



**HAL**  
open science

# Étude du rôle pathogénique de la protéine ORF1p du rétrotransposon LINE-1 ciblant l'enveloppe nucléaire

Rania Znaidi

► **To cite this version:**

Rania Znaidi. Étude du rôle pathogénique de la protéine ORF1p du rétrotransposon LINE-1 ciblant l'enveloppe nucléaire. Neurosciences [q-bio.NC]. Sorbonne Université, 2023. Français. NNT : 2023SORUS284 . tel-04274247

**HAL Id: tel-04274247**

**<https://theses.hal.science/tel-04274247>**

Submitted on 7 Nov 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—



SORBONNE UNIVERSITÉ

ÉCOLE DOCTORALE : ED3C

Laboratoire de recherche : CIRB, collège de France

T H È S E

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ SORBONNE UNIVERSITÉ

Discipline : Neurosciences

Présentée et soutenue par :

**Rania ZNAIDI**

Le : 11 octobre 2023

**Étude du rôle pathogénique de la protéine  
ORF1p du rétrotransposon LINE-1 ciblant  
l'enveloppe nucléaire**

Sous la direction de :

**Dr. Rajiv L. JOSHI, CIRB**

**Membres du jury :**

Dr. Emmanuel BROUILLET – Président du jury

Dr. Patrick CURMI – Rapporteur

Dr. Maria COSTA – Rapporteur

Dr. Valérie DOYE – Examinatrice

Dr. Pascale LESAGE – Examinatrice

Dr. Julia FUCHS – Examinatrice

Dr. Rajiv L. JOSHI – Directeur de thèse

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué dans le laboratoire CIRB au Collège de France sous la direction du Dr. Rajiv Joshi au sein de l'équipe 'Pathophysiology of transposable elements in the brain', dirigée par le Dr. Julia Fuchs.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers chacun des membres de mon jury, dont la contribution et l'évaluation sont d'une importance cruciale pour l'aboutissement de ce travail. Dr. Patrick Curmi, Dr. Maria Costa, Dr. Valérie Doye, Dr. Pascale Lesage et Dr. Emmanuel Brouillet, c'est avec un immense honneur que je vous adresse mes remerciements. Vos évaluations et vos conseils contribueront sans aucun doute à l'enrichissement de ma réflexion et à l'amélioration de mes compétences en recherche.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers le Dr. Julia Fuchs de m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je te remercie pour ton encadrement, ton soutien continu et tes conseils inestimables tout au long de mon stage et de ma thèse. C'est avec un immense honneur que j'ai fait partie intégrante de ton équipe. Je souhaite également te remercier pour ta bienveillance ainsi que pour les multiples encouragements. Saches que ta confiance et tes encouragements ont joué un rôle crucial dans la réussite de cette thèse.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à mon directeur de thèse, le Dr. Rajiv Joshi, pour son accompagnement, le partage de son savoir et de sa passion pour la science. Je t'exprime également ma reconnaissance pour ton soutien constant, ta patience et tes conseils précieux qui ont éclairé chacune des étapes de ma thèse. J'ai énormément appris à tes côtés et notamment la rigueur scientifique sans faille qui te caractérise et qui m'a permis de progresser durant ces trois années. Tu as toute ma reconnaissance et mon plus profond respect.

Mes remerciements s'adressent aussi à Olivia Beaudouin, qui m'a formée et accompagnée tout au long de cette aventure. Ses compétences et son dévouement dans ce domaine ont grandement contribué à la réussite de ma thèse. Merci d'avoir été si patiente avec nous et nous avoir transmis ton savoir et ton expertise.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers Philippe et Héroïse, pour leur contribution inestimable à mes travaux de thèse. Leur expertise technique et leur aide ont été des atouts précieux qui ont grandement enrichi la qualité de mes travaux de recherche. Merci également à tous les membres de la plateforme d'imagerie et surtout à Julien pour ton aide constante et tes précieux conseils.

Mes remerciements s'étendent également à l'ensemble des membres, passés et présents, de notre équipe. À Tom, François, Sandra et Myriam, travailler à vos côtés a été un plaisir pour moi, toujours dans la joie et la bonne humeur. Merci pour votre aide précieuse. Je vous souhaite le meilleur pour vos futurs projets.

À l'équipe exceptionnelle « de choc » David, Rachel, les anciennes, Mélanie, et Angélique, ainsi qu'aux nouvelles recrues Camille et Fanny, je tiens à vous exprimer ma gratitude pour votre aide, votre enthousiasme et la positivité que vous insufflez au laboratoire.

A mes parents, depuis les premiers instants de ma vie, vous avez été mes premiers enseignants, mes premiers guides et mes premiers supporters. Votre amour, vos encouragements et votre foi en moi m'ont constamment porté vers l'avant. A mon père, tes valeurs d'intégrité et de persévérance ont profondément marqué mon parcours. Le succès de ta thèse un an avant le début de la mienne était une grande source de motivation pour moi. A ma mère, merci d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir encouragé à entamer cette thèse et de m'avoir soutenu tout le long. A ma chère sœur, je te remercie profondément pour ton soutien et ta présence constante à mes côtés. Ta force et ta bienveillance ont illuminé mon chemin et ce depuis toujours. A ma famille, vous avez tout mon amour et ma reconnaissance.

Je souhaite également exprimer ma gratitude envers tous mes amis pour leur soutien et leur joie de vivre, qui ont égayé chaque étape de cette aventure.

Je tiens à remercier du fond du cœur tous les membres du laboratoire, les membres du service de gestion, de livraison ainsi que tous les autres, ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail. Votre influence et votre aide ont été essentielles, et je suis très reconnaissante pour chaque interaction et chaque enseignement que j'ai reçu à vos côtés.

Enfin, je voulais remercier la fondation « Recherche Alzheimer » qui a financé ma thèse, pour leur généreux don. Je suis vraiment reconnaissante pour leur générosité et leur soutien.

## TABLE DE MATIERES

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	2
<b>TABLE DE MATIERES</b> .....	4
<b>TABLES DES FIGURES</b> .....	5
<b>ABREVIATIONS</b> .....	7
<b>INTRODUCTION</b> .....	9
<b>I. Les maladies neurodégénératives liées à l'âge</b> .....	9
1. Introduction des maladies neurodégénératives.....	9
2. Comment expliquer la corrélation entre les MN et l'âge ?.....	14
3. Mécanismes pathogéniques.....	16
<b>II. Les éléments transposables, nouveaux acteurs dans les MN</b> .....	18
1. Vue d'ensemble sur les éléments transposables .....	18
2. Rétrotransposons LINE-1 .....	22
3. Mécanismes de répression des LINE-1 dans la cellule hôte .....	27
4. Dé-répression des éléments transposables dans les contextes de neuro- dégénérescence et de troubles neurologiques.....	32
5. Conséquences possibles de l'activation des LINE-1.....	38
<b>III. L'enveloppe nucléaire dans le contexte des maladies neurodégénératives</b> .....	43
<b>ARTICLE</b> .....	49
<b>REVUE SCIENTIFIQUE</b> .....	51
<b>DISCUSSION</b> .....	53
<b>I. État de l'art sur le ET et les MN</b> .....	53
<b>II. Discussion des résultats majeurs et travaux de thèse</b> .....	54
1. L'activation des éléments LINE-1 dans les neurones et ses conséquences.....	54
2. Altérations nucléaires associées à ORF1p.....	60
2.1. Translocation de la protéine ORF1p dans le noyau .....	60
2.2. Altération de la membrane nucléaire.....	64
2.3. L'altération du complexe de pore nucléaire et du transport nucléocytoplasmique 75	
3. Stratégie thérapeutique ciblant l'intégrité de la membrane nucléaire.....	82
<b>III. Conclusion et perspectives</b> .....	86
<b>REFERENCES</b> .....	90

## TABLES DES FIGURES

<b>Figure 1 : Régions cérébrales primaires affectées dans les MN et les caractéristiques pathologiques communes qu'elles partagent (Fu et al., 2018 ; Gan et al., 2018).</b> .....	10
<b>Figure 2 : Les neuf caractéristiques du vieillissement (Hou et al., 2019).</b> .....	16
<b>Figure 3 : Classification des éléments transposables (Jönsson et al., 2020).</b> .....	19
<b>Figure 4 : Structure de LINE-1 chez l'homme, sa taille, le nombre de copies et le pourcentage qu'il couvre dans le génome.</b> .....	24
<b>Figure 5 : Cycle de vie du LINE-1.</b> .....	27
<b>Figure 6 : Mécanismes de répression des LINE-1 (Peze-Heidsieck et al., 2022).</b> .....	32
<b>Figure 7 : Conséquences de l'activation des LINE-1 sur la cellule hôte.</b> .....	41
<b>Figure 8 : Effets en cis des éléments transposables (Ravel-Godreuil et al., 2021 ; Peze-Heidsieck et al., 2022).</b> .....	42
<b>Figure 9 : Structure de l'enveloppe nucléaire et de ses composants (Schooley et al., 2012).</b> .....	44
<b>Figure 10 : Représentation du complexe de pore nucléaire (CPN) et le transport nucléocytoplasmique (TNC) (Fallini et al., 2020).</b> .....	46
<b>Figure 11 : La dé-répression des rétrotransposons LINE-1 et le déclenchement de l'inflammation (Zhang et al., 2020).</b> .....	59
<b>Figure 12 : Fonctionnement du CPN et l'intervention de NUP153 et KPNB1. Adapté de (Larrieu et al., 2018)</b> .....	64
<b>Figure 13 : Structure du noyau et de l'enveloppe nucléaire.</b> .....	66
<b>Figure 14 : Modèle proposé pour la méthylation de H4K20 et l'implication de HP1. Adapté de Corvalan et al. (2021).</b> .....	72

<b>Figure 15 : Conséquences de l'altération de la membrane nucléaire (Nader et al., 2021).</b> .....	<b>74</b>
<b>Figure 16 : Altération du complexe de pore nucléaire et ses conséquences possibles D'après (Fallini et al., 2020). .....</b>	<b>81</b>
<b>Figure 17 : Modèle du mécanisme d'action de la Remodelin sur NAT10 (Larrieu et al., 2018). .....</b>	<b>83</b>
<b>Figure 18 : Modes d'action possibles de la Remodelin.....</b>	<b>85</b>
<b>Figure 19 : Nouveau rôle pathogénique de ORF1p ciblant la membrane nucléaire. ....</b>	<b>89</b>

## ABREVIATIONS

**5mC** : 5-methyl cytosine  
**6-OHDA** : 6-Hydroxydopamine  
**APP** : Amyloid Beta Precursor Protein  
**ASOs** : Oligonucléotides antisens  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**A $\beta$**  : Amyloid beta  
**BAH1** : Glycosyltransferase family 92 protein  
**C9orf72** : C9orf72-SMCR8 Complex Subunit  
**cGAS** : GMP-AMP synthase cyclique  
**CpG** : Cytosine-phosphate-guanine-dinucleotide  
**CPN** : Complexe de pores nucléaires  
**CRM1** : Chromosomal Maintenance 1, ou Exportin 1  
**DNMT1** : DNA methyltransferase 1  
**EN** : Endonucléase  
**ET** : Éléments transposables  
**FTD** : Démence frontotemporale  
**GFP** : Green fluorescent protein  
**GLE1** : GLE1 RNA Export Mediator  
**H3** : Histone H3  
**H3K9me3** : Triméthylation de la lysine 9 sur l'histone H3  
**H4K12ac** : Acétylation de la lysine 12 sur l'histone H4  
**H4K20me3** : Triméthylation de la lysine 20 sur l'histone H4  
**HDAC3** : Histone deacetylase 3  
**HERVs** : Human endogenous retrovirus  
**HGPS** : Hutchinson-Gilford progeria  
**HIV 1** : Human immunodeficiency virus 1  
**HP1** : Heterochromatin associated protein 1  
**INE** : Inner nuclear envelope  
**IRF3** : Interferon regulatory factor 3  
**KAP1** : KRAB-associated protein 1  
**KMT5C** : Lysine methyltransferase 5C  
**KPNA2** : Importin alpha 2  
**KPNB1** : Importin beta 1  
**LAD** : Lamin associated domain  
**LBR** : Lamin B1 receptor  
**LINC** : Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton  
**LINE-1** : Long interspersed nuclear elements  
**LTR** : Long terminal repeat  
**LUHMES** : Lund Human Mesencephalic Neuronal Cell  
**MA** : Maladie d'Alzheimer  
**mDA** : Neurones dopaminergiques



