalysant l'amyloidogénèse est très ardue. Dans le cadre de cette étude, nous utilisons une approche par modifications chimiques spécifiques en exploitant l'islet amyloid polypeptide (IAPP) comme peptide amyloidogénique modèle. En outre, il a été proposé que la conformation qui catalyse la transition vers la fibrillation est une structure épingle-à-cheveux β qui est initiée par l'empilement de feuillets-β de la région amyloïdogénique 20-29. Afin de tester cette hypothèse, les résidus Ser20-Asn21, Gly24-Ala25 et Ser29-Thr30 ont été successivement remplacés par un inducteur d'épingle-à-cheveux β (^{D}PG et ^{D}PP) afin de favoriser ce changement conformationnel dans l'IAPP, un peptide intrinsèquement désordonné. Les analogues en épingle-à-cheveux β ne peuvent pas s'agréger individuellement, mais engendrent une forte accélération de la fibrillisation du peptide natif, en inhibant presque complètement la phase de latence. Cette observation suggère que la conformation en β-épingle impliquant la région 20-29 pourrait constituer le noyau compétent de la voie amyloïdogénique. Dans son ensemble, cette étude permet une meilleure compréhension de la voie d'agrégation amyloïde et supporte le développement d'outils de diagnostic et de traitements adaptés aux amyloses.

62 - DNA nanostructures convert toxic oligomeric proteospecies into cytocompatible complexes: towards a new paradigm in the treatment of amyloidoses

Nadjib Kihal[1, 2, 3], Phuong Trang Nguyen[1, 2], Ali Nazemi[1, 3], Andrea A. Greschner[4], Marc A. Gauthier[4], Steve Bourgault[1, 2]

[1]1. Department of Chemistry, Université du Québec à Montréal, QC, Canada. Department of Chemistry, Université du Québec à Montréal, QC, Canada., [2]2. Quebec Network for Research on Protein Function, Engineering and Applications, PROTEO., [3]3. Centre québécois sur les matériaux fonctionnels/Québec Centre for Advanced Materials, CQMF/QCAM., [4]4. Institut National de la Recherche Scientifique (INRS), Énergie Matériaux Télécommunications Research Center, 1650 boul. Lionel-Boulet, Varennes, J3X 1P7, Canada.

The tissue deposition of insoluble proteinaceous aggregates in the form of amyloid fibrils within the extracellular space is associated with numerous orphan diseases, known as amyloidoses. According to the amyloid hypothesis, *i.e.* that a complex process of protein aggregation led to cellular degeneration, it is critical to arrest amyloidogenesis by stabilizing the monomeric native state, by trapping the highly toxic oligomeric species and/or by converting insoluble fibrils into soluble and cytocompatible proteospecies. However, the amyloid self-assembly is a very complex process and encompasses an infinite array of conformations and quaternary structures, making very challenging to identify such compounds. Herein, we studied the effects of different DNA-based nanostructures (1D, 2D and 3D) on amyloid aggregation and disaggregation, as well as investigated their mechanisms of action. Interestingly, analyses shown that the different DNA full duplex nanostructures significantly modulated amyloid formation of the islet amyloid polypeptide (IAPP), which is implicated in type 2 diabetes (T2D). These DNA nanostructures interacted via electrostatic interactions with IAPP amyloidogenic species and formed non-toxic and soluble complexes. They also reduced IAPP-associated toxicity on pancreatic β-cells by trapping soluble oligomeric species and converting them into non-toxic binary complexes. Overall, this work exposed the modulatory effects of DNA nanostructures on amyloidogenesis and these DNA scaffolds could be used as a source of inspiration for the design of molecules to fight amyloid-related disorders.

63 - Unravelling Myoblast Potential: A Breakthrough in CRISPR/Cas9 Efficiency

Adrien Rihoux[1, 2], Alexie Gagné[1, 2], Laura K. Hamilton[1, 2], Martine Tétreault[1, 2]

[1]Université de Montréal, [2]Centre de recherche du CHUM

Until now, the use of CRISPR/Cas9 in myoblast research has been challenging and has yielded low transfection efficiency. In this study, we present a transformative protocol, effectively integrating Neon Transfection system with Single Cell Cloning on immortalized myoblasts. This cohesive approach magnifies the yield of viable clones nine-fold and triples the occurrences of successful knockout mutations. More clones translate to an increased likelihood of obtaining colonies with desired mutations, thereby significantly improving the success rate of CRISPR manipulations.Our method's success is underpinned by the integration of the high-resolution melting (HRM) curve technique for clone screening, replacing the time-consuming and expensive sequencing processes. HRM reduces screening time from days to just a couple of hours and significantly cuts costs by minimizing cell culture resources.This innovative protocol not only speeds up myopathy research but also proposes an alternative to patient biopsies. It eliminates lengthy paperwork and patient discomfort associated with biopsies, making the process both faster and more humane. The unified approach of Neon Transfection, Single Cell Cloning, and HRM screening promises a higher success rate while avoiding bulk effects, thus maintaining the purity of the clones. This breakthrough holds substantial potential to redefine myoblast research and offers exciting possibilities for future myopathy studies and treatments.

