



Xavier Giner

« Caractérisation de l'activité Nur77 et de ses complexes en essais BRET par complémentation »

Vendredi, 28 août 2015

à 10h00, Pavillon André-Aisenstadt (salle 1175)

Université de Montréal

2940 Chemin de la polytechnique, Montréal

Jury de thèse

Président-rapporteur : Yan Burelle

Directeur : Daniel Lévesque

Codirecteur: Sylvie Mader

Membre du jury : Stéphane Laporte

Examineur externe : Cécile Rochette-Egly

Représentant du doyen de la FESP : à confirmer

Résumé

Dans le système nerveux central, la dopamine joue un rôle crucial dans de nombreuses fonctions physiologiques telles que : l'apprentissage, le mouvement volontaire, la motivation, la cognition et la production hormonale. Il a été aussi démontré que le système de signalisation dopaminergique est altéré dans plusieurs maladies neurologiques et psychiatriques comme la maladie de Parkinson et la schizophrénie. Des études, effectuées dans le laboratoire du docteur Daniel Lévesque (laboratoire d'accueil), ont montré que les récepteurs nucléaires Nur77 (NR4A1, NGFI-B) et RXR γ (retinoid X receptors γ) sont impliqués dans la régulation des effets de la dopamine dans le système nerveux central. De plus, ces données suggèrent que le complexe Nur77 et RXR joueraient un rôle crucial dans l'effet des médicaments antipsychotiques et antiparkinsoniens. Toutefois, très peu de médicaments ciblant Nur77 ont été identifiés à ce jour et les médicaments agissant sur RXR γ restent mal caractérisés. En outre, les analyses actuellement disponibles ne peuvent pas résumer la complexité des activités des NRs et génèrent des mesures indirectes des activités des drogues. Afin de mieux comprendre comment est régulée l'interaction Nur77/RXR γ dans ces processus, mon projet a été de mettre au point un essai BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer) et PCA-BRET (Protein Complementation Assay-BRET) basé sur le recrutement d'un motif mimant un co-activateur fusionné avec la YFP. Nos différents essais ont été validés par courbes dose-réponse en utilisant différents composés RXR . Les EC⁵⁰ obtenues étaient très semblables aux valeurs précédemment rapportées dans la littérature. Nous avons aussi pu identifier un composé le SR11237 (BMS649) qui semble posséder une spécificité pour le complexe Nur77/RXR γ par rapport aux complexes Nurr1/RXR γ et RXR γ /RXR γ . Nos résultats indiquent que ces essais de BRET peuvent être utilisés pour évaluer la sélectivité de nouveaux composés pour les complexes Nur77/RXR γ , Nurr1/RXR γ et RXR γ /RXR γ .

Un autre aspect de mon projet de doctorat a été de mettre en évidence par BRET l'importance de la SUMOylation dans la régulation de l'activité de Nur77 dans sa forme monomérique, homodimérique et hétérodimérique. Nous avons ainsi identifié que Nur77 recrute principalement SUMO2 sur sa lysine 577. Il est intéressant de noter que le recrutement de la SUMO2 à Nur77 est potentialisé en présence de la SUMO E3 Ligase PIAS γ . Aussi, la perte de la SUMOylation sur la lysine 577 entraîne l'incapacité de Nur77 de recruter divers motifs de co-activation mais pas pour ses formes homo- et hétérodimérique .Cependant, la présence de PIAS γ lui ne potentialise pas le recrutement du co-activateur, suggérant que cette SUMO E3 Ligase est seulement impliqué dans le processus de recrutement de la SUMO mais pas dans celui du co-activateur. Nous avons ainsi déterminé une nouvelle modification post-traductionnelle sur Nur77 qui régule spécifiquement son activité monomérique.

Ces projets pourraient donc apporter de nouvelles données cruciales pour l'amélioration du traitement de la maladie de Parkinson ou de la schizophrénie, ainsi que d'obtenir une meilleure compréhension sur les mécanismes permettant la régulation de la fonction de Nur77.

Publications durant le doctorat :

Giner X, D Cotnoir-White, S Mader and D Lévesque, Selective ligand activity at Nur/retinoid X receptor complexes revealed by dimer-specific bioluminescence resonance energy transfer-based sensors, ***FASEB J.***, sous presse 2015.

Giner X, M Faure, S Mader and D Lévesque, Modulation of Nur77 and its complexes activity by sumoylation, en préparation.