**MeCP2** : Methyl-CpG binding protein 2  
**MN** : Maladie neurodégénératives  
**MP** : Maladie de Parkinson  
**MS** : Atrophie multi-systémique  
**NAT10** : N-Acetyltransferase 10  
**NUP** : Nucleoporeine  
**ONE** : Outer nuclear envelope  
**ORF** : Open reading frame  
**PARK2** : Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase  
**PARK6** : PTEN Induced Kinase 1  
**PARK7** : Parkinsonism Associated Deglycase  
**piARN** : Les ARN interagissant avec PIWI  
**PLA** : Proximity ligation assay  
**RAN** : Ras-related nuclear protein  
**RANGap1** : Ran GTPase activating protein 1  
**RANGTPase** : GTP-binding nuclear protein Ran  
**RNP** : Ribonucleoprotein  
**SETDB1** : SET Domain Bifurcated Histone Lysine Methyltransferase 1  
**siARN** : Petits ARN interférents  
**SINE** : Short Interspersed Nuclear Element  
**SIRT** : Sirtuin  
**SLA** : Sclérose latérale amyotrophique  
**SNpc** : Substantia nigra pars compacta  
**ssDNA** : Single strand DNA  
**STING** : Stimulator of Interferon Genes  
**SVA** : SVA (SINE/VNTR/Alu) Element  
**TAF1** : TATA-box binding protein associated factor 1  
**Tau** : Microtubules protein-associated MAP  
**TDP-43** : Tar DNA Binding Protein 43  
**TH** : Tyrosine hydroxylase  
**TNC** : Transport nucleocytoplasmique  
**TNPO3** : Transportin 3  
**TPR** : Translocated promoter region  
**TREX1** : Three Prime Repair Exonuclease 1  
**TSD** : Duplication de site cible.  
**Tuj1** : Beta Tubulin III  
**UTR** : Untranslated transcribed region  
**VNTR** : Variable number tandem repeats  
**ZNF** : Zinc-finger proteins

# INTRODUCTION

## I. Les maladies neurodégénératives liées à l'âge

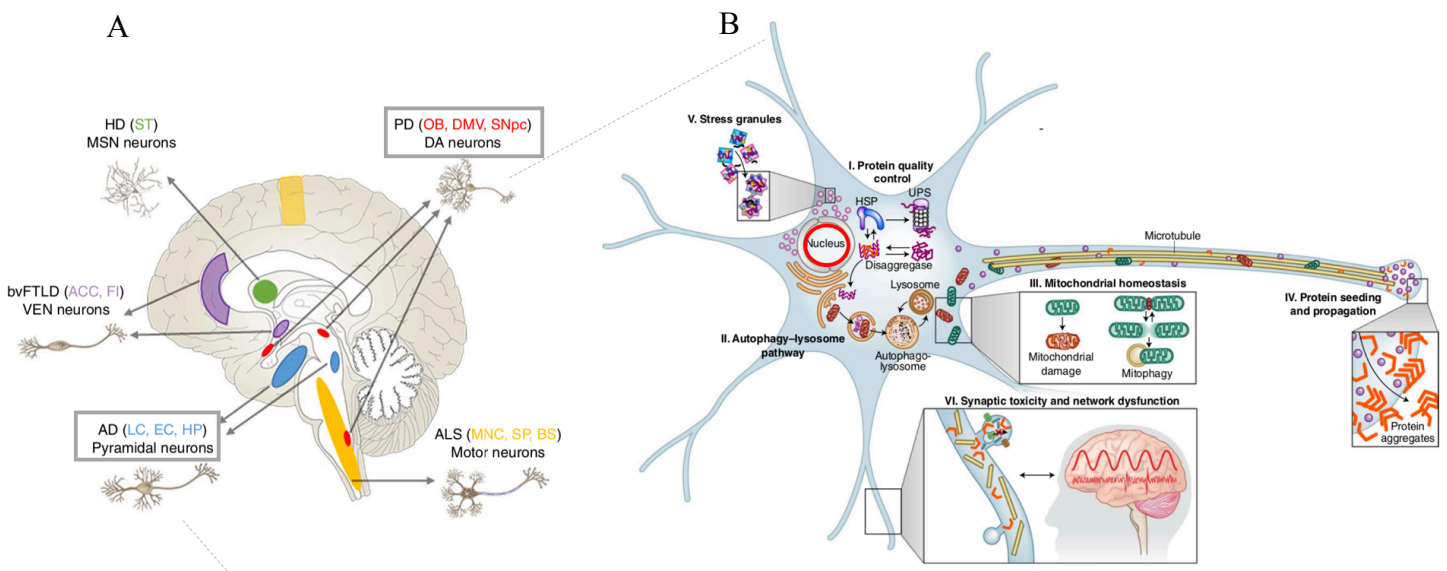
### 1. Introduction des maladies neurodégénératives

Les MN se traduisent par une altération du fonctionnement, voire la perte des cellules neuronales et affectent de façon progressive et souvent irréversible le système nerveux central ou périphérique. Elles peuvent être définies par les manifestations cliniques qui leurs sont associées, par les régions cérébrales et les types cellulaires atteints et enfin par les protéines impliquées dans leur pathogénicité (Kovacs and Budka, 2010). Du fait du vieillissement de la population dans les sociétés occidentales, les maladies neurodégénératives (MN) liées à l'âge prennent de plus en plus d'ampleur et sont devenues une importante préoccupation pour la santé publique. Malgré de nombreuses années de recherche et d'essais cliniques sur les troubles neurodégénératifs, la cause de la perte progressive des neurones dans ces maladies reste incertaine, les bases génétiques et les mécanismes moléculaires et cellulaires ne sont pas encore complètement élucidés et les traitements pharmacologiques utilisés actuellement visent à traiter uniquement les symptômes plutôt qu'à prévenir ou stopper la neurodégénérescence (Van Bulck et al., 2019).

Contrairement aux autres cellules du système nerveux, les neurones ne se divisent pas et doivent faire face à des défis supplémentaires, notamment un besoin de niveaux élevés d'énergie, faire face à un taux métabolique élevé, le maintien du contrôle qualité des protéines, le trafic d'organites et d'autres facteurs à des distances considérables à l'intérieur de la cellule. L'altération de ces fonctions vitales peut causer la mort neuronale.

La plupart de ces maladies sont liées à l'accumulation pathologique, dans le tissu nerveux, de protéines mal-conformées et agrégées. Les plus fréquentes sont la maladie d'Alzheimer (MA)

et la maladie de Parkinson (MP). À ce jour, malgré l'augmentation des connaissances sur la nature fondamentale de ces maladies, les mécanismes associés à la pathogenèse de ces troubles neurodégénératifs restent encore incertains. Bien que les MN soient cliniquement différentes et affectent des régions cérébrales distinctes, ces maladies peuvent présenter des traits communs au niveau neuropathologique, génétique et moléculaire qui peuvent s'appuyer sur des anomalies anatomiques cellulaires ou moléculaires de même nature. Une revue récente (Gan et al., 2018) a résumé ces voies communes (**Figure 1**) qui comprennent : le contrôle qualité des protéines (par exemple les protéines cytosoliques ou nucléaires agrégées), la voie d'autophagie-lysosome, l'homéostasie mitochondriale, la propagation des protéines, la propagation des granules de stress, la toxicité synaptique et le dysfonctionnement de connectivité neuronale. L'altération de ces voies neuronales communes peut induire l'initiation et/ou la progression de la neurodégénérescence.



**Figure 1 : Régions cérébrales primaires affectées dans les MN et les caractéristiques pathologiques communes qu'elles partagent (Fu et al., 2018 ; Gan et al., 2018).**

(A) Régions cérébrales primaires affectées dans les principales MN. Les manifestations cliniques sont rattachées à la dégénérescence de différentes régions cérébrales, dans lesquelles

des cellules neuronales spécifiques se détériorent progressivement. (B) Voies neuronales communes altérées dans les MN, notamment le contrôle de la qualité des protéines, la voie d'autophagie-lysosome, l'homéostasie des mitochondries, le trafic intercellulaire des protéines et des granules de stress, la toxicité synaptique et le dysfonctionnement du réseau neuronal.

La MA est une maladie neurodégénérative liée à l'âge qui conduit à la démence et touche environ 10 % de la population âgée de plus de 65 ans (Rocca et al., 1991). La MA représente un problème de santé publique majeur où elle touche 1 Million de personnes en France et représente 70 % des cas démences chez les personnes âgées. La perte de mémoire est le premier signe de déficience cognitive, suivie par l'aphasie, l'agnosie, l'apraxie et des troubles du comportement. Les deux principaux types de lésions cérébrales associées à la MA sont les plaques séniles et les enchevêtrements neurofibrillaires (Armstrong, 2009; Chui et al., 1993). Les plaques séniles résultent de l'accumulation extracellulaire d'un peptide appelé A $\beta$  dans des dépôts amyloïdes. L'A $\beta$  dérive d'un précurseur, la protéine précurseur  $\beta$ -amyloïde (APP). Dans les formes de MA familiales, des mutations ont été trouvées sur le gène APP (Wilson et al., 1999). Les plaques séniles sont distribuées de manière diffuse et variable dans le cortex cérébral et dans les structures sous-corticales. La MA fait également partie du groupe des tauopathies, qui se caractérisent par la présence d'agrégats neuronaux intracellulaires d'une protéine associée aux microtubules (microtubules protein-associated MAP), Tau (Weingarten et al., 1975 ; Buée et al., 2000). La protéine Tau est principalement exprimée dans les axones et les dendrites des neurones du système nerveux central (Binder et al., 1985) où elle joue un rôle important dans l'assemblage et la stabilité des monomères de tubuline en microtubules neuronaux (Cleveland et al., 1977). Dans les conditions pathologiques, notamment dans la MA, l'hyper-phosphorylation de la protéine Tau cause l'altération de sa fonction et conduit à son agrégation intracellulaire, qui se manifeste par des enchevêtrements neurofibrillaires

(Brion et al., 2001). Le dysfonctionnement de la protéine Tau, provoqué par son hyperphosphorylation, est l'un des principaux facteurs qui participent de la neurotoxicité associée aux tauopathies (Nelson et al., 2012). Dans les tauopathies, et de manière similaire à d'autres protéinopathies, les agrégats ou les oligomères de Tau se propagent le long des circuits neuronaux par un mécanisme de transmission de cellule à cellule de type prion (Dujardin and Hyman, 2019; Gibbons et al., 2019), et le taux de déclin cognitif est étroitement lié au taux de formation des agrégats Tau (de Calignon et al., 2012). En fonction de la topographie des lésions neurofibrillaires, il a été mis en place six stades de propagation de la maladie dits stades Braak (Braak and Braak, 1995), qui sont universellement utilisés pour évaluer la gravité pathologique en corrélation avec la progression de la maladie (Braak and Braak, 1995; Clavaguera et al., 2009; de Calignon et al., 2012).

La MP touche 150 000 personnes en France soit 6 à 7 fois moins fréquente que la MA. La MP est un trouble neurologique qui se traduit par la dégénérescence sélective et progressive des neurones dopaminergiques au niveau de la *substantia nigra pars compacta* (SNpc) du cerveau et par un déficit en dopamine au niveau du striatum qui s'ensuit. Très complexe, cette maladie neurologique chronique se caractérise par des symptômes moteurs associés à la présence des corps de Lewy et la perte progressive des neurones dopaminergiques de la SNpc (Poewe et al., 2017). Elle touche à la fois les sphères motrices, cognitives et psychiques. Au niveau clinique, la MP se caractérise essentiellement par trois symptômes moteurs qui constituent la triade parkinsonienne : l'akinésie, le tremblement au repos et la rigidité des membres (Poewe et al., 2017). Parmi les traits neuropathologiques communs aux patients atteints de la MP, on trouve la perte sélective des neurones dopaminergiques du mésencéphale (mDA). Leur dégénérescence contribue à la baisse de la dopamine dans le striatum et provoque un déséquilibre dans le circuit des ganglions de la base qui mène à l'émergence des symptômes moteurs caractéristiques (Dickson et al., 2009). Bien

que les mDA couvrent uniquement <1% des neurones du cerveau, ils sont impliqués dans une variété de fonctions clés du système nerveux central, incluant le mouvement volontaire, les processus affectifs, la récompense, l'attention, la motivation, la mémoire de travail et l'apprentissage (Poewe et al., 2017). Cependant, les propriétés uniques des mDA peuvent contribuer à leur vulnérabilité. En effet, chaque mDA humain contient jusqu'à un million de terminaisons axonales, dont beaucoup se trouvent à une grande distance du soma, ce qui représente un réel défi pour maintenir l'homéostasie cellulaire (Pissadaki and Bolam, 2013). L'arborisation axonale des mDA, étant parmi les plus développées dans le cerveau, peut être associée à une activité mitochondriale élevée productrice, certes d'ATP, mais aussi de radicaux libres (Pacelli et al., 2015). En outre, les neurones dopaminergiques nigraux subissent un stress oxydatif continu en raison de la nature instable de leur neurotransmetteur, la dopamine (Maker et al., 1981), dont les effets néfastes sont encore renforcés par des concentrations élevées en fer dans la *substantia nigra* (Zecca et al., 2004). Le dysfonctionnement mitochondrial et le stress oxydatif ont souvent été associés à la pathogenèse de la MP sporadique et familiale (Abou-Sleiman et al., 2006; Ryan et al., 2015). En effet, il a été démontré que dans la *substantia nigra* de patients atteints de la MP sporadique, l'activité du complexe I mitochondrial était diminuée conduisant à l'augmentation des dommages oxydatifs (Schapira et al., 1990). Concernant les formes familiales de la MP, les mutations des gènes PARK2, PARK6 et PARK7, impliqués dans la protection de la cellule contre le stress oxydatif et les dysfonctionnements mitochondriaux, sont à l'origine de la MP familiale récessive, les mutations de PARK2 étant les plus fréquentes (Abou-Sleiman et al., 2006). Les formes familiales représentent uniquement 5-10%, la grande majorité des cas de MA étant sporadiques, sans cause connue.

