

Poster P.09.61

MECHANISTIC DISSECTION OF POLYCOMB-DEPENDENT DYSREGULATION IN WEAVER SYNDROME NEURAL LINEAGES

Trattaro S.^[1], Vitriolo A.^[1], Gibson W.T.^[3], Weksberg R.^[2], Testa G.^[1], López Tobón A.*^[1]

^[1]Istituto Europeo di Oncologia ~ Milan ~ Italy, ^[2]The hospital for sick children ~ Toronto ~ Canada, ^[3]BC Childrens hospital research institute ~ British Columbia ~ Canada

Weaver syndrome (WS) is a rare and so far, neglected disease characterized by overgrowth and intellectual disability, recently associated to mutations in the different components of the Polycomb complex, well-known repressor of gene expression in vertebrates. While much is known about the function of its catalytic unit Ezh2 in orchestrating developmental programs, there is no understanding of how the heterozygous mutations found in WS bring about disease phenotypes. The reason is twofold. First, as most functional studies were performed in Ezh2 homozygous null mice and cells, we do not know how one mutant Ezh2 allele impacts the global landscape of H3K27 methylation. Second, virtually nothing is known about the role of Ezh2 in developing human neurons which could underlie the intellectual disability, a major feature of WS that poses a significant burden for patients and families. In this project we pilot a new approach that addresses these unmet needs through the combination of two advanced technologies: i) differentiation of patient' reprogrammed lines into disease-relevant neural lineages (cortical organoids, postmitotic neurons and neural crest stem cells); and ii) a phenotypic profiling and validation of candidate biological processes found to be robustly and overlappingly aberrant across WS neural lineages, after their comprehensive transcriptional characterization. Through functional validation and scoring of these phenotypes, in combination single cell transcriptome sequencing to identify population-specific alterations and validated by a parallel system of gene activation/inactivation, we aim to a hierarchical definition of high-confidence drivers of these phenotypes and propose mechanistic strategies that pave the way to their pre-validation as possible therapeutic targets.

Studio della deregolazione dipendente da Polycomb nella sindrome di Weaver tramite l'uso di tipi cellulari neurali derivati da paziente.

La sindrome di Weaver è una malattia rara caratterizzata da eccessiva crescita, anomalie craniofacciali e disabilità intellettiva ancora oggi poco studiata. Recentemente, è stata associata a mutazioni in diverse componenti del complesso proteico "PRC2", noto per la sua azione di silenziamento genico. Ad oggi, non si sa ancora come queste mutazioni possano causare la malattia, anche se è noto che PRC2 è importante per lo sviluppo di molti tipi cellulari, fra cui i neuroni. Molti studi sono stati condotti annullando completamente la funzione di EZH2, la subunità più importante di PRC2 e indispensabile per la sua funzione, rappresentando una condizione sperimentale molto diversa da quella dei pazienti affetti, i quali hanno mutazioni di cui non conosciamo gli effetti sul funzionamento della proteina e che per di più si verificano in solo una delle due copie di EZH2. Per studiare a fondo le cause della disabilità intellettiva tipica di questa malattia, in questo progetto utilizzeremo cellule staminali derivate da pazienti per spingerle a diventare neuroni. Faremo uso della tecnologia degli organoidi cerebrali, strutture tridimensionali che ricapitolano i vari stadi di sviluppo del cervello embrionale. Inoltre, spingeremo queste cellule staminali a diventare anche precursori delle strutture della faccia, visti i severi dismorfismi facciali caratteristici dei pazienti Weaver. Questi modelli sperimentali ci permetteranno di capire quali processi biologici sono alla base della malattia aiutandoci

ad identificare alcuni possibili bersagli terapeutici su cui andremo ad interferire tramite ingegneria genetica e farmacologicamente per capire la loro potenzialità nella cura della sindrome di Weaver.

Adamo A, Atashpaz A, Germain PL, Zanella M, D'Agostino G, Albertin V, Chenoweth J, Micale L, Fusco F, Unger C, Augello B, Palumbo O, Hamilton B, Carella M, Donti E, Pruneri G, Selicorni A, Biamino E, Prontera P, McKay R, Merla G and Testa G, 7q11.23 dosage-dependent dysregulation in human pluripotent stem cells affects transcriptional programs in disease-relevant lineages, *Nat Genet*, 47: 132-141.

Al-Salem A, Alshammari MJ, Hassan H, Alazami AM, Alkuraya FS. 2013, Weaver syndrome and defective cortical development: a rare association. *Am J Med Genet A*. 1:225-227.

Boyer LA, Plath K, Zeitlinger J, Brambrink T, Medeiros LA, Lee TI, Levine SS, Wernig M, Tajonar A, Ray MK, Bell GW, Otte AP, Vidal M, Gifford DK, Young RA, Jaenisch R., 2006, Polycomb complexes repress developmental regulators in murine embryonic stem cells, *Nature*, 18: 349- 53.

Gibson WT, Hood RL, Zhan SH, Bulman DE, Fejes AP, Moore R, Mungall AJ, Eydoux P, Babul-Hirji R, An J, Marra MA, FORGE Canada Consortium, Chitayat D, Boycott KM, Weaver DD, and Jones SJ, 2012, Mutations in EZH2 Cause Weaver Syndrome, *The American Journal of Human Genet*, 90: 110–118.

Weaver DD, and Gibson WT, 2015, Weaver Syndrome-Associated EZH2 Protein Variants Show Impaired Histone Methyltransferase Function In Vitro, *Hum Mutat*, 37: 301-307.

Sindrome di Weaver

Coordinator: Alejandro López Tobón

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2019

Telethon Project (nr):

GGP19295

Disease Name:

Weaver Syndrome

Keywords:

Weaver syndrome, Transcriptomics, Cortical development