

## **Identification par ChIP-on-Chip des gènes cibles d'ARX, facteur de transcription impliqué dans le retard mental lié à l'X et les interneuronopathies**

Mots clés : Gène *ARX* (*Aristaless-related homeobox*) / Retard mental lié à l'X / Lissencéphalie / ChIP-on-Chip

Les mutations du gène *Aristaless-related homeobox* (*ARX*) sont responsables d'un large spectre de phénotypes allant de malformations cérébrales sévères telle que la lissencéphalie, à des formes plus modérées de retard mental sans anomalie de structure du cerveau mais souvent associées à de l'épilepsie. *ARX* code un facteur de transcription à homéodomaine, fortement exprimé au cours du développement du cerveau, et plus particulièrement dans les interneurons GABAergiques. Plusieurs études ont montré l'implication d'*ARX* dans la prolifération des neuroblastes, la migration et la différenciation neuronales. Afin de mieux comprendre les différents rôles d'*ARX* et de caractériser les voies de signalisation impliquées, j'ai cherché à identifier les cibles de ce facteur de transcription par la technique d'immunoprécipitation de la chromatine associée aux puces à ADN (ChIP-on-Chip). Les complexes protéine/ADN, issus soit de cellules de neuroblastome de souris transfectées par *ARX*, soit de cerveaux embryonnaires de souris à E15.5, ont été immunoprécipités par un anticorps anti-*ARX*. L'ADN cible a ensuite été marqué et hybridé de manière compétitive avec un ADN de référence sur des puces ciblant les promoteurs des gènes de la souris. Enfin, les données extraites ont été analysées par différents outils bio-informatiques. Environ 285 gènes apparaissent communs aux cellules et au tissu. Une vingtaine de cibles ont été confirmées par ChIP/QFM-PCR et qRT-PCR en temps réel. Des études de transcriptomiques sont en cours pour permettre de valider la régulation de ces gènes par *ARX*. Cette étude devrait ainsi contribuer à une meilleure compréhension du rôle d'*ARX* dans la corticogenèse et à une meilleure caractérisation des mécanismes physiopathologiques du retard mental et de l'épilepsie associés aux mutations d'*ARX*.

## **Identification by ChIP-on-Chip of ARX target genes, transcription factor implicated in X-linked mental retardation and interneuronopathies.**

Key words: *ARX* (*Aristaless-related homeobox*) gene / X-linked mental retardation / Lissencephaly / Chromatin immunoprecipitation

Mutations in the *ARX* (*Aristaless-related homeobox*) gene are responsible for a wide spectrum of disorders extending from phenotypes with severe neuronal migration defects, such as lissencephaly, to milder forms of mental retardation without apparent brain abnormalities but associated features of dystonia and epilepsy. *ARX* encodes a homeobox transcription factor which is primarily expressed in the developing telencephalon, and particularly in populations of GABAergic neurons during development and in adult brain. Many studies have recently shown the involvement of *ARX* in several fundamental processes for brain development such as neuronal proliferation as well as neuronal migration, maturation and differentiation. In order to better characterize the role of *ARX* and the pathways involved, I performed some ChIP-on-Chip (chromatin immunoprecipitation on DNA microarrays) experiments to identify some of its target genes. DNA/protein complexes from either mouse neuroblastoma cells transfected by *Arx* or embryonic mouse brain were immunoprecipitated using a specific antibody against *Arx*. DNA was purified, amplified, labelled and simultaneously hybridized with the input chromatin DNA on mouse promoter microarrays. A total of 285 genes in common were obtained. Candidate genes were validated by ChIP/QFM-PCR and quantitative real time RT-PCR. Moreover, transcriptomic studies on cells transfected by *Arx* vs. Control were performed to validate the regulation of these candidate genes. The identification of *ARX* downstream genes should allow a better understanding of the role of this gene during brain development and the pathophysiological mechanisms associated with its mutations.