Il est aujourd'hui essentiel de mieux comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine de la neurodégénérescence afin de développer des nouvelles stratégies diagnostiques

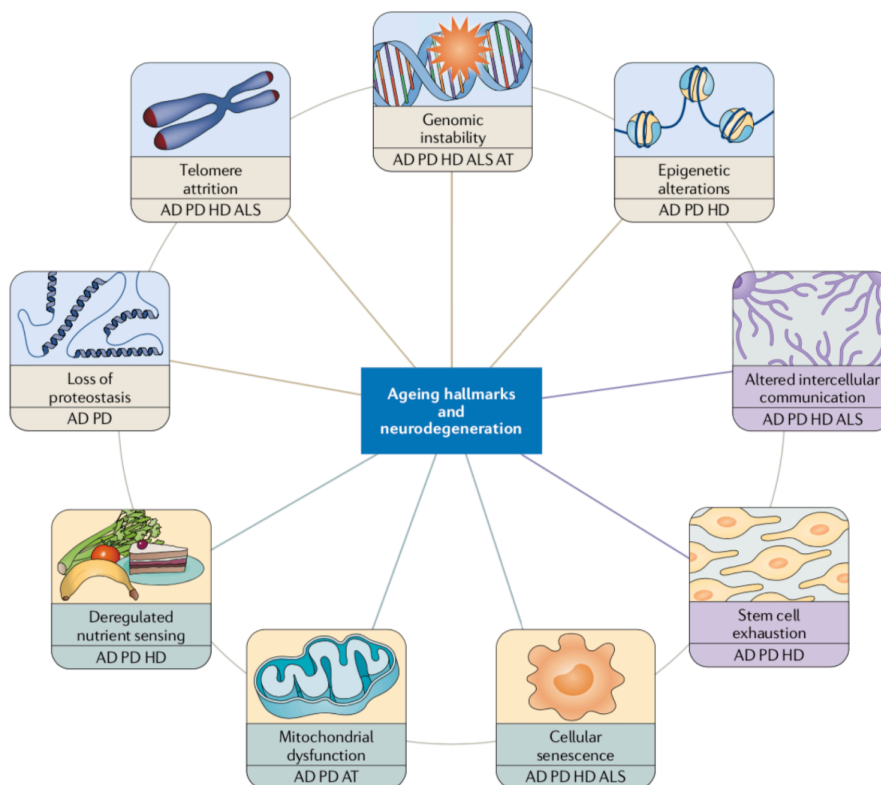
et thérapeutiques plus précoces et plus efficaces. Les causes exactes de l'apparition et de la progression de la neurodégénérescence dans la MP et la MA sont encore incertaines. Néanmoins, ce serait favorisé par différents facteurs dont : des facteurs génétiques et environnementaux (tels que : l'exposition à certaines neurotoxines, les pesticides ou aux métaux lourds) qui provoquent des dysfonctionnements neuronaux favorisant la dégénérescence (Koller et al., 1990; Ullah et al., 2021). Cependant, l'âge reste un élément corrélé avec la survenue de la MP et de la MA (Drachman, 2006; Reeve et al., 2014). En effet, la fréquence d'apparition de la MP augmente exponentiellement avec l'âge pour atteindre un pic à 80 ans (Driver et al., 2009) tandis que l'incidence de la MA augmente après 65 ans et explose après 80 ans (Hebert et al., 2001). Il en est de même pour d'autres MN liées à l'âge comme la sclérose latérale amyotrophique (SLA), l'atrophie multi-systémique (MS), la maladie à corps de Lewy, et la démence frontotemporale (FTD) (Hou et al., 2019; Kritsilis et al., 2018).

## **2. Comment expliquer la corrélation entre les MN et l'âge ?**

À ce jour, malgré l'augmentation considérable des connaissances sur la nature fondamentale des MN, la manière dont le vieillissement et les MN pourraient être liés au niveau moléculaire reste inconnue. Le vieillissement est l'un des problèmes les plus difficiles à résoudre en biologie et en médecine. Le vieillissement se définit par la perte progressive de l'homéostasie cellulaire, conduisant à l'altération des fonctions vitales de l'organisme. L'accumulation des dommages cellulaires au cours du temps est considérée comme la cause principale du vieillissement (Gems and Partridge, 2013). La compréhension des mécanismes sous-jacents qui favorisent le vieillissement est nécessaire pour élucider leurs liens avec les MN liées à l'âge. En effet, de nombreuses voies moléculaires et mécanismes associés au vieillissement

sont également impliqués dans les MN telles que la MA et la MP (López-Otín et al., 2013). Hou et al., ont proposé dans une revue (Hou et al., 2019) que la survenue des MN est associée avec neuf caractéristiques biologiques du vieillissement (**Figure 2**) dont : l'instabilité génomique (Blaudin de Thé et al., 2018; Madabhushi et al., 2014), l'attrition des télomères (Eitan et al., 2014), les dérégulations épigénétiques (Berson et al., 2018), la perte de protéostase (Sin and Nollen, 2015), le dysfonctionnement mitochondrial (Gao et al., 2017), la sénescence cellulaire (Kritsilis et al., 2018), la dérégulation des capacités olfactives et gustatives rendant difficile la discrimination des nutriments, l'épuisement des cellules souches et l'altération de la communication intercellulaire (Iturria-Medina and Evans, 2015). Cependant, il reste à établir comment le vieillissement et la neurodégénérescence sont liés au niveau moléculaire et l'interface entre le processus de vieillissement et l'apparition de ce type d'affections.





**Figure 2 : Les neuf caractéristiques du vieillissement (Hou et al., 2019).**

Le schéma ci-dessus présente 9 caractéristiques contribuant au processus de vieillissement : l'instabilité génomique, l'attrition des télomères, les altérations épigénétiques, la perte de la protéostase, la dérégulation de la dérégulation des capacités olfactives et gustatives, le dysfonctionnement mitochondrial, la sénescence, l'épuisement des cellules souches et l'altération de la communication intercellulaire. Ensemble, ces caractéristiques contribuent au phénotype du vieillissement.

### 3. Mécanismes pathogéniques

Il est important de noter que malgré les multiples recherches sur les voies des protéines agrégées, on ignore encore si les plaques séniles et les enchevêtrements neurofibrillaires sont la cause de la maladie ou la conséquence d'événements inconnus survenus en amont et/ou en parallèle. Il est probable que plusieurs mécanismes pathogéniques agissent en synergie au sein du même neurone. Pendant très longtemps, la recherche dans le domaine de la

neurodégénérescence s'est concentrée sur les événements d'agrégation de protéines et d'autres événements ayant lieu dans le cytoplasme. Cependant ces dernières années, de plus en plus d'études se sont intéressées aux altérations nucléaires des neurones qui pourraient être impliqués dans la neurodégénérescence. Il s'agit par exemple de dommages structurels et moléculaires du noyau, la détérioration de l'architecture nucléaire, l'altération du transport nucléo-cytoplasmique des protéines et/ou des ARN, les modifications épigénétiques et les changements de l'expression des gènes. On ignore dans quelle mesure le ciblage de ces voies pourrait nous aider à développer des nouvelles stratégies thérapeutiques. Comme mentionné ci-dessus, certaines des caractéristiques du vieillissement sont également associées aux MN et certaines d'entre elles affectent le noyau. Citons par exemple, l'altération du trafic nucléocytoplasmique l'instabilité génomique et les modifications épigénétiques. En effet, il a été rapporté que les dommages à l'ADN dans les cellules neuronales peuvent contribuer à la pathogenèse de la MA (Brasnjevic et al., 2008; Moreira et al., 2008). Des souris transgéniques pour la protéine précurseur de l'amyloïde humaine (Suberbielle et al., 2013) présentent des dommages à l'ADN dans différentes régions du cerveau. Par ailleurs, l'altération du complexe de pore nucléaire et du transport nucléocytoplasmique (TNC) sont souvent impliquées dans la pathogenèse de certaines MN (Eftekharzadeh et al., 2018; Hachiya et al., 2021) car en raison de l'organisation cellulaire hautement polarisée des neurones, le trafic des facteurs de transcription et d'autres protéines fonctionnelles entre le cytoplasme et le noyau est très complexe ce qui les rend particulièrement sensibles aux altérations du transport nucléocytoplasmique. Les dérégulations épigénétiques ont aussi été associées à la physiopathologie de la MA (Gräff and Tsai, 2013). Par exemple, la désacétylation de certaines histones au niveau de résidus lysine spécifiques a été impliquée dans la neurodégénérescence (Abel and Zukin, 2008; Jia et al., 2016), l'acétylation de l'histone 3 (H3) est impliquée dans la MP (Kontopoulos et al., 2006) ou encore des modifications de H4K12ac (acétylation de la

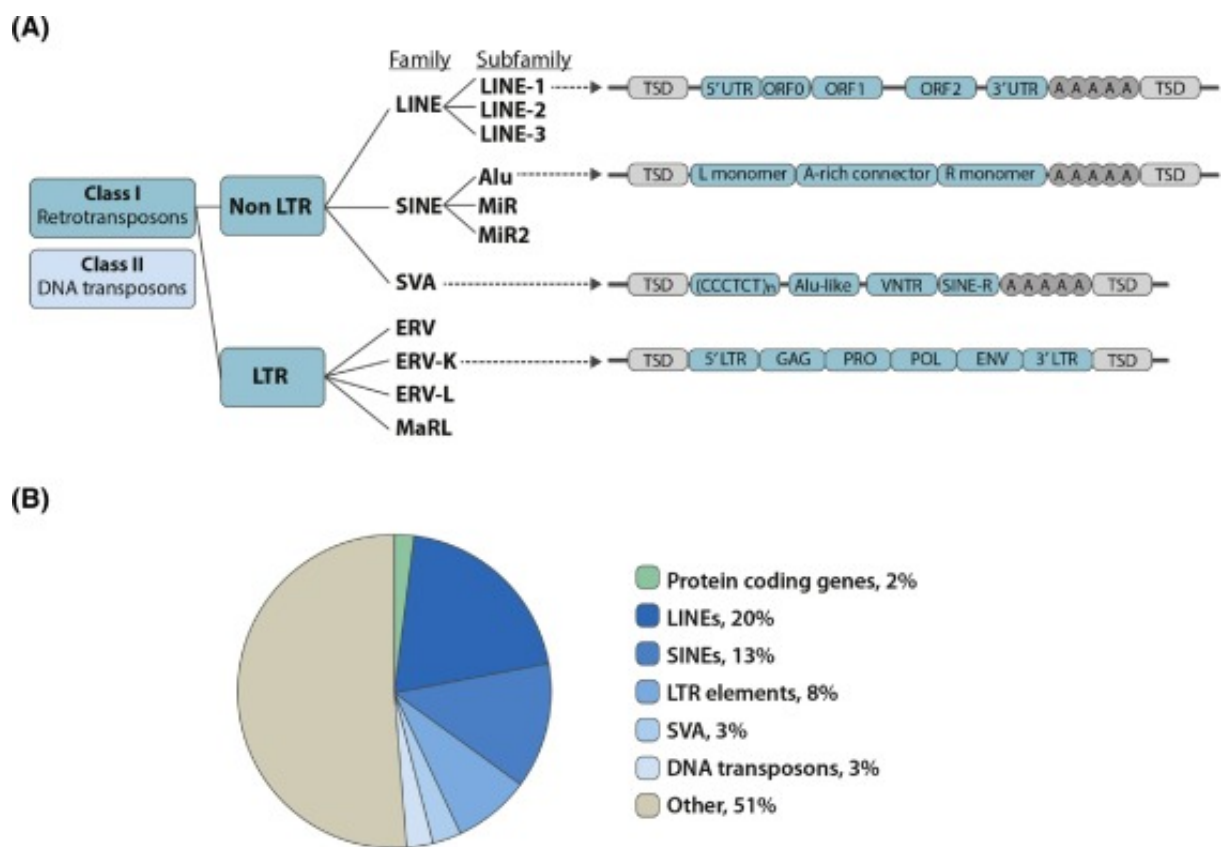
lysine 12 au niveau de l'histone 4) ont été associées aux variants génétiques de la MA (Nativio et al., 2018). Dans une autre étude de Janczura et al., (2018), sur des modèles murins de la MA, la modulation des niveaux d'acétylation en utilisant des inhibiteurs de HDAC3 (une histone désacétylase) a permis de réguler les niveaux de phosphorylation de Tau, de normaliser le taux de A $\beta$  et de restaurer les niveaux d'expression d'un groupe de gènes dérégulés dans la MA. Il est important de noter que l'une des conséquences des modifications épigénétiques est l'activation de certains gènes, normalement réprimés grâce à différents mécanismes moléculaires ou de modifications de la structure du génome. Parmi ces derniers, les éléments transposables (ET) occupent depuis peu une place d'intérêt. Les travaux récents menés par notre équipe (Blaudin de Thé et al., 2018; Peze-Heidsieck et al., 2022; Ravel-Godreuil et al., 2021; Rekaik et al., 2015) et ceux d'autres laboratoires (Casale et al., 2021; Li et al., 2012a; Sun et al., 2018) s'attachent à révéler et comprendre comment les ET pourraient être impliqués dans certaines circonstances à la pathogenèse de certaines neurodégénérescences et donc de certaines MN.