64 - INVESTIGATING MUTATIONS IN THAP12 AS A NOVEL GENETIC ETIOLOGY OF LENNOX GASTAUT SYNDROME

Katarzyna Ochenkowska[1], Meijiang Liao[1], Jean-Francois Schmouth[2], Guillaume Bernas[2], Julie Pilliod[2], Nicole Leclerc[1], Eric Samarut[1]

[1]University of Montreal, CRCHUM, [2]CRCHUM

Children with epilepsy often develop other types of seizures, such as Lennox-Gastaut syndrome (LGS), characterized by severe intractable seizures unresponsive to anti-epileptic drugs. Unfortunately, 25% of the LGS cases are idiopathic. Identifying novel genetic etiology of severe infantile epilepsies is crucial to understanding their pathophysiology. Recently, two new variants in the *THAP12* gene have been identified by our collaborator in two undiagnosed LGS patients. Unlike other epilepsy-associated genes, the function of *THAP12* is unknown, surely it is not known to regulate neuronal excitability or neurodevelopment, making it an exciting target for functional investigations. Using patients' fibroblasts, we demonstrated that these mutations result in the loss of THAP12 protein expression, suggesting a pathogenic loss-of-function mechanism. Secondly, we showed that patients' mutations in *THAP12* lead to early embryonic lethality in mice. This emphasizes *THAP12's* yet unknown essential function during development. To circumscribe this lethality problem, we developed a zebrafish thap12-KO model and showed that mutant larvae can survive for a few days post-fertilization. Importantly, mutant larvae depict a reduced brain size, spontaneous motor seizure-like phenotype, and an increased sensitivity to pro-convulsants. Our preliminary investigations of brain circuits suggest an imbalance between inhibitory and excitatory neuronal networks. Altogether, our data support the causative role of these novel mutations in LGS and encourage the investigation of the function of *THAP12* during neurodevelopment, at the molecular and brain circuit levels. In conclusion, our research project has the potential to unveil new actionable targets for epileptic encephalopathies like LGS that can be exploited for therapeutic purposes.

65 - Investigating the molecular function of THAP12, a novel gene associated with a rare epileptic encephalopathy

Bryce Rampal[1, 2], Katarzyna Ochenkowska[2, 3], Meijiang Liao[2, 3], Éric Samarut[2, 3]

[1]Department of Biology, Queen's University, Kingston, ON, Canada, [2]Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montreal, QC, Canada., [3]Department of Neuroscience, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

Although mutations in several genes are known causes of some epilepsies, the underlying pathogenic mechanisms are not always understood. Moreover, about 30% of all epilepsies are refractory to available treatment, emphasizing the need for further investigation. We have shown that loss-of-function mutations in *THAP12*, a gene which has never been associated with neurodevelopmental disorders, causes a severe form of epileptic encephalopathy (unpublished). Interestingly, the function of *THAP12*, particularly at the level of the central nervous system, is unknown. Our preliminary data shows expression in the developing brain of vertebrates and knocking it out in zebrafish leads to neurodevelopmental defects. This project will investigate the molecular function of *THAP12* both *in vitro* and *in vivo*. We hypothesize that *THAP12* acts as a transcription factor and may play a role in the expression of master developmental gene regulators. To investigate the function of *THAP12* in vitro, we will compare the transcriptome of WT versus *THAP12*-KO HEK293 cells. We will perform a differential expression analysis to identify the main pathways that are affected in the absence of *THAP12*. Additionally, we will perform a chromatin immunoprecipitation assay coupled to deep sequencing to identify potential chromatin binding sites. Candidate genes regulated by *THAP12* will be validated by Western Blots and RTqPCR. Lastly, we will validate these findings in patient derived fibroblasts, and *in vivo*, using zebrafish models. By unravelling novel pathogenic mechanisms of epileptic encephalopathies, our work has the potential to unveil novel actionable molecular targets, needed for the development of novel non-canonical therapeutic strategies.

66 - DENGUE VIRUS RESTRICTION BY CYTOPLASMIC TRIM PROTEINS

Ricky Raj Paswan[1], NHUNG NGUYEN HA [1], JYOTIKA SINGH[1], LUAN LETIERI BELEM MARTINS [2], Natacha Mérindol[2], Aïcha Sow[3], Laurent Chatel-Chaix[3], Isabel Desgagné-Penix[2], Lionel Berthoux[1]

[1]Département de Biologie Médicale, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, QC, Canada, [2]Department of Chemistry, Biochemistry and Physics, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada, [3]Institut National de la Recherche Scientifique, Centre Armand-Frappier Sante´ Biotechnologie, 531, Boulevard des Prairies Laval, Que´ bec, QC H7V 1B7, Canada

