

Contribution à la détection des protéines DUX4 et DUX4c dans des extraits de cellules musculaires

Résumé :

La dystrophie facioscapulohumérale (FSHD) est une maladie génétique causée par une délétion partielle d'éléments répétés de 3,3 kb appelés D4Z4 dans la partie subtélomérique du chromosome 4. Chacun de ces éléments comprend un cadre ouvert de lecture codant pour la protéine DUX4 dont la surexpression en cellules musculaires est toxique. Un élément D4Z4 isolé et inversé, situé en amont des éléments répétés, code pour une protéine DUX4c homologue à DUX4 mais non toxique.

Nous avons couplé de manière covalente à des billes magnétiques un anticorps monoclonal 9A12 dirigé contre l'extrémité carboxy-terminale de DUX4 et croisant avec DUX4c. A l'aide de cet anticorps couplé aux billes, nous espérons pouvoir concentrer ces deux protéines à partir de myoblastes de patients atteints de FSHD pour ensuite les analyser par MALDI et prouver leur expression. Nous avons d'abord montré la spécificité de l'anticorps couplé aux billes en immunoprécipitant DUX4 et DUX4c radioactives produites par transcription traduction *in vitro*. Nous avons ensuite transfecté des cellules de rhabdomyosarcome humain (TE-671) avec des vecteurs d'expression pCI-neo-DUX4 ou pCI-neo-DUX4c et démontré l'expression de ces protéines par Western blot. Nous avons immunoprécipité DUX4c et avons montré qu'il était associé à l'un de ses partenaires protéiques connus, Myf5, les 2 protéines étant détectées par Western blot. Par contre, nous n'avons pu détecter DUX4 à partir d'immunoprécipités ni en Western blot ni en coloration à l'argent. Etant donné la faiblesse des quantités de DUX4 et DUX4c que nous sommes parvenus à immunoprécipiter, nous n'avons pas tenté l'expérience sur des myoblastes de patients. Nous avons recherché si une phosphorylation de DUX4 n'expliquait pas sa plus faible reconnaissance par l'anticorps 9A12 par rapport à DUX4c. Bien que la réponse soit négative, cette étude nous a permis de mettre au point une méthode d'extraction plus efficace de DUX4.

Mots clés : FSHD, immunoprécipitation, anticorps, couplage covalent à des billes magnétiques, Western blot