## II. Les éléments transposables, nouveaux acteurs dans les MN

### 1. Vue d'ensemble sur les éléments transposables

Découverts pour la première fois par Barbara McClintock dans le maïs à la fin des années 1940 (McClintock, 1950), les ET, ou "gènes sauteurs", sont des séquences d'ADN répétées qui peuvent se déplacer d'un endroit à un autre ou être répliqués en grand nombre dans le génome. Plusieurs années après cette découverte, on a déterminé grâce aux méthodes de séquençage des génomes que les ET couvrent environ 45% du génome humain (Lander et al., 2001) alors que les gènes codants pour des protéines ne représentent que 2 %. Le reste est composé d'introns et de diverses séquences uniques (**Figure 3**). Plusieurs nomenclatures ont

été proposées pour classer les ET (Finnegan, 1989; Wicker et al., 2007). Le premier système de classification (**Figure 3**) a été proposé par Finnegan : les ET sont classés en deux catégories en fonction du mécanisme qui leur permet de se déplacer dans le génome : via un intermédiaire ARN (classe I ou rétrotransposons) ou un intermédiaire ADN (classe II ou transposons à ADN) (Finnegan, 1989). Les rétrotransposons représentent la classe la plus importante dans le génome des mammifères.



**Figure 3 : Classification des éléments transposables (Jönsson et al., 2020).**

(A) Selon la classification de Wicker (Wicker et al., 2007), les ET sont classés hiérarchiquement en classes, sous-classes, familles et sous-familles. Il existe 2 grandes classes d'éléments transposables : la classe I qui sont mobiles grâce à un intermédiaire ARN tandis que la classe II utilisent un intermédiaire ADN. Les transposons à ADN codent pour une enzyme transposase. Les rétrotransposons peuvent être divisés en 2 sous-groupes : les rétrotransposons à longues répétitions terminales LTR (Long terminal repeats) et les rétrotransposons non LTR. Les rétrotransposons LTR et les rétrovirus ont des LTR flanquants

les gènes Gag, Pol et Env. Les rétrotransposons non LTR possèdent un ou deux cadres de lecture ouverts (ORF) adjacents à des régions non traduites et, dans certains cas, contiennent une queue poly(A). Les rétrotransposons et les transposons ADN peuvent aussi être classés selon leur capacité à se mobiliser de manière autonome ou non autonome. Les ET de la famille des LINE-1 sont les seuls parmi les rétrotransposons non LTR à être mobiles de manière autonome dans le génome humain. La séquence du LINE-1 contient deux cadres de lecture ouverts : ORF1 code pour une protéine ORF1p, de liaison à l'ARN et ORF2 code pour une protéine ORF2p, ayant des activités d'endonucléase et de transcriptase inverse. Les éléments Alu comprennent deux monomères divisés par un connecteur (riche en A) et une queue poly(A) dans le 3' UTR. Ils contiennent également deux promoteurs pour l'ARN polymérase III dans leur région 5'. SINE-VNTR-Alu (SVA) se compose de répétitions CCCTCT, d'un domaine de type Alu, d'un complexe VNTR, d'un domaine SINE-R et d'une queue poly(A). (B) Proportions des différents des ET dans le génome humain. TSD, Target site duplication : duplication des séquences au niveau du site d'insertion.

Les transposons à ADN, de classe II, se transposent selon le mode « couper-coller ». Ils contiennent un cadre de lecture ouvert (ORF) codant pour une protéine, la transposase et ils représentent uniquement 3% du génome humain (Lander et al., 2001). A ce jour aucun transposon ADN n'est actif chez l'homme. Les rétrotransposons, de classe I, sont divisés en deux types : les rétrotransposons LTR et les rétrotransposons non LTR, en fonction de la présence ou de l'absence du LTR à leurs extrémités. Ces éléments nécessitent une étape de transcription inverse pour s'intégrer dans l'ADN de la cellule hôte (Boeke and Corces, 1989). Les rétrotransposons LTR tels que les rétrovirus endogènes (ERV), proviennent des rétrovirus exogènes qui ont infecté la lignée germinale tout au long de l'évolution. Ils partagent des similitudes avec le génome des rétrovirus, comme la structure de l'ADN et le mécanisme de répllication. Ces éléments codent trois protéines Env, Gag et Pol. Cependant, aucun élément complet codant pour ces trois protéines n'a été identifié chez l'homme. Les rétrotransposons non LTR, peuvent être classés en éléments autonomes ou non autonomes. Les éléments

autonomes contiennent des séquences codantes pour des protéines nécessaires à leur mobilisation et leur déplacement dans le génome tandis que les autres ont besoin d'autres transposons pour être mobiles. Les rétrotransposons autonomes non LTR, incluent les LINE-1 « long interspersed nuclear elements », qui constituent la grande majorité des éléments transposables du génome humain. L'abondance des ET varie selon l'espèce. Par exemple, les éléments LINE et les SINE sont très abondants chez l'homme tandis que les LINE et les éléments LTR sont plus abondants chez la souris.

Au fil du temps, les ET ont accumulé des mutations et ont perdu leur capacité de mobilisation dans le génome (Lanciano and Cristofari, 2020). Par ailleurs, les ET qui n'ont pas accumulé de mutations pour perdre leur capacité à se transposer, qui sont les plus récents, peuvent se mobiliser activement dans le génome. Ces éléments sont considérés comme étant actifs dans le génome humain et appartiennent aux familles des rétrotransposons LINE-1.

Les progrès récents des technologies de séquençage de l'ADN, les analyses bio-informatiques et les études génomiques et fonctionnelles modernes ont permis de révéler que les ET anciennement considérés comme de l'ADN parasite ou indésirable (Calos and Miller, 1980), sont des moteurs de la variabilité génétique, car ils représentent une source d'évolution adaptative dans les génomes des mammifères (Fedoroff, 2012). Ils participent à l'hétérogénéité génétique, au mosaïcisme somatique et à la diversité cellulaire (Muotri et al., 2005; Rosser and An, 2012). Par exemple les rétrotransposons LINE-1 sont impliqués dans le mosaïcisme neuronal tout au long du développement embryonnaire (Thomas et al., 2012) ou encore au cours de l'embryogenèse précoce des mammifères (Ergün et al., 2004) ainsi que dans le mosaïcisme germinale et somatique (Rosser and An, 2012). De plus en plus de preuves montrent que les ET sont actifs pendant la neurogenèse, et leur mobilisation a été détectée dans différentes régions du cerveau, donnant lieu à un mosaïcisme (Muotri et al., 2005). Ces éléments pourraient ainsi jouer un rôle important dans la diversité génomique neuronale en

généralisant des variations entre les neurones d'un même individu et avoir un rôle primordial dans l'innovation génomique. Les ET participent aussi à la plasticité du génome en régulant l'expression des gènes et en étant impliqués dans les régulations épigénétiques (Guichard et al., 2018; Slotkin and Martienssen, 2007). Mais la question de savoir si cette variabilité génétique contribue à la détermination fonctionnelle spécifique des cellules ou à la maladie reste encore controversée.

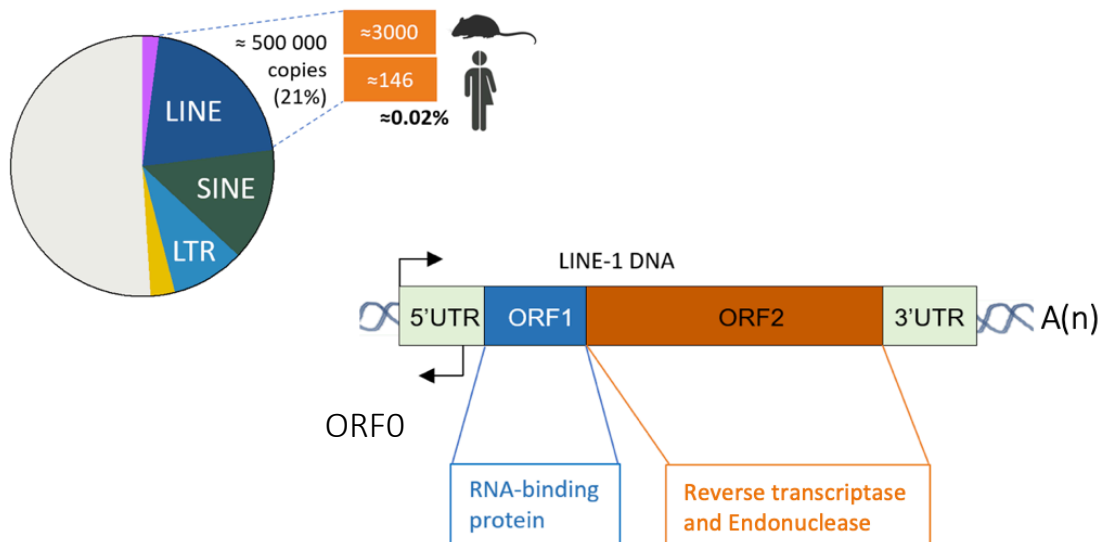
Malgré leurs implications dans ces processus biologiques au sein des génomes des mammifères, les ET peuvent représenter dans certaines circonstances une menace pour l'intégrité des génomes et peuvent compromettre leur stabilité (Slotkin and Martienssen, 2007) en raison de leur potentiel mutagène et leur capacité à induire l'instabilité génomique.

## **2. Rétrotransposons LINE-1**

Bien que la plupart des ET ont perdu leur capacité à se mobiliser dans le génome et sont considérés comme « fossilisés » ou inactifs en raison de diverses mutations ou de réarrangements ou troncatures (Brouha et al., 2003; Faulkner et al., 2009), certains demeurent toujours actifs de façon autonome, compétents pour la rétrotransposition et peuvent constituer une menace pour la stabilité du génome. Parmi ces éléments, l'un des rétrotransposons les plus actifs est le LINE-1 (Long Interspersed Nuclear Element-1) qui couvre 17% du patrimoine génétique humain (Waterston et al., 2002). Le génome humain comporte environ 500 000 copies des rétrotransposons LINE-1 (Lander et al., 2001). Un élément LINE-1 humain actif complet fait une longueur de 6 kb. Sa séquence comprend une région non traduite 5'UTR qui fonctionne comme un promoteur interne, deux cadres de lecture ouverts (ORF1 et ORF2) et une région 3'UTR qui se termine par un signal de polyadénylation poly(A). Bien qu'il semble que de nombreuses insertions LINE-1 soient produites, la majorité

des LINE-1 sont tronqués au niveau de la région 5'UTR (Goodier and Kazazian, 2008). Cette troncature rend le LINE-1 incapable de transcription autonome et donc inactif ce qui réduit considérablement le nombre d'éléments actifs dans le génome. Néanmoins, selon une base d'annotation des LINE-1 (L1Basev2) (Penzkofer et al., 2017), 146 éléments LINE-1 sont intacts dans le génome humain (LINE-1 L1HS spécifique à l'homme) et ont ainsi conservé leur capacité de codage et peuvent potentiellement se rétrotransposer de manière autonome. Chez la souris, le nombre d'éléments LINE-1 actifs (familles L1Md-Tf, -A et -Gf) est beaucoup plus élevé (environ 3000). En outre, les éléments LINE-1 peuvent également rétrotransposer les ARN d'autres éléments non autonomes comme les éléments Alu appartenant à la famille des SINE (Short Interspersed Nuclear Element) et les SVA (SINE/VNTR/Alu) vers de nouvelles localisations génomiques par l'intermédiaire d'une transcriptase inverse. Ces éléments sont capables de se mobiliser uniquement à l'aide de la machinerie enzymatique codée par le LINE-1 (Dewannieux et al., 2003; Hancks et al., 2011). Les éléments LINE-1 peuvent aussi rétrotransposer des ARNm cellulaires, ce qui peut entraîner la formation de pseudogènes.