Dengue virus (DENV), which belongs to the genus *Flavivirus* of the Flaviviridae family, is the most prominent mosquito-borne viral pathogen and the cause of dengue fever (DF), dengue shock syndrome (DSS), and dengue hemorrhagic fever outbreaks (DHF). Antiviral effector proteins, also called “restriction factors”, directly target and inhibit the virus, and are stimulated by interferons. Restriction often involves the degradation of viral components in a cellular complex called the proteasome. Several of these restriction factors belong to the TRIM family of proteins, a large family (~75 members in humans) of proteins with ubiquitin ligase activity. Our project focuses on cytoplasmic TRIM proteins (TRIMs), such as TRIM5α, TRIM56, and TRIM69 which has been reported to target flaviviruses. We used retroviral transduction and transient transfection to overexpress those TRIMs in VERO E6 cells and HEK293T cells, respectively. We found that TRIM5α and TRIM56 efficiently restricted DENV-2 infection in both cell lines, whereas all three restricted DENV-2 in HEK293T cells. TRIMs potentially interact with each other, raising the possibility that their antiviral activity is coordinated. Therefore, we are currently investigating the capacity of TRIM5α, TRIM56, and TRIM69 to physically interact in co-immunoprecipitation experiments. Along these lines, we are analyzing their putative subcellular co-localization using immunofluorescence and confocal microscopy. We will present the results from these experiments, which are performed in the presence and absence of DENV.

67 - La neuroinflammation induite par le LPS favorise les troubles homéostatiques chez la souris

Savanah Descôteaux[1]

[1]Université du Québec à Trois-Rivières

La neuroinflammation chronique est un phénomène biologique aux sources multiples, qui peut à son tour provoquer ou aggraver de nombreuses pathologies telles que le déclin cognitif ou les troubles neurodégénératifs. Une caractéristique importante de la neuroinflammation est sa persistance ; alors que l'inflammation périphérique peut se résorber rapidement après une infection virale ou bactérienne, par exemple, la neuroinflammation peut devenir chronique et durer des années, voire devenir permanente. Le vieillissement de la population occidentale, les polluants environnementaux et la pandémie de SRAS-COV2 forment ensemble un cocktail délétère qui conduira probablement à une prévalence accrue de la neuroinflammation persistante dans la population.

Alors que les troubles métaboliques tels que l'obésité sont connus pour générer eux-mêmes une neuroinflammation, on ne sait guère si, à l'inverse, une neuroinflammation chronique chez un individu de poids normal peut sensibiliser à la prise de poids. Ce projet vise à comprendre si la présence d'une neuroinflammation peut moduler les réseaux limbiques et hypothalamiques pour faciliter le développement de troubles métaboliques. En utilisant un modèle murin de neuroinflammation induite par le LPS, nous avons observé des changements dans le métabolisme énergétique lors de l'exposition à un régime riche en graisses. Nous avons également examiné les circuits pertinents et vérifié si les comportements cognitifs et anxio-dépressifs étaient affectés.

68 - Crise d’identité de neurones responsables de la satiété: comment un stress chronique reprogramme l’hypothalamus

alyssa breton morin[1], Alexandre fisette[1]

[1]université du québec à trois-rivières

L'obésité est reconnue comme un trouble du cerveau impliquant un dysfonctionnement des circuits neuronaux régulant la satiété et les dépenses énergétiques. L'hypothalamus abrite deux populations neuronales importantes pour l'homéostasie énergétique. Selon un modèle classique, les neurones AgRP stimulent l'appétit et favorisent l'économie d'énergie. En revanche, les neurones Pomc favorisent la satiété et les dépenses énergétiques. Les neurones Pomc deviennent dysfonctionnels dans un état d'obésité prolongée ; environ 25 à 50 % d'entre eux disparaissent dans des conditions de stress métabolique à long terme. Les mécanismes sous-jacents à ce dysfonctionnement ne sont pas encore connus. Pour mieux comprendre les processus à l'origine de ces changements dans les neurones Pomc, nous avons développé un modèle *in vitro* pour reproduire les conditions de suractivation des neurones Pomc, telles qu'observées dans l'obésité. Puis nous allons suivre les neurones Pomc à l'aide d'une approche chémogénétique. Dans cette étude, nous visons à montrer comment l'activation chronique des neurones Pomc *in vitro* modifie leur statut inflammatoire, leur capacité à générer et sécréter des peptides dérivés de Pomc, ainsi que l'impact sur les facteurs de transcription liés à leur identité neuronale. De plus, ces découvertes pourraient aider à identifier de nouvelles cibles pour le développement de médicaments, tout en contribuant au domaine plus vaste des neurosciences en fournissant une compréhension approfondie de la manière dont les circuits neuronaux régulent l'équilibre énergétique.

