

## Poster P.13.104

### TMEM16E / ANO5 MUTATIONS RELATED TO BONE DYSPLASIA OR MUSCULAR DYSTROPHY CAUSE OPPOSITE EFFECTS ON LIPID SCRAMBLING

Di Zanni E., Gradogna A., Picco C., Scholz--Starke J., Boccaccio A.\*

*IBF - CNR ~ Genova ~ Italy*

Gnathodiaphyseal dysplasia (GDD) is a rare autosomal-dominant generalized skeletal syndrome characterized by bone fragility, sclerosis of tubular bones and fibro-osseous lesions of the jawbones. It is associated with mutations in the GDD1 gene, also known as TMEM16E or Ano5, belonging to the TMEM16 or Anoctamin family of integral membrane proteins. Interestingly, the same gene is involved in different forms of muscular dystrophy (LGMD2L, limb-girdle muscular dystrophy-2I and distal MMD3, miyoshi muscular dystrophy-3), although there is no overlap with mutations associated to GDD and neither with the clinical phenotype.

Members of the TMEM16 protein family are involved in a variety of functions that include ion transport, phospholipid scrambling and regulation of other membrane proteins.

Exploiting its partial plasma membrane localization following transient overexpression in HEK293 cells, we demonstrated that human TMEM16E has a Ca<sup>2+</sup>-activated phospholipid scramblase activity, associated to the development of a non selective ion current (Di Zanni et al 2018).

Additionally we investigated in the same expression system the effect of GDD-related amino acid exchanges on TMEM16E function that lead to a gain-of-function phenotype, showing scramblase activity at basal cytosolic Ca<sup>2+</sup> levels (Di Zanni et al 2018). These experiments also revealed that the gradual changes in HEK293 cell morphology observed upon expression of GDD-related TMEM16E mutants are a consequence of aberrant protein activity.

Contrarily muscular dystrophy causing mutations, involving residues localized in the putative scrambling domain of the protein, cause a loss of function phenotype.

These results firmly establish functional activity of TMEM16E as a Ca<sup>2+</sup>-dependent phospholipid scramblase and the effect of disease causing mutations. This information is a prerequisite to advance hypotheses on TMEM16E physiological role and the pathological mechanism leading to disease.

La displasia gnatodiafisaria (GDD) è una rara sindrome scheletrica ereditaria caratterizzata da fragilità ossea, sclerosi delle ossa tubolari e lesioni fibro-ossee delle ossa mascellari. La malattia è ereditata con modalità autosomica dominante ed è associata a mutazioni nel gene GDD1, noto anche come TMEM16E o Ano5, che codifica per una proteina appartenente alla famiglia di proteine integrali di membrana TMEM16 o Anoctamina. Lo stesso gene è coinvolto in diverse forme di distrofia muscolare (LGMD2L, "limb-girdle muscular dystrophy-2I" e dystal-MMD3, "miyoshi muscular dystrophy-3"), anche se non vi è alcuna sovrapposizione con le mutazioni associate alla sindrome scheletrica GDD e con la sua manifestazione clinica.

I membri della famiglia di proteine TMEM16 hanno varie funzioni, trasporto ionico, traslocazione (scrambling) di fosfolipidi e regolazione di altre proteine di membrana.

Nel presente studio, inizialmente supportato da Telethon con un finanziamento Exploratory, abbiamo studiato la funzione della proteina TMEM16E e l'effetto delle mutazioni di singoli amino acidi associate alle malattie.

Abbiamo dimostrato che la proteina funziona come trasportatore di lipidi (scramblase) attivato dalla presenza di calcio citoplasmatico e che le mutazioni associate alla malattia scheletrica e alla distrofia muscolare hanno effetti opposti sulla funzionalità della proteina.

Questa informazione è un prerequisito per avanzare ipotesi sul suo ruolo fisiologico e il meccanismo patologico che porta alla malattia scheletrica GDD e alla distrofia muscolare associata.

Di Zanni E, Gradogna A, Scholz-Starke J, Boccaccio A. Gain of function of TMEM16E/ANO5 scrambling activity caused by a mutation associated with gnathodiaphyseal dysplasia. *Cell Mol Life Sci.* 2018 May;75(9):1657-1670. doi: 10.1007/s00018-017-2704-9.

Displasia gnatodiafisaria

Coordinator: Anna Elisabetta Boccaccio

Duration (N. Years): 1

Starting year: 2016

**Telethon Project (nr):**

GEP15078

**Disease Name:**

Gnathodiaphyseal Dysplasia

**Keywords:**

gnathodiaphyseal dysplasia, muscular dystrophy, phospholipid scrambling