**Figure 4 : Structure de LINE-1 chez l'homme, sa taille, le nombre de copies et le pourcentage qu'il couvre dans le génome.**

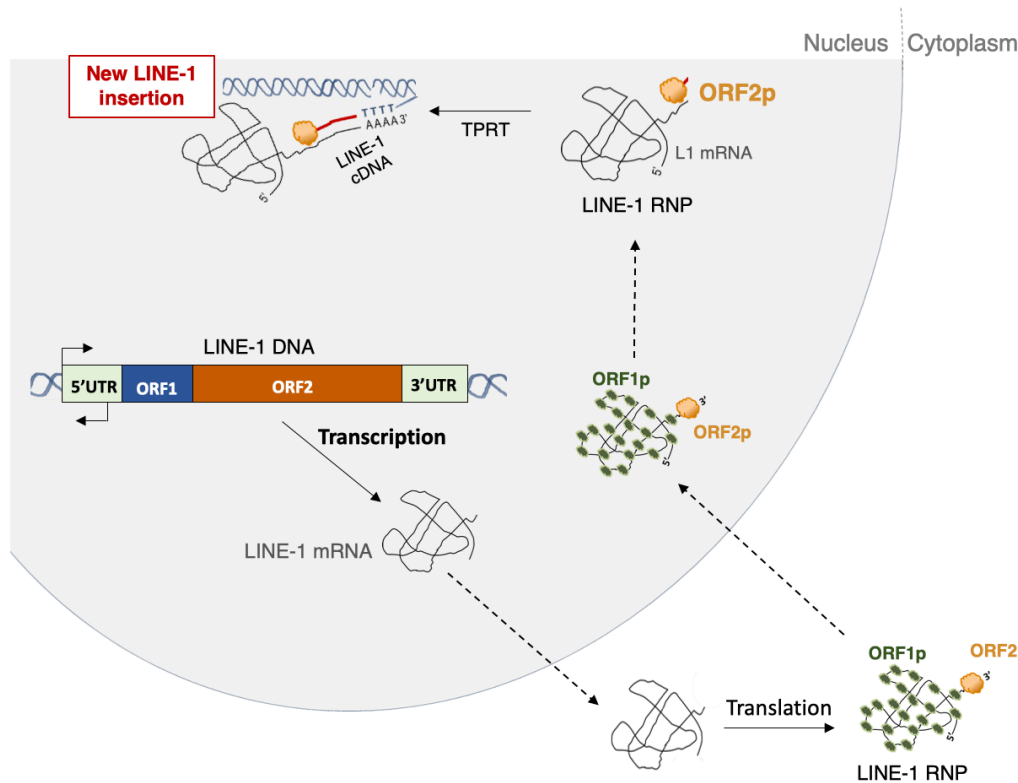
La famille des LINE-1 est l'une des principales classes de rétrotransposons et constitue environ 17 % du génome humain. Un LINE-1 humain complet et actif fait une longueur de 6 kb. La structure de l'élément LINE-1 complet est composée d'une région 5'UTR non traduite, un promoteur interne ainsi que deux cadres de lecture ouverts (ORF1 et ORF2), codant pour deux protéines ORF1p et ORF2p et une région 3'UTR qui se termine par un signal poly(A). L'ORF1p (~40 kDa) est une protéine de liaison chaperonne de l'ARN et ORF2p (~150 kDa) possède une double activité d'endonucléase et de transcriptase inverse. Dans l'orientation anti-sens, ORF0 code pour un peptide de 71 acides aminés.

L'élément LINE-1 code pour deux protéines nécessaires à sa mobilisation. L'une des protéines importantes pour sa rétrotransposition est la protéine ORF2p, ayant une masse moléculaire de 150 kDa, possédant une activité endonucléase (Feng et al., 1996) et transcriptase inverse (RT) (Dewannieux et al., 2003; Hancks and Kazazian, 2012; Mathias et al., 1991; Richardson et al., 2015). L'activité endonucléase est essentielle pour le clivage de l'ADN et la réintégration d'une nouvelle copie du LINE-1 dans le génome (rétrotransposition) (Alisch et al., 2006). La protéine ORF1p de ~40 kDa de masse moléculaire, est exprimée à

des niveaux beaucoup plus élevés que ORF2p (Dai et al., 2014). Bien que son rôle précis reste encore incertain, ORF1p est une protéine de liaison à l'ARN (activité chaperon d'acides nucléiques) (Khazina et al., 2011; Martin and Bushman, 2001) avec une forte préférence en *cis* pour l'ARN du LINE-1 (Martin, 2006) et peut se lier à d'autres ARN (y compris ceux d'autres ET comme les SINE). Le 5'UTR du LINE-1 est un promoteur bidirectionnel, qui permet une transcription anti-sens et la production d'un ARNm chimérique du LINE-1. La séquence de ORF0 est très courte et code pour un peptide de 71 acides aminés. Parmi les 146 éléments LINE-1 codants pour ORF1 et ORF2, il n'y a que 100 copies qui ont une ORF0 intact. ORF0 possède deux sites donneurs d'épissage, et pourrait s'associer à un exon (en aval) et produire une protéine de fusion, ce qui contribue à la diversité génique (Denli et al., 2015). La fonction de ORF0 n'est pas complètement connue mais il semble que ORF0 soit également impliquée dans la rétrotransposition du LINE-1. En effet, une étude a montré que la surexpression de ORF0 augmentait la fréquence de rétrotransposition de plus de 40 % (Denli et al., 2015). Par ailleurs, il a été montré que ORF0 pourrait coder pour un peptide qui favorise la prolifération cellulaire (Honda et al., 2020).

Dans la cellule, les LINE-1 fonctionnent via un mécanisme de « copier-coller » (**Figure 5**). Après la transcription de l'ARNm, celui-ci quitte le noyau vers le cytoplasme pour y être traduit. Les protéines ORF1p et ORF2p (encodées par le LINE-1) vont se lier avec leur ARNm, formant un complexe protéines-ARN ou ribonucléoprotéine particle (RNP) dans le cytoplasme. On pense que les particules RNP LINE-1 sont composées de nombreuses protéines de ORF1p, d'une protéine de ORF2p et d'un ARNm LINE-1 (1 ORF2p pour 240 protéines ORF1p par RNP LINE-1) (Basame et al., 2006; Dai et al., 2014). La RNP LINE-1 est transportée dans le noyau via un mécanisme non encore élucidé. Dans le noyau, ORF2p via son activité endonucléase, induit une cassure simple brin de l'ADN au niveau d'une séquence cible (5'-TT/AAAA-3'), créant une extrémité 3' hydroxyle (3'OH) qui sert d'amorce

pour la transcription inverse de l'ARNm du LINE-1 (*Target Primed Reverse Transcription, TPRT*) pour produire l'ADN complémentaire (ADNc). Cela se fait grâce à sa fonction de transcriptase inverse de ORF2p qui va synthétiser à partir de l'ARNm, une copie d'ADNc du LINE-1 qui sera insérée au site de la cassure (Bourque et al., 2018). Ces événements ont lieu dans le noyau, mais la question de comment la RNP LINE-1 accède au noyau reste controversée. En effet, le modèle actuel suggère que la RNP LINE-1 entre dans le noyau pendant la mitose, étape pendant laquelle la membrane nucléaire devient très fragilisée, et que l'intégration d'une nouvelle copie du LINE-1 se produit pendant la phase S du cycle cellulaire (Mita et al., 2018). Dans ce même modèle, il est suggéré qu'une fois dans le noyau, ORF1p se dissocie de la RNP et est exportée dans le cytoplasme tandis que ORF2p reste dans le noyau associé à son ARN LINE-1 pour la rétrotransposition. Ceci suggère que ORF1p n'est pas nécessaire pour le processus d'intégration dans le génome. A ce jour, aucune fonction de ORF1p autre que celle de liaison à l'ARN n'est formellement établie. Par ailleurs, indépendamment de la rétrotransposition, l'activité de la protéine ORF2p dans le génome peut avoir des effets délétères dans la cellule hôte.



**Figure 5 : Cycle de vie du LINE-1.**

(1) L'ARNm du LINE-1 est produit grâce au promoteur sens présent dans le 5'UTR. (2) L'ARNm du LINE-1 est transporté dans le cytoplasme avant sa traduction, Une fois que les deux protéines ORF1p et ORF2p sont produites, elles vont se lier à l'ARNm LINE-1 et forment une particule RNP par un processus appelé « cis-préférence ». (3) La RNP retourne au noyau (par un mécanisme encore inconnu). Une fois dans le noyau, ORF2p, grâce à son activité endonucléase, va induire une coupure au niveau de l'ADN, exposant un 3'OH libre qui sert d'amorce pour la transcription inverse de l'ARNm du LINE-1 pour produire le premier brin de l'ADN complémentaire (ADNc).

### 3. Mécanismes de répression des LINE-1 dans la cellule hôte

Bien que les ET soient les principaux moteurs de l'évolution du génome, ils représentent également une menace pour la stabilité du génome. Compte tenu des dommages potentiels qu'ils peuvent causer, il existe dans la cellule hôte plusieurs mécanismes moléculaires pour réprimer et maintenir sous contrôle ces éléments et lutter contre leurs effets délétères (Levin

and Moran, 2011). Ainsi, la majorité des ET sont réprimés sur le plan transcriptionnel dans la plupart des tissus adultes. Parmi les mécanismes de défense cellulaire les plus efficaces, on peut citer la répression transcriptionnelle via des mécanismes épigénétiques impliquant le compactage de la chromatine sous forme d'hétérochromatine et les méthylations de l'ADN.

Dans les cellules eucaryotes, l'information génétique stockée dans l'ADN se trouve dans une structure chromatinienne, le nucléosome. Celui-ci est composé de deux copies de chaque histone centrale, H2A, H2B, H3 et H4, enveloppées par environ deux tours d'ADN de 147bp (Luger and Hansen, 2005). Les histones sont soumises à des modifications post-traductionnelles (répressives ou activatrices) qui comprennent la méthylation, l'acétylation, la phosphorylation et l'ubiquitinylation (Kouzarides, 2007) qui affectent directement l'organisation de la chromatine. Certaines modifications d'histones notamment la méthylation de certaines de leurs lysines des histones détermine si la transcription est active ou réprimée en fonction du degré et des positions de méthylation (Black et al., 2012). Les méthylations sur certaines lysines de l'histone H3, H3K4, H3K36 et H3K79, sont considérées comme marqueurs d'une chromatine transcriptionnellement active, tandis que les méthylations H3K9, H3K27 et H4K20 sont associées à une chromatine réprimée (Black et al., 2012). Les mécanismes de répression sont apparus récemment comme un processus essentiel à la répression d'éléments qui à l'inverse peuvent avoir des conséquences néfastes pour la cellule. Parmi ces éléments, on cite les ET qui sont souvent conditionnés dans de l'hétérochromatine condensée (Pauler et al., 2009) et dont l'expression est réprimée via des modifications d'histones (Igolkina et al., 2019; Walter et al., 2016). Cette répression protège en première instance la cellule contre leurs effets génotoxiques qui seront discutés dans la partie suivante. Par exemple, les modifications d'histones répressives telle que la triméthylation de la lysine 9 sur l'histone H3 (H3K9me3), est une marque épigénétique caractéristique de l'hétérochromatine constitutive, qui est présente au niveau des régions 5'UTR des LINE-1

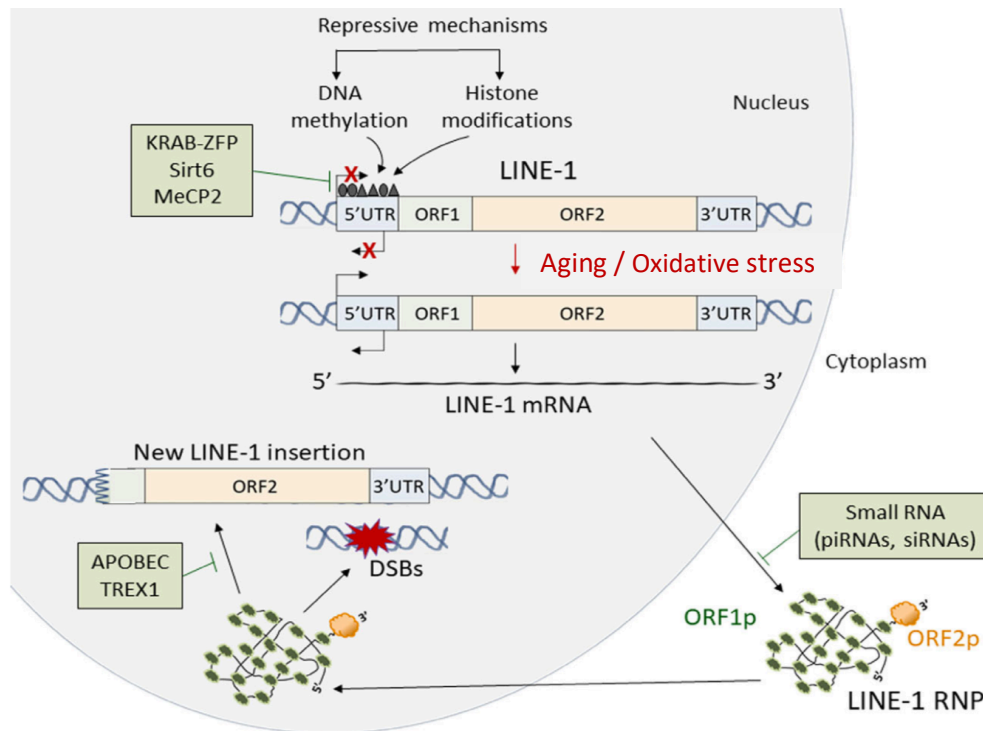
intacts et qui permet leur répression (Pezic et al., 2014). D'autres marques répressives sont caractéristiques de l'hétérochromatine facultative, telle que la triméthylation de la lysine 20 sur l'histone H4 (H4K20me3), qui sont également impliquée dans la répression des LINE-1 (Rangasamy, 2013; Ren et al., 2021). Les méthylations des lysines au niveau des histones sont accompagnées par la méthylation de l'ADN pour réguler l'expression des gènes. La méthylation de l'ADN est l'un des principaux mécanismes épigénétiques par lesquels les éléments répétitifs sont maintenus sous contrôle via la répression de leurs transcription (Deniz et al., 2019; Jansz, 2019; Sanchez-Luque et al., 2019). La méthylation influence directement l'expression des gènes par exemple en recrutant des facteurs de transcription qui inhibent l'expression des gènes. Elle se produit par l'ajout de groupes méthyles au niveau des cytosines des dinucléotides CpG (îlots CpG) pour former du 5 méthyl-cytosine (5mC). La majorité des cytosines méthylées dans l'ADN génomique humain se trouvent dans des séquences répétées (Yoder et al., 1997). La région promotrice du LINE-1 localisée dans la séquence 5'UTR est riche en îlots CpG. Chez les mammifères, certaines protéines possèdent un domaine de liaison aux méthyl-CpG et participent aux mécanismes de répression géniques telle que la protéine MeCP2 (methyl-CpG binding protein) qui est impliquée dans la méthylation de l'ADN, et l'inhibition des LINE-1 qui module ainsi leur rétrotransposition (Muotri et al., 2010) (**Figure 6**). Plusieurs études ont montré que la méthylation de l'ADN LINE-1 permet de réprimer son expression dans la cellule (Coufal et al., 2009). Dans les cellules somatiques, la plupart des îlots CpG du promoteur LINE-1 sont méthylés, la perte de cette méthylation conduit à l'augmentation de l'expression de LINE-1 (Lavie et al., 2005). L'hypométhylation de l'ADN au cours des premiers jours du développement embryonnaire, est rétablie quelques jours après, entraînant la répression des ET médiée par la marque répressive d'histone H3K9me3 (Matsui et al., 2010). À l'âge adulte les ET sont maintenus réprimés via les mécanismes de méthylation de l'ADN (Rowe et al., 2013). Il a été rapporté que l'ADN méthyltransférase 1