69 - Effet de mutations dans la protéine TBC1D24 associée au syndrome DOORS sur la dynamique mitochondriale

Sara Benhammouda[1], Priya Gatti[1], Justine Rousseau[2], Philippe Campeau[2], Marc Germain[1]

[1]uqtr, [2]Université de Montréal

La protéine RabGAP associée à l'épilepsie TBC1D24 est l'une des protéines mutées dans le syndrome de DOORS (Surdité, Onycho-Ostéodystrophie, Retard mental, Saisies). Au niveau moléculaire, le gène TBC1D24 code pour une protéine avec deux domaines hautement conservés. Le premier domaine, Tre2/Bub2/Cdc16 (TBC), est présent dans plusieurs Rab-GAPs, des protéines régulatrices du transport vésiculaire. Le deuxième est le domaine TLDc, qui est associé à la résistance au stress oxydatif. Bien que TBC1D24 joue un rôle dans le transport vésiculaire, sa fonction physiologique exacte dans la cellule est toujours mal connue. Cependant, nos données récentes en collaboration avec Philippe Campeau (Ste-Justine) suggèrent que TBC1D24 est présente dans les sites d'interactions entre les mitochondries et le réticulum endoplasmique (MAMs) d'où elle régule la dynamique mitochondriale, suggérant un rôle potentiel de TBC1D24 dans la fonction des mitochondries. Conformément à cela, nous avons constaté que TBC1D24 interagit avec IRBIT, une protéine du RE qui régule la formation des MAMs et le transfert de calcium entre le RE et les mitochondries. Les résultats obtenus en mettant en commun l'expertise du Dr Germain (mitochondries) et du Dr Campeau (TBC1D24) indiquent que des mutations distinctes de la protéine TBC1D24 associées au syndrome DOORS provoquent une fragmentation des mitochondries et une perte de leur activité. Certains mutants sont également associés avec un changement dans la structure du RE et une augmentation des MAMs. Finalement, la surexpression de IRBIT rétablit la morphologie des mitochondries, indiquant que la fonction de TBC1D24 est au moins partiellement dépendante de son interaction avec IRBIT.

70 - L'activation de cGAS mène à une réponse de l'interféron de type-I dans le placenta

Félix-Antoine Aubé[1], Geneviève Pépin[1]

[1]Université du Québec à Trois-Rivières

Le placenta est un organe vital pour le développement de l'enfant, Les pathologies reliées au placenta représenteraient environ 25% des mortinaissances et problèmes de restriction de grossesse. Alors que des procédés inflammatoires sont nécessaires à l'instauration d'un placenta fonctionnel, une dérégulation inflammatoire peut mener à des problèmes du placenta. Une réponse interféron de type-I, qui est normalement produite en cas d'infection, est connue de pouvoir causer des problèmes de développement reliés au placenta. Toutefois, les mécanismes menant à une réponse interféron de type-I dans le placenta ne sont pas tous définis.

Le détecteur d'ADN cytosolique *cGAS* est activé par le présence d'ADN et induit une réponde de type interféron de type-I via la protéine adaptatrice *STING*. La voie d'inflammation *cGAS-STING* protège l'hôte en cas d'infections mais peut aussi contribuer au dommage tissulaire en contexte d'inflammation stérile comme le vieillissement ou l'obésité. L'investigation de la voie *cGAS-STING* au niveau du placenta n'avait pas encore faite, nous nous y sommes penchés pour ce projet. Des trophoblastes et fibroblastes isolés à partir de placentas de souris de type *wild-type* et stimulés par transfection d'ADN ont montré une augmentation d'expression de gènes de l'interféron de type-I. Des images de microscopie confocale ont confirmé la présence des protéines *cGAS* et *STING* dans les deux populations cellulaires en plus de pouvoir confirmer la présence de la forme active de *STING (P-STING)* après transfection d'ADN. Mis ensemble, nos résultats suggèrent que l'activation de *cGAS* dans le placenta pourrait contribuer à une réponse interféron de type-I pathologique.

71 - Investigating the effects of EGF/EGFR activity on germline stem cell proliferation in C. elegans

Rustelle Janse van Vuuren[1], Jichao Deng[1], Vincent Roy[1], Patrick Narbonne[1]

[1]UQTR

Epidermal growth factor receptor (EGFR) is the major transmembrane tyrosine kinase protein for epidermal growth factors (EGF) in normal and cancer cells. EGFR and its ligands have been shown to be either upregulated or mutated in various cancer types such as lung, brain, and prostate.

Here we want to investigate the *C. elegans* orthologs of EGF and EGFR, LIN-3 and LET-23, respectively, to better understand their function in stem cell regulation. *C. elegans* germline stem cells (GSCs) indeed require LIN-3/LET-23 signaling for optimal proliferation specifically during adulthood, but the mechanisms remain elusive. In adult hermaphrodites, LIN-3/LET-23 activity increases proximal sheath cell contraction rate and strength to promote ovulation. This increase in sheath contractility does however not appear to directly promote GSC proliferation since proliferation is normal in *lin-3* or *let-23* mutant larvae.