(DNMT1) reconnaît spécifiquement H4K20me3 au niveau de l'hétérochromatine (grâce au domaine régulateur BAH1), ce qui assure l'engagement de DNMT1 au niveau de la région 5'UTR du LINE-1 et la méthylation de son ADN (Ren et al., 2021). En outre, l'épissage est aussi impliqué dans la répression des LINE-1 dans les cellules somatiques en générant des transcrits LINE-1 non fonctionnels (Belancio et al., 2006). Il existe également une voie de régulation post-transcriptionnelle des LINE-1 (Pizarro and Cristofari, 2016) qui implique des acteurs protéiques intervenant dans la synthèse ou la réparation de l'ADN, le traitement de l'ARN et/ou la formation des RNP. Les voies des petits ARN tels que les siARN ou les piARN (**Figure 6**), constituent également une barrière pour contrer l'activation incontrôlée des ET (Hyun, 2017). Les piARN (**Figure 6**) sont des petits ARN qui interagissent avec les protéines Piwi (Castañeda et al., 2011; Iwasaki et al., 2015; Ozata et al., 2019). Ils ciblent les transcrits LINE-1 et renforcent leur méthylation (Aravin et al., 2008) mais servent également de guides pour la dégradation de leurs transcrits (Siomi et al., 2011). Dans le cerveau de drosophile, les piARN sont impliqués dans la répression post-transcriptionnelle de ET (la famille des HERV) et la perturbation de cette voie de répression entraîne une dérégulation des ET et des conséquences pathologiques associées aux tauopathies (Sun et al., 2018). Les protéines à doigts de zinc (ZNF) de la boîte associée Krüppel (KRAB) nommées KRAB-ZFP sont également impliquées dans la répression des rétrotransposons (Fukuda et al., 2022; Yang et al., 2017). En effet, il a été rapporté que ces protéines limitent la rétrotransposition dans les cellules humaines (Goodier et al., 2015). Pour certains LINE-1, notamment les plus anciens, la liaison de l'histone méthylée H3K9me3 est médiée par la liaison des protéines KRAB-ZFP et leur cofacteur KAP1 (KRAB-associated protein 1) à l'ADN en favorisant le recrutement de la méthyltransférase SETDB1 pour la répression transcriptionnelle des LINE-1 (Castro-Diaz et al., 2014). D'autres protéines clés sont aussi impliquées dans l'inhibition des LINE-1, par exemple TREX1 (**Figure 6**). Il a été démontré que la perte de fonction de cette enzyme

conduit à la dé-répression des LINE-1 (Stetson et al., 2008). SIRT6, un membre de la famille des sirtuines, est un autre régulateur impliqué dans la répression des promoteurs des LINE-1 (**Figure 6**). La protéine SIRT6 (ayant une activité mono-ADP-ribosyle) induit le compactage de l'ADN LINE-1 dans une hétérochromatine transcriptionnellement silencieuse en favorisant la formation de son complexe avec la protéine de l'hétérochromatine 1 (HP1) (Van Meter et al., 2014). SIRT7, un autre membre de la famille des sirtuines ayant une activité désacétylase NAD-dépendante, participe également à la répression transcriptionnelle des LINE-1 dans les cellules humaines et de souris en agissant sur l'organisation de la chromatine. Elle permet l'ancrage des LINE-1 à l'enveloppe nucléaire au niveau des domaines associés aux lamines LAD (lamin-associated domains) riches en hétérochromatine, qui sont des compartiments nucléaires de répression transcriptionnelle. La déplétion de SIRT7 entraîne une augmentation de l'expression et de la rétrotransposition des LINE-1 dans les cellules humaines et de souris (Vazquez et al., 2019).

Malgré l'efficacité de ces mécanismes de la répression de l'expression des ET, les génomes eucaryotes, y compris ceux de l'humain, hébergent encore des ET actifs (Beck et al., 2011). Grâce à leurs capacités de résistance et d'adaptation, ces éléments arrivent à échapper à la répression. Par exemple, il a été rapporté que certains ET subissent des mutations suivies de la suppression des sites de liaison des protéines à doigt de zinc dans les séquences régulatrices des ET cibles ce qui empêche leur répression (Bruno et al., 2019; Cosby et al., 2019). De plus, avec l'âge et/ou la pathologie et/ou le stress oxydatif, les mécanismes de répression des ET peuvent devenir défaillants et perdre leur efficacité induisant la dé-répression de certains ET notamment les LINE-1 (De Cecco et al., 2013; St. Laurent et al., 2010; Van Meter et al., 2014). L'activation incontrôlée des LINE-1 dans la cellule hôte peut avoir plusieurs conséquences délétères telles que les dommages à l'ADN, l'apparition de nouvelles insertions toutes deux sources potentielles d'instabilité génomique (**Figure 6**).





**Figure 6 : Mécanismes de répression des LINE-1 (Peze-Heidsieck et al., 2022).**

La cellule hôte possède une série de mécanismes de répression des LINE-1. Ces mécanismes comprennent : les modifications d'histones, la méthylation de l'ADN, la voie des petits ARN, la voie des protéines à doigts de zinc, et l'intervention de protéines régulatrices telles que TREX1 et SIRT6. L'affaiblissement des mécanismes de répression avec le vieillissement et/ou le stress oxydatif peut entraîner une activation incontrôlée des LINE-1 ce qui pourrait conduire aux lésions de l'ADN, des insertions et une instabilité génomique.

#### 4. Dé-répression des éléments transposables dans les contextes de neuro-dégénérescence et de troubles neurologiques

Jusqu'à récemment, on pensait que les éléments LINE-1 actifs, capables de rétrotransposition étaient principalement exprimés dans les cellules germinales, mais les études récentes ont permis de démontrer la présence des LINE-1 actifs ainsi que des insertions dans les tissus somatiques, en particulier dans le cerveau humain et dans des neurones en culture (Baillie et al., 2011; Coufal et al., 2009; Evrony et al., 2012; Muotri et al., 2005). Les LINE-1 sont exprimés dans le système nerveux (Thomas et al., 2012), notamment dans l'hippocampe

humain montré par qPCR multiplexe (Coufal et al., 2009) et peuvent se rétrotransposer dans les précurseurs neuronaux dérivés des cellules souches neuronales de l'hippocampe (Muotri et al., 2010, 2005). Cela suggère que cette expression basale des LINE-1 pourrait jouer un rôle important dans la diversité génomique neuronale. Des travaux antérieurs au sein de notre laboratoire ont également montré la présence d'une expression basale des LINE-1 dans les neurones dopaminergiques de souris adultes (Blaudin de Thé et al., 2018; Rekaik et al., 2015).

Bien qu'ils constituent au moins la moitié du génome humain, l'action des ET dans le cerveau n'est pas complètement établie. Néanmoins, les progrès récents des technologies de séquençage et les données provenant à la fois de modèles de souris, de modèles de culture cellulaire humaine et de tissus post-mortem humains ont permis de montrer que les ET peuvent affecter le cerveau humain (Suarez et al., 2018) et qu'une expression accrue de ces éléments dans le cerveau est associée au vieillissement (Li et al., 2013) et à un certain nombre de MN (Blaudin de Thé et al., 2018; Bollati et al., 2011; Douville et al., 2011; Guo et al., 2018; Li et al., 2015; Peze-Heidsieck et al., 2022; Ravel-Godreuil et al., 2020; Sun et al., 2018; Tam et al., 2019) ainsi qu'à un ensemble de troubles neurologiques (Coufal et al., 2011; Douville et al., 2011; Hancks and Kazazian, 2012; Muotri et al., 2010; Reilly et al., 2013) comme détaillés dans le **Tableau 1**. Par exemple, l'activation des rétrotransposons LINE-1 a été rapportée dans le syndrome de Rett (Muotri et al., 2010), l'ataxie télangiectasique (Coufal et al., 2011), la MP (Blaudin de Thé et al., 2018) et la MA (Bollati et al., 2011), l'activation des rétrovirus endogènes humains (HERV) associée à la SLA (Douville et al., 2011; Li et al., 2015), à la sclérose en plaques (Morandi et al., 2017), la MA (Guo et al., 2018) et aux tauopathies (Sun et al., 2018), l'implication des éléments Alu dans la MA (Larsen et al., 2017) et dans la MP (Billingsley et al., 2019) ainsi que dans la SLA (Prudencio et al., 2017).

**Tableau 1.** Exemples de maladies neurodégénératives et troubles neurologiques associés à l'activation des éléments transposables.

ET	Pathologies	Action des ET	Références
Alu	Maladie d'Alzheimer	La présence d'AluY et d'AluSx peut induire une délétion génomique et entraîner un dysfonctionnement transcriptionnel chez les patients.	(Larsen et al., 2017)
	Sclérose latérale amyotrophique /dégénérescence frontotemporale	Dérégulation des transcrits Alu (AluYk12 et AluYa5) chez les patients.	(Prudencio et al., 2017)
	Maladie de Parkinson	Chez les patients, la délétion de l'exon 10 est induite par la recombinaison homologue médiée par AluSx.	(Morais et al., 2016)
HERV	Sclérose en plaques	Association des HERV-H, HERV-K, et HERV-15 à la sclérose en plaques.	(Morandi et al., 2017)
	Trouble du spectre autistique	Les HERV-H sont significativement surexprimés dans les cellules mononucléaires du sang périphérique des patients.	(Balestrieri et al., 2012)
	Sclérose latérale amyotrophique	HERV-K pourrait contribuer à la neurodégénérescence en raison des effets toxiques de la protéine d'enveloppe (Env).	(Li et al., 2015; Mayer et al., 2018)
SVA	Dystonie-parkinsonisme lié au chromosome X	Intégration du SVA dans la région intronique causant une diminution de l'expression du gène TAF1.	(Aneichyk et al., 2018)

LINE-1	Schizophrénie	Les insertions LINE-1 sont localisées préférentiellement au niveau des gènes liés à la schizophrénie et pourraient contribuer à la susceptibilité à cette pathologie.	(Bundo et al., 2014; Doyle et al., 2017)
	Autisme	Dans le cervelet des patients atteints d'autisme, il y a une expression élevée de LINE-1, due à une perte de leur répression épigénétique.	(Shpyleva et al., 2018)
	Trouble Dépressif Majeur	Augmentation du nombre de copies LINE-1 liée à l'hypométhylation (au niveau de la région 5'UTR) observée dans le sang périphérique des patients.	(Liu et al., 2016)
	Syndrome de Rett	Le nombre de séquences L1 ORF2 dans le cortex préfrontal des patients est retrouvé plus élevé que chez les sujets sains.	(Muotri et al., 2010; Zhao et al., 2019)
	Ataxie télangiectasique	Augmentation de la rétro-transposition des LINE-1 dans des cellules progénitrices neurales humaines déficientes pour le gène ATM.	(Coufal et al., 2011)

D'après Ahmadi et al., 2020.