As such, we will first determine the LIN-3/LET-23 requirements of this pathway for GSC proliferation at regular intervals during the larva-to-adult transition in *C. elegans* hermaphrodites. This will establish whether the LIN-3/LET-23 requirements correlate with the onset of oocyte generation. Ovulation events will be captured live in control, *lin-3* and *let-23* mutant strains in which a synthetically fused green fluorescent protein (GFP)-based, Ca^{2+} sensor (G-CaMP) will have been introduced in the sheath cells and spermatheca.

Secondly, we will compare oocyte numbers with an indicator of GSC proliferation rates, their mitotic index. Lastly, to evaluate the tissue(s) in which LET-23 is required to promote adult GSC proliferation, we will perform tissue specific rescue in *let-23* null mutants.

72 - Influence de la SUMOylation chez la protéine MeCP2 impliquée dans le syndrome de Rett

Julien Plamondon[1], Antoine Bouchard[1], Laurent Cappadocia[1]

[1]Université du Québec À Montréal

Les modifications post-traductionnelles des protéines permettent de modifier de manière rapide et réversible la force et la nature de nombreuses interactions protéines-protéines. Particulièrement, la SUMOylation permet de renforcer les interactions protéines-protéines impliquées dans différents processus allant de la transcription des gènes à la réparation de l'ADN. Plusieurs évidences montrent qu'elle est nécessaire au bon fonctionnement de la protéine *Methyl CpG Binding Protein 2* (MeCP2), un régulateur transcriptionnel permettant de réprimer la traduction de certains gènes. Plusieurs mutations au niveau de MeCP2 sont connues pour entrainer le syndrome de Rett (RTT), une maladie orpheline affectant environ une femme sur 10 000 et pouvant entraîner plusieurs symptômes comme un retard cognitif ou des déficiences motrices. Chez les mutants de MeCP2, il est possible d'observer une perte d'interaction avec une SUMO E3 ligase, se traduisant par une perte de SUMOylation. Cette baisse de SUMOylation entraînerait, par la suite, une perte des fonctionnalités de MeCP2, induisant les symptômes du RTT. Nous supposons qu'il est possible de rétablir les interactions entre MeCP2 et ses interacteurs en augmentant sa SUMOylation, ce qui permettrait d'alléger les phénotypes du RTT. Cependant, l'impact de la SUMOylation sur les interactions protéiques reste encore méconnu. C'est pourquoi ce projet vise à étudier et caractériser les conséquences d'une hausse de SUMOylation au niveau des interactions chez MeCP2 avec différents partenaires protéiques à l'aide d'outils moléculaires développés par le laboratoire. Les résultats obtenus permettront ultimement d'enrichir les connaissances sur le RTT et de faire progresser les recherches vers de nouvelles options de traitements.

73 - Impact of aging and calorie restriction on markers of mitochondrial fusion and autophagy in multiple metabolically active tissues.

Shima Taherkhani[1], Julie Faitg[1], Jean-Philippe Leduc-Gaudet[2], Olivier Reynaud[1], Gilles Gouspillou[3]

[1]Département de Biologie, Faculté des Sciences, UQÀM, Montréal, QC, Canada, [2]Département de biologie médicale, UQTR, Trois-Rivières, QC, Canada, [3]Département des sciences de l'activité physique, Faculté des Sciences, UQÀM, Montréal, QC, Canada

Aging is associated with dysfunction in most, if not all, metabolically active tissues, including the liver, heart, and skeletal muscles. Calorie restriction (CR) is one of the most effective strategies to prolong lifespan in rodents. CR is thought to exert its anti-aging effects by stimulating autophagy and optimizing mitochondrial health, possibly by impacting mitochondrial fusion and fission. However, studies that comprehensively evaluated the effects of aging and CR on proteins regulating mitochondrial fusion and autophagy in multiple metabolically active tissues are scarce. In this setting, we quantified proteins involved in mitochondrial fusion (MFN2 and OPA1) and autophagy (LC3-II/LC3-I) in the liver, heart, diaphragm, soleus, and tibialis anterior (TA) muscles in the following 3 groups of male SD rats: 1- adult (9-month-old) ad-libitum fed (A-AL); 2- old (21-month-old) AL (O-AL) and; 3- old (21-month-old) calorie restricted (O-CR; -40% food intake during 13 months). In the soleus, no significant differences between groups were observed for markers of mitochondrial fusion or autophagy, although trends for higher fusion protein contents were noted in O-AL. The liver, heart, diaphragm, and TA of O-AL displayed higher contents of mitochondrial fusion proteins and higher LC3-II/LC3-I ratio vs A-AL, suggestive of impaired/blocked autophagy. Most of these differences were not seen between O-CR and A-AL. Our results suggest that aging leads to alterations in mitochondrial fusion and autophagy that are attenuated by CR in most metabolically active tissues, albeit some of these effects appeared tissue-specific. The quantification of markers of mitochondrial biogenesis, content and fission are underway.

74 - Élaboration et caractérisation d'outils moléculaires permettant la modulation de la SUMOylation de protéines cibles

Antoine Bouchard[1], Valérie Cabana[1], Julien Plamondon[1], Ali Harake[1], Marc Lussier[1], Laurent< Cappadocia[1]

[1]UQAM

La SUMOylation est une modification post-traductionnelle des protéines. La réaction implique l'action séquentielle de trois enzymes : la E1 d'activation, la E2 de conjugaison et une protéine E3 ligase. Cette dernière permet la catalyse de la réaction en rapprochant le substrat de la E2 afin d'optimiser le transfert de SUMO sur le substrat. Malheureusement, l'étude des conséquences associées à une hausse spécifique de la SUMOylation est ardue, faute de méthodes adaptées. L'élaboration d'outils moléculaires permettant la hausse spécifique de la SUMOylation d'un substrat cible permettrait l'étude de la réaction dans un contexte *in cellula*. Pour arriver à ce but, nous avons élaboré deux approches distinctes. La première implique la fusion du fragment catalytique de la SUMO E3 ligase ZNF451 à un substrat. Par le rapprochement naturel des deux composantes, la SUMOylation du substrat fusionné s'en retrouve augmenté. Cette approche se veut aussi spécifique à ce substrat. Comme méthode additionnelle, nous avons élaboré un nanocorps composé du fragment catalytique de la SUMO E3 ligase ZNF451 et d'un module qui permet d'interagir avec une protéine cible. Par l'interaction entre le nanocorps et son substrat, nous sommes en mesure d'augmenter la SUMOylation de protéines cibles. Ces deux méthodes ont été validées à l'aide d'expérience *in vitro* et *in cellula*. La caractérisation de ces outils moléculaires permettra de connaitre les forces et limites de chaque approche. De cette façon, nous serons en mesure d'utiliser ces outils pour l'étude de protéines SUMOylées et de comprendre l'importance de cette modification post-traductionnelle dans l'organisme.

75 - Transcriptional landscape of MLIP in pediatric and adult myopathy patients

Alexie Gagné[1, 2], Sébastien Audet[1, 2], Jean Mezreani[1, 2], Laura Hamilton[1], Valérie Triassi[1], Adrien Rihoux[1, 2], Erin O'Ferrall[3], Jason Karamchandani[4], Sandra Donkervoort[5], Carsten Bonnemann[5], Martine Tétreault[1, 2]

[1]1. CHUM Research Center, Montreal, Quebec, Canada, [2]2. Department of Neurosciences, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada, [3]3. Department of Neurology and Neurosurgery, Montreal Neurological Institute, Montreal, Quebec, Canada, [4]4. Department of Pathology, Montreal Neurological Institute, Montreal, Quebec, Canada, [5]5. Neuromuscular and Neurogenetic Disorders of Childhood Section, Neurogenetics Branch, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.

Progress in genomic research has been driven by technological innovation, such as high-throughput sequencing. Despite great progress, there is a significant number of patients without a molecular diagnosis. One reason for this diagnostic shortfall is the challenge associated with interpretation of clinically relevant variants. To address this, *in vivo* or *in vitro* validation is required. Recently, bi-allelic variants in the gene *MLIP* (Muscular LMNA-interacting protein) were identified. Little is known about the biological role of MLIP, except the fact it interacts with *LMNA* (Lamin AC) a known muscle disease gene. *MLIP* has a complex transcriptional architecture with at least 7 isoforms with a tissue-specific expression pattern. Thus, the interpretation of MLIP variant is even more difficult and requires functional validation. Using long-read sequencing we uncovered unannotated transcripts of MLIP as well as a compensatory alternative event in an adult patient affected with a distal myopathy. Since biallelic variants have been identified in both pediatric and adult patients, we believe that difference in transcriptional landscape could explain, at least partially, the variability in age-of-onset and disease severity. To answer this question, we performed long-read sequencing on pediatric patients and compared the different splicing events. A better characterization of MLIP isoforms in muscle will contribute to our understanding of disease variability and ultimately will increase our understanding of MLIP's function in muscle.

76 - L'activation de Sigma-1R par la cocaïne déclenche le recyclage du canal potassium Kv1.2 vers la membrane plasmique: implication dans l'hypoactivité neuronale du noyau accumbens caractéristique de la dépendance

Vina Banouvong[1, 2], Sara-Maude Bélanger[1, 2], Véronik Lachance[1, 2], Mathieu Lapalme[1, 2], Juliette Latulippe[1], Renata Mirza[1], Louis-Olivier Roy[1], Saïd Kourrich[1, 2, 3]

[1]Département de sciences biologiques, Faculté des Sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, Qc, Canada, [2]Centre d'Excellence en Recherche sur les Maladies Orphelines, Fondation Courtois, Faculté des Sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, Qc, Canada, [3]Center for Studies in Behavioral Neurobiology, Concordia University, Montréal, Qc, Canada