L'activation des ET dans le contexte de la neurodégénérescence pourrait être la conséquence de la défaillance de certains mécanismes de répression géniques, comme détaillé ci-dessus. En effet, plusieurs études récentes ont suggéré que les mécanismes épigénétiques réprimant les LINE-1 deviennent défaillants au cours du processus de vieillissement, contribuant potentiellement à une déstabilisation secondaire du génome (O'Sullivan and Karlseder, 2012). L'un des mécanismes potentiellement importants affectant la stabilité du génome est la déstructuration de la chromatine (Zhang et al., 2020) qui conduit à la dé-répression des ET. En effet, une étude sur le tissu cérébral post-mortem de patients atteints par la MA ainsi que sur

des modèles de drosophile, a montré que la relaxation de l'hétérochromatine autour de certains loci LINE-1 et HERV (HERV-Fc1) induite par la protéine Tau mutée entraîne leur activation et que cette activation était significativement corrélée avec les taux pathologiques de Tau (Guo et al., 2018). À travers cette étude, Tau apparaît comme un modulateur de l'activité transcriptionnelle des ET, probablement par le biais de la relaxation de la chromatine autour des loci des ET, conduisant à la perte des neurones associée à la MA. Une étude similaire sur les modèles de drosophile suggère également que la dé-répression des ET est liée aux niveaux de Tau pathologiques. La surexpression de Tau entraîne une relaxation globale de l'hétérochromatine et une diminution des protéines Piwi, deux mécanismes clés dans la répression post-transcriptionnelle des ET ce qui conduit à leur activation incontrôlée (Frost et al., 2014; Sun et al., 2018). Par ailleurs, la protéine TDP-43 (TAR DNA binding protein 43) qui est couramment accumulée et agrégée de manière anormale dans les cerveaux de patients atteints par la MA (Kapasi et al., 2017), la SLA et la FTD, a été montrée comme étant un des répresseurs des SINE, LINE et LTR (Li et al., 2012a), et sa déplétion était associée à une activation incontrôlée des ET dans les cerveaux humains (Li et al., 2015, 2012b) et dans des modèles de drosophiles (Krug et al., 2017). La perte de TDP-43 nucléaire, une caractéristique des noyaux des cellules touchées par la MP et la SLA, était également associée à la décondensation de la chromatine autour des loci LINE-1 et l'augmentation de leur expression conséquente (Liu et al., 2019). Il est possible que dans d'autres pathologies cérébrales, les protéines sujettes à l'agrégation contribuent aussi à dé-répression des ET. D'autres changements épigénétiques dans les cerveaux humains et chez des modèles animaux associés à la MA ont été décrits (Frost et al., 2014; Gjoneska et al., 2015) et peuvent influencer les niveaux d'expression des ET. Par exemple, la méthylation de l'ADN chez les patients atteints de la MA était accompagnée d'une augmentation de l'expression des LINE-1 (Bollati et al., 2011). De plus, plusieurs études ont révélé grâce à des méthodes de séquençage d'ARN que

les niveaux d'expression des HERV et d'autres ET étaient augmentés de manière différentielle dans le cerveau des patients atteints de la MA comparés aux sujets sains (Guo et al., 2018; Sun et al., 2018).

D'autres ET comme les HERV sont impliqués dans les MN telle que la SLA. Les protéines dérivées du HERV connues pour leur neurotoxicité telle que la protéine Env ont été détectées dans le liquide céphalorachidien et dans des tissus post-mortem issus de cerveaux de patients atteints par la SLA (Douville et al., 2011; Li et al., 2015; Steele et al., 2005; Tam et al., 2019). En outre, les insertions des ET peuvent causer des mutations et/ou des délétions et conduire à des maladies génétiques. Par exemple, la présence d'une insertion SVA dans un intron du gène TAF1, entraîne la baisse de l'expression de TAF1, ce qui conduit à la Dystonie-parkinsonisme liée au chromosome X (Aneichyk et al., 2018).

Malgré la pertinence de ces données sur l'association des ET aux troubles neurodégénératifs et aux MN, on ignore dans quelle mesure ils contribuent à l'initiation et/ou la progression de ces maladies et par quel mécanisme ils induisent la neurotoxicité et la mort neuronale.

Bien que les origines de l'activation des ET liées à certaines pathologies restent encore incertaines, toutes ces études attirent l'attention sur l'implication possible des ET dans la pathogenèse des MN et met en lumière leur capacité à contribuer à la progression de ces maladies en causant une série de dégâts délétères potentiellement irréversibles. L'une des questions les plus critiques est de comprendre comment les ET agissent et quelles sont les conséquences engendrées par leur activation en lien avec la pathologie. La compréhension de la relation entre les ET et les processus pathologiques dans le cerveau permettrait d'améliorer l'efficacité des traitements et des diagnostics pour certaines MN et troubles neurologiques.

## 5. Conséquences possibles de l'activation des LINE-1

La rétrotransposition des LINE-1 a été détectée au départ dans les cellules germinales mais aussi dans les cellules somatiques de souris (Muotri et al., 2005). Quelques années plus tard, les chercheurs se sont intéressés aux événements de rétrotransposition des LINE-1 dans les neurones. En effet, les LINE-1 pouvaient se rétrotransposer efficacement dans des cellules neuronales post-mitotiques matures (Macia et al., 2017) et dans le cerveau de souris transgéniques *in vivo* (en utilisant un rapporteur de rétrotransposition LINE-1-GFP) (Coufal et al., 2009; Muotri et al., 2005). La rétrotransposition des LINE-1 pourrait avoir plusieurs conséquences délétères comme l'instabilité génomique, les mutations, la formation de pseudogènes et la dérégulation de l'expression des gènes (Esnault et al., 2000; Hancks and Kazazian, 2012; Maxwell, 2023).

Même si les effets néfastes de la rétrotransposition sont probablement suffisants pour induire une neurotoxicité, l'expression LINE-1 peut être délétère indépendamment de la rétrotransposition. L'augmentation de l'expression des LINE-1 pourrait conduire à des lésions de l'ADN et une instabilité génomique (Blaudin de Thé et al., 2018; Simon et al., 2019). En effet, la protéine ORF2p via son activité endonucléase pourrait être une source de dommages à l'ADN (Blaudin de Thé et al., 2018; Gasior et al., 2006). Des travaux antérieurs de notre laboratoire ont montré que l'activation des LINE-1 dans les neurones primaires de souris conduit à des cassures d'ADN entraînant la dégénérescence des neurones dopaminergiques *in vivo*. La mort des neurones observée chez les souris modèles de la MP (hétérozygotes pour *Engrailed-1*) ou dans des modèles toxicologiques murins de la MP (injection de 6-OHDA) a pu être protégée grâce à des stratégies anti-LINE-1 telles que l'utilisation des siARN ciblant ORF2, ou un inhibiteur de la transcriptase inverse actif contre l'activité de ORF2p (Blaudin de Thé et al., 2018). Par ailleurs, la protéine ORF2p peut, via son activité de transcriptase inverse, induire l'accumulation d'ADN simple brin (ssDNA) dans le cytosol conduisant à une

réponse d'immunité innée suivie d'une neuroinflammation (Simon et al., 2019 ; De Cecco et al., 2019 ; Thomas et al., 2017). En effet, dans un modèle de neurones déficients en TREX1, un inhibiteur connu des LINE-1 (Stetson et al., 2008), l'accumulation des ssDNA dans le cytosol induit l'activation de la voie de signalisation des interférons, et ceci a été restauré en utilisant les inhibiteurs de la capacité de transcription inverse de la protéine de ORF2p (Thomas et al., 2017) (**Figure 7**).

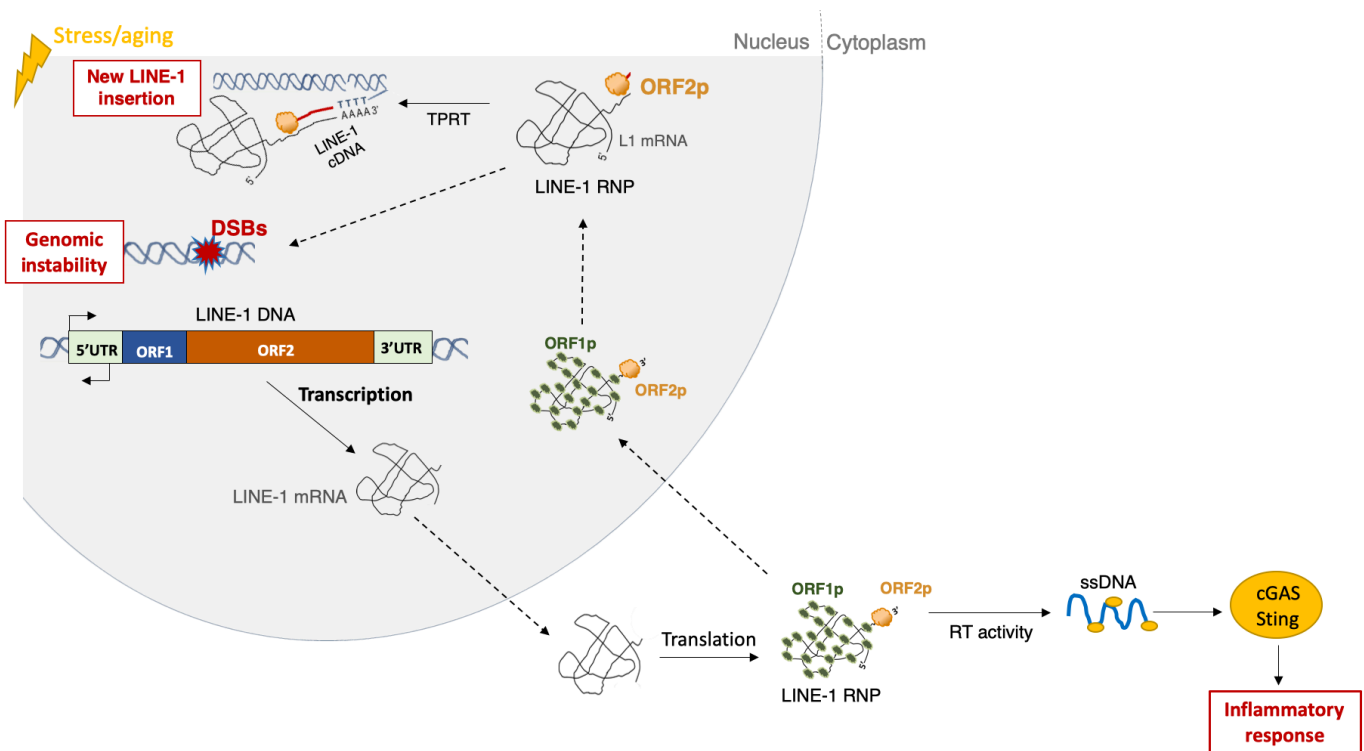
En plus de ces effets dits « en *trans* », les LINE-1 peuvent également causer des effets en *cis* qui peuvent être délétères pour la cellule hôte. En effet, ils peuvent directement agir sur l'organisation de la chromatine ou encore sur l'expression des gènes. Les LINE-1 introniques peuvent entraîner une dérégulation de l'expression des gènes touchés en induisant l'apparition de poly(A) prématurée, des altérations de l'épissage du gène qui les contient, la génération de transcrits anti-sens à cause du promoteur anti-sens du LINE-1 qui peut servir de promoteur alternatif influençant ainsi le niveau d'expression de nombreux gènes codants pour des protéines fonctionnelles (Jönsson et al., 2020). Les LINE-1 participent aussi à la formation de transcrits chimériques (Faulkner et al., 2009). En outre, l'insertion des séquences LINE-1 dans les gènes peut affecter la qualité et la quantité de l'ARNm transcrit (Han et al., 2004). De manière plus globale, l'activation transcriptionnelle des LINE-1 peut affecter l'ensemble du pool d'ARN codant et non codant (Ohms and Rangasamy, 2014). De plus, l'expression des LINE-1 implique souvent la mobilisation d'autres rétrotransposons non autonomes tels que les SINEs qui peuvent aussi être une source d'inflammation.

L'activation des LINE-1 peut enfin induire des mutations par le biais de réarrangements chromosomiques tels que des délétions et des translocations par recombinaison homologe (**Figure 8**). Dans le cas des LINE-1, le démasquage d'enhancers et des sites de liaison à des facteurs de transcription ainsi que les changements dans l'organisation tridimensionnelle de la chromatine peut entraîner une dérégulation globale de



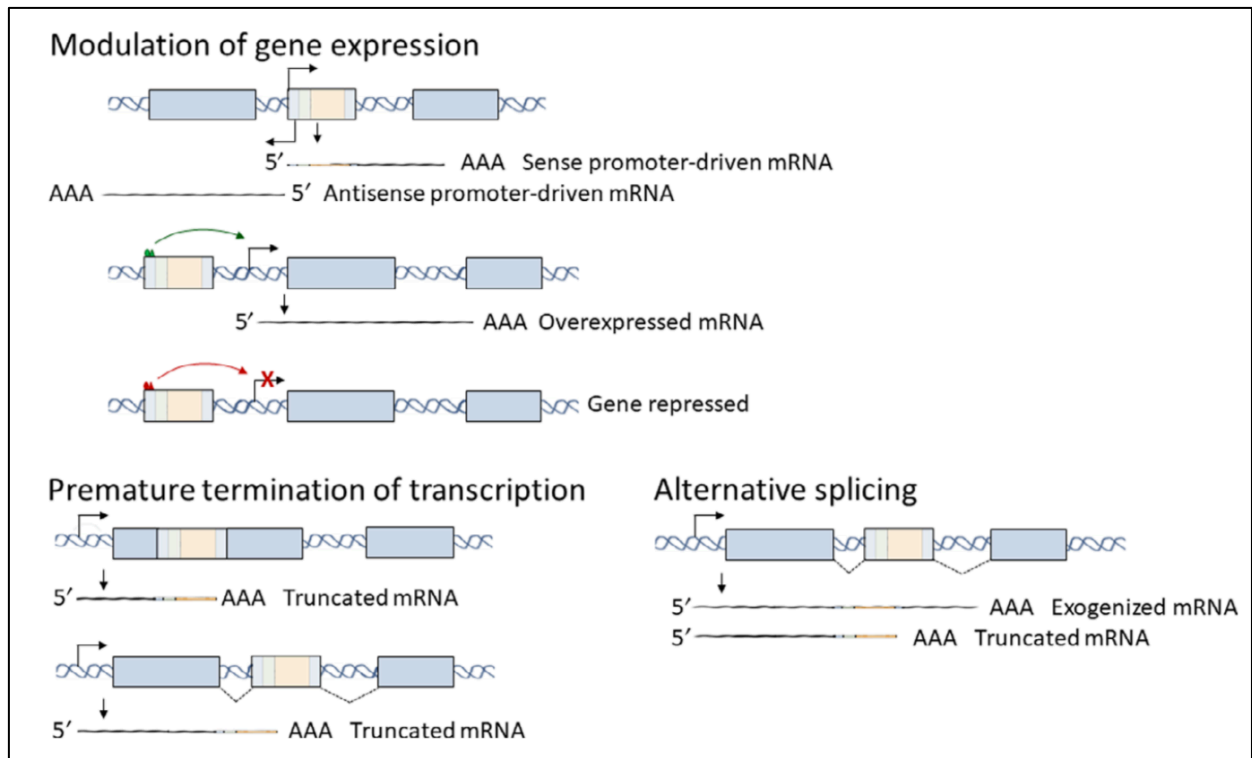
l'expression des gènes. En raison de l'instabilité génomique, de l'altération de l'épissage, et la perturbation de la transcription induites par l'activité des rétrotransposons LINE-1 (Goodier and Kazazian, 2008; Kazazian, 2004), plus de 100 pathologies humaines ont été décrites associées aux rétrotransposons LINE-1 (Hancks and Kazazian, 2016).

Pour induire ces dégâts, la RNP du LINE-1 doit accéder au noyau. Mais comme mentionné ci-dessus, jusqu'à ce jour, il est clairement admis que l'accès des protéines encodées par le LINE-1 au noyau ne peut se produire que pendant la division cellulaire lorsque la membrane nucléaire est rompue. Donc, l'accès de la RNP au noyau dans les cellules post-mitotiques serait difficile. Dans le cas des neurones post-mitotiques on ignore si et comment la RNP du LINE-1 accèdent au noyau.



**Figure 7 : Conséquences de l'activation des LINE-1 sur la cellule hôte.**

L'activation des LINE-1 dans la cellule hôte pourrait avoir plusieurs conséquences délétères. L'augmentation de l'activité de la RT du LINE-1 peut conduire à l'accumulation de ssDNA cytosoliques, en utilisant soit son propre ARN ou l'ARN d'autres ET (comme les SINES) comme amorce pour la réverse transcription ce qui pourrait entraîner l'activation de la réponse aux interférons et la neuroinflammation. L'activité endonucléase de ORF1p pourrait être à l'origine de cassures d'ADN qui représentent une source d'instabilité génomique. (TPRT, Target Primed Reverse Transcription).



**Figure 8 : Effets en cis des éléments transposables (Ravel-Godreuil et al., 2021 ; Peze-Heidsieck et al., 2022).**

Les ET, notamment les LINE-1, peuvent contribuer à l'altération de l'expression des gènes touchés dit hôtes. La modulation de l'expression du gène hôte pourrait se produire par le biais de plusieurs mécanismes : par exemple le promoteur anti-sens du LINE-1 peut servir de promoteur alternatif et induire la génération de transcrits anti-sens influençant ainsi le niveau d'expression des gènes. Les LINE-1 introniques, peuvent entraîner une dérégulation de l'expression des gènes hôtes en induisant l'apparition de poly(A) prématurée. La terminaison prématurée de la transcription et l'épissage alternatif peuvent également affecter l'expression du gène hôte.

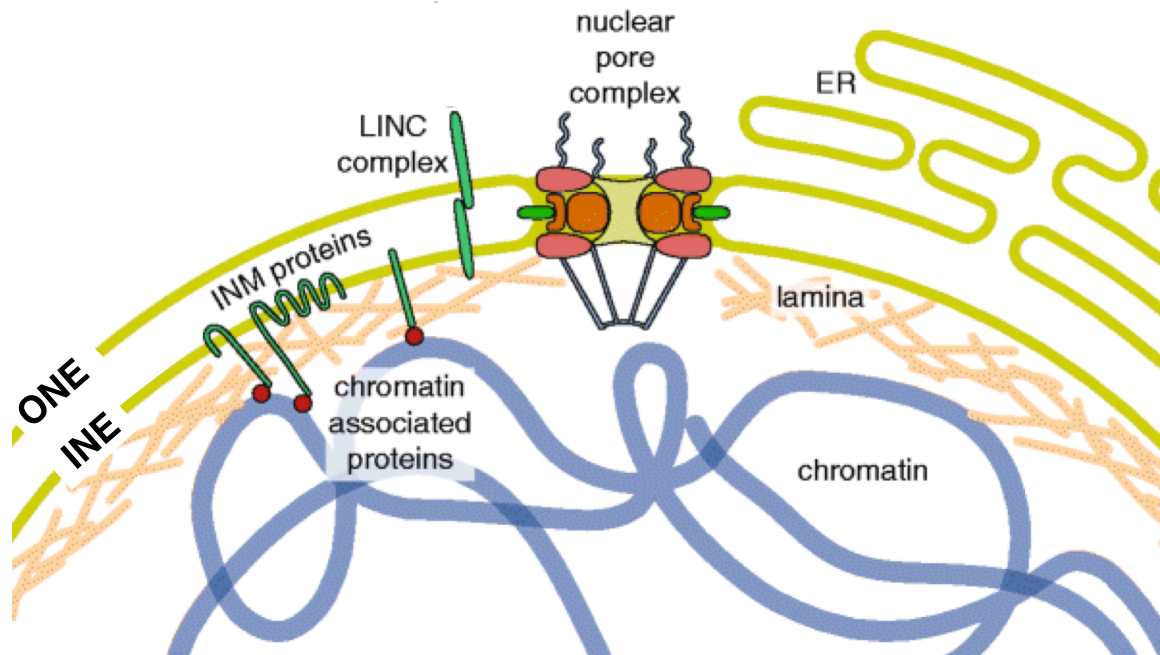
Depuis quelques années, on a beaucoup appris sur les effets délétères que peuvent causer les protéines encodées par l'élément LINE-1 notamment à travers la protéine ORF2p indépendamment de la rétrotransposition, sur leur impact sur les cellules hôtes. Un certain nombre de publications remarquables traitent le rôle pathogénique que pourrait avoir la protéine ORF2p via son activité endonucléase (Blaudin de Thé et al., 2018 ; Simon et al.,

2019) ainsi que son activité réverse transcriptase (De Cecco et al., 2019 ; Thomas et al., 2017), mais très peu ont étudié l'impact que pourrait avoir la protéine ORF1p.

Nous présentons ici un nouvel axe pathogénique dans lequel la protéine ORF1p agit sur les composants de l'enveloppe nucléaire et du complexe de pore nucléaire. Nos discussions se concentrent sur l'analyse des conséquences de l'activation des LINE-1 dans un modèle neuronal de stress oxydatif.

### III. L'enveloppe nucléaire dans le contexte des maladies neurodégénératives

L'altération de la forme et l'architecture nucléaire et la perte de la compartimentation nucléocytoplasmique sont liées (Paonessa et al., 2019) et sont récemment apparues comme des nouveaux aspects émergents dans la pathogenèse des MN (Aizawa et al., 2019; Chou et al., 2018; Gasset-Rosa et al., 2017; Grima et al., 2017; Kim and Taylor, 2017; Kinoshita et al., 2009; Liu et al., 2012; Sheffield et al., 2006). Dans les cellules eucaryotes, la compartimentation nucléocytoplasmique est primordiale pour la stabilité et la fonction du noyau. En effet, celui-ci est délimité par une enveloppe nucléaire (**Figure 9**), permettant sa protection et le maintien de sa structure. L'enveloppe nucléaire est constituée de deux membranes : Une membrane nucléaire externe, en contact avec le cytoplasme ainsi qu'une membrane interne qui est en contact avec le nucléoplasme. Sous la membrane interne, se trouve un réseau de filaments intermédiaires appelé « lamina nucléaire », qui fournit un soutien structurel au noyau. La lamina nucléaire est composée de plusieurs protéines fonctionnelles telles que la Lamine B et A. La lamina nucléaire est en contact avec la chromatine et joue un rôle crucial dans diverses fonctions nucléaires (i.e., réplication de l'ADN, transcription).

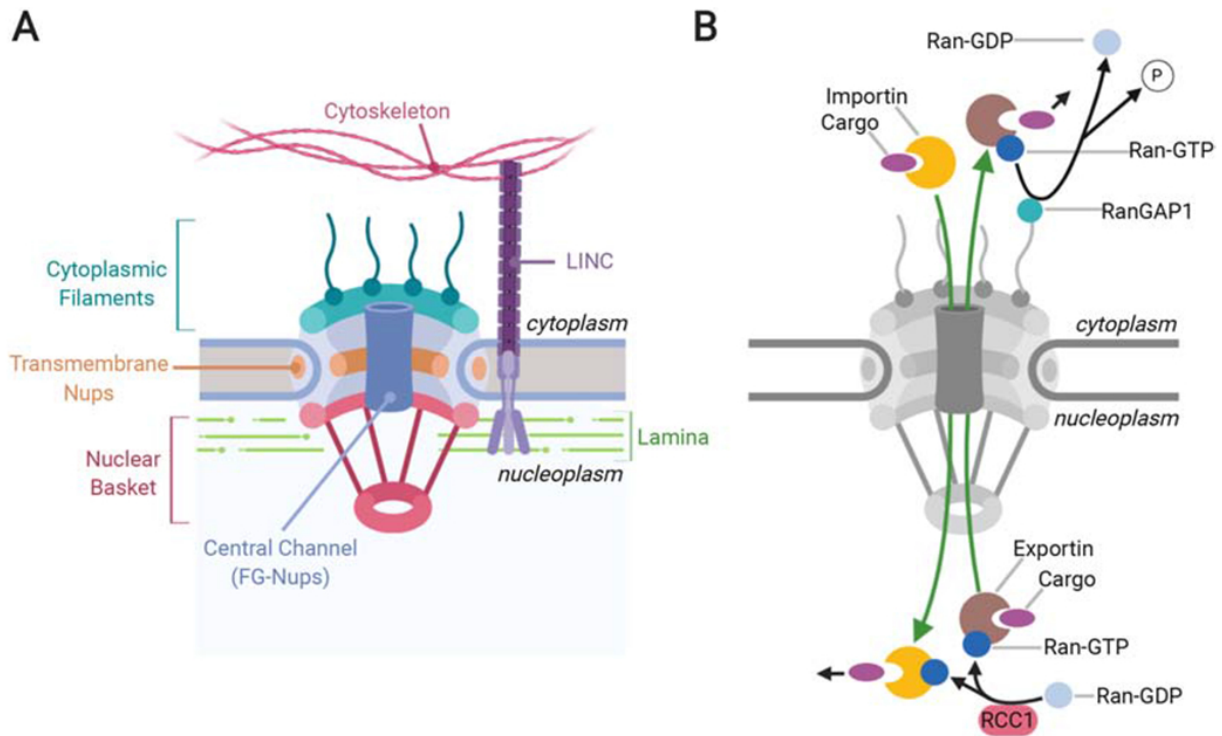


**Figure 9 : Structure de l'enveloppe nucléaire et de ses composants (Schooley et al., 2012).**

L'enveloppe nucléaire interne (INE, inner nuclear envelope) et l'enveloppe nucléaire externe (ONE, outer nuclear envelope) sont fusionnées au niveau des pores nucléaires, complexes multi-protéiques qui régulent le trafic nucléocytoplasmique. L'enveloppe nucléaire interne est composée de plusieurs protéines membranaires intégrales qui relient l'enveloppe nucléaire à la chromatine en interagissant directement ou indirectement via l'intermédiaire de protéines associées à la chromatine. La membrane nucléaire externe (ONE) est reliée au cytosquelette cytoplasmique par l'intermédiaire des protéines du complexe LINC.

Les deux membranes (interne/externe) se rejoignent autour des pores nucléaires qui forment des canaux qui sont des complexes multi-protéiques transmembranaires, appelés les complexes de pores nucléaires (CPN) (**Figure 10**). Les CPN permettent notamment un trafic sélectif des protéines entre le cytoplasme et le noyau. Le trafic bidirectionnel des protéines entre ces deux compartiments est crucial pour la transduction des signaux et représente une fonction vitale pour la cellule. Les CPN sont composés d'environ 30 protéines appelées

nucléoporines ou NUP (Rout et al., 2000). Les petites protéines de poids moléculaire <40 kDa et de diamètre <5 nm, peuvent diffuser de façon passive à travers le CPN. En revanche, les protéines de plus grande masse moléculaire nécessitent un transport actif