Nos études précédentes ont montré que **la cocaïne induit une hypoactivité neuronale dans la coquille du noyau accumbens - une adaptation qui augmente les effets récompensant de la cocaïne.** La persistance de cette neuroadaptation, *indépendante* de la dopamine, implique l'activation de la protéine chaperonne Sigma-1R (S1R) qui promeut l'expression du canal potassique Kv1.2 à la membrane plasmique (MP). Afin d'identifier le mécanisme moléculaire initiant cette adaptation, nous avons confirmé la présence de ce phénomène *in vitro*, en employant les cellules HEK293T comme modèle. En effet, nous observons que S1R interagit avec Kv1.2 et que son activation par la cocaïne augmente l'expression du canal à la MP. Par la réalisation d'essais de stabilité protéique, nous montrons que S1R promeut la traduction et la stabilité de Kv1.2. En utilisant une approche pharmacologique, nous démontrons que l'inhibition des voies conduisant du RE au Golgi et celles conduisant au recyclage des endosomes vers la MP entrave le transport à la surface cellulaire de Kv1.2. La GTPase Rab11 étant impliquée dans le recyclage, nous montrons, par une approche génétique, que le mutant dominant négatif de Rab11 diminue le retour de Kv1.2 à la MP en présence de cocaïne. Nous observons également que S1R colocalise avec Kv1.2 et Rab11. Il est dorénavant bien établi que le dysfonctionnement du trafic vésiculaire effectué par les Rab GTPases est impliqué dans plusieurs maladies cérébrales. L'investigation des effets de la cocaïne sur le trafic endosomal permettra une meilleure compréhension des aspects neurobiologiques de la dépendance à cette substance.

77 - Multi-omic analysis of CHARGE syndrome-associated proteins CHD7 and FAM172A suggests a new regulatory role in the RNA polymerase II pausing checkpoint.

Sephora Sallis[1, 2], Sandrine Girard[2, 3], Nicolas Pilon[1, 2], Etienne Coyaud [4]

[1]Université du Québec à Montréal (UQAM), [2]CERMO-FC, [3]Université de Montréal (UdeM) , [4]Université de Lille, INSERM

CHARGE syndrome is a rare congenital disorder of neural crest cell (NCC) development mainly caused by mutation of the chromatin remodeler-coding gene *CHD7*. Mutation of the cotranscriptional regulator-coding gene *FAM172A* is another cause. Based on our work with mouse models and human cells from CHARGE patients, we previously proposed that FAM172A and CHD7 cooperate at the chromatin-spliceosome interface for activating the transcription and alternative splicing of many genes important for NCCs. To further test this model and better understand how these two proteins work together, we turn to a multi-omic approach involving genomic, transcriptomic and proteomic analyses. Using CUT&RUN, we first found that 95% of the chromatin regions occupied by FAM172A are also occupied by CHD7, and that the vast majority of these sites correspond to active promoter regions (H3K4m3+) in WT neural crest cells. Surprisingly, when we intersected these genomic data with transcriptomic data, we then discovered that most of the genes for which active promoters are normally co-occupied by FAM172A/CHD7 are upregulated in *Fam172a*-mutant NCCs. Meanwhile, our proteomic data revealed that the FAM172A interactome is markedly enriched in chromatin-associated proteins, RNA polymerase II-associated factors, splicing factors and R-loop (RNA-DNA hybrids) resolving enzymes. Altogether, these findings thus suggest a new role for FAM172A and CHD7 in regulating RNA polymerase II pausing in promoter regions - a key transcriptional checkpoint for proper assembly of the cotranscriptional machinery.

78 - The multisystemic effects of a supervised strength training in women with myotonic dystrophy type 1

Gilles Gouspillou[1], Laura Girard-Côté[2], Marie-Pier Roussel[2], Marika Morin[2], Jean-Philippe Leduc-Gaudet[3], Vincent Marcangeli[1], Luc J. Hébert[4], Benjamin Gallais[5], Cynthia Gagnon[5], Elise Duchesne[2]

[1]Université du Québec à Montréal, [2]Université du Québec à Chicoutimi, [3]Université du Québec à Trois-Rivières, [4]Université Laval, [5]Centre intégré universitaire de santé et de services sociaux du Saguenay-Lac-St-Jean

Introduction: Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is a hereditary disease characterized by muscular impairments. Fundamental and clinical positive effects of strength training have been reported in men with DM1.

Objectives: To evaluate the short and middle-term effects of 12 weeks supervised strength training on physical and neuropsychological health and on muscular histomorphology and metabolism in women with DM1.

Methods: A supervised resistance training program was performed twice-weekly. Clinical assessment including maximal muscle strength, functional capacity, apathy, anxiety/depression and fatigue was carried out before and after the intervention, as well as three and six months after completion of the training program. Muscle biopsies of the vastus lateralis were taken before and after the training program. Fiber growth was assessed with Minimal Feret's diameter. Mitochondrial respiration and free radical leak (rate of H_2O_2 emission normalized to the rate of oxygen consumption) were assessed using high resolution fluororespirometry. Muscle biopsies of six healthy control women served as control for metabolic analyses.

Results: Eleven participants completed the program (attendance: 98.5%). Muscle strength of hip and knee extensors ($p<0.006$), apathy ($p=0.0005$), patient-reported function of lower-extremity ($p=0.003$) and anxiety/depression ($P=0.009$) were significantly improved by training. Some of those clinical gains were maintained up to six months after the training program. DM1 patients/participants displayed lower mitochondrial respiration and higher free radical leak vs healthy controls. Resistance training in DM1 patients significantly increased mitochondrial respiration and lowered mitochondrial free radical leak.

Conclusion: Strength training is an effective tool to improve clinical and mitochondrial health in women with DM1.

79 - L'axe PGE2-Progéniteurs fibro-adipogéniques et son implication dans un contexte de régénération musculaire et dystrophique

Thomas Molina[1, 2], Paul Fabre[1, 2], Nicolas Dumont[1, 2]

[1]CR-CHU Sainte-Justine, [2]Université de Montréal

Introduction: Skeletal muscle has a remarkable regenerative capacity due to the presence of 2 stem cell types: muscle stem cells (MuSCs) and fibro-adipogenic progenitors (FAPs). FAPs are a population of muscle-specific mesenchymal stem cells that secrete extracellular matrix and paracrine factors playing a crucial role in the regulation of the myogenic activity of MuSCs. On the other hand, FAPs can differentiate into fibroblasts or adipocytes, and their chronic accumulation can lead to fibrofatty tissue deposition in diseases such as Duchenne Muscular Dystrophy (DMD). The regulatory mechanisms controlling FAPs cell fate decision during muscle regeneration are still elusive. The goal of this research project is to investigate the production of bioactive lipids, such as prostaglandin-E2 (PGE2), as a cell-intrinsic and extrinsic mechanism regulating FAPs cell fate decision during muscle regeneration and diseases.

Results: Our study revealed that FAPs produce PGE2 through COX-2 enzyme and that PGE2 produced by FAPs acts as a paracrine factor to stimulate MuSC proliferation. Moreover, knocking-out COX2 in FAPs leads to impaired muscle regeneration in vivo. Further transcriptomics and in vitro experiments showed that FAPs express different PGE2 receptors and that PGE2 acts as a pro-apoptotic and anti-proliferative molecule on these cells. Finally, our results indicated that PGE2-treated mice have a greater muscular strength than vehicle treated mice in the mdx mouse model of DMD.

Conclusion: The FAPs-COX2-PGE2 axis is critical to timely coordinate muscle regeneration. These findings also offer new therapeutic avenues for the treatment of DMD, a disease characterized by impaired regeneration, and fibrosis.

80 - Étude de l’effet in vitro et in vivo des médiateurs lipidiques visant les altérations des cellules souches musculaires observées en dystrophie myotonique de type 1 (DM1).

Inès Mokhtari[1, 2], Thomas Molina[1, 2], Paul Fabre[1, 2], Taeyeon Kim[1, 2], Élise Duchesne[3], Nicolas Dumont[1, 2]

[1]Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, [2]Université de Montréal, [3]Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)

Introduction : La dystrophie myotonique de type 1 (DM1) représente la myopathie la plus fréquente chez l’adulte. Cette maladie est associée à un profil inflammatoire anormalement élevé et à une diminution de la fonction des cellules souches musculaires (CSM). Des études récentes montrent que les médiateurs lipidiques dérivés des omégas-3, comme marésine 2 (MR2) et résolvines D2 (RvD2), ont un rôle actif dans la résolution de l’inflammation. Cependant, leur potentiel thérapeutique pour le traitement de maladies musculaires demeure méconnu. Objectifs: Évaluer l’effet *in vitro* et *in vivo* des médiateurs lipidiques sur l’inflammation et la fonction des CSM en DM1. Méthodologie : Des CSM issues de patients DM1 ont été utilisées pour évaluer l’expression des gènes inflammatoires par séquençage de cellules uniques. De plus, la quantification des macrophages a été effectuée sur des coupes musculaires de patients DM1. L’impact des médiateurs lipidiques sur la fonction des CSM et sur l’expression des gènes de l’inflammation a été évalué par immunofluorescence et qPCR. Des souris DM1 ont été traitées afin d’évaluer la force musculaire. Résultats : Les macrophages et plusieurs gènes inflammatoires (CXCL1, IL1, IL6 et CXCL8) sont surexprimés chez les sujets atteints en comparaison aux sujets sains. Les médiateurs MR2 et RvD2 ont diminués divers marqueurs inflammatoires (TNFα et l’IL1) et augmenté significativement la différenciation et la prolifération des CSM. Le traitement des souris avec RvD2 a augmenté significativement leur force musculaire Conclusion : Ce projet novateur ouvre une nouvelle stratégie thérapeutique pour limiter les atteintes musculaires observées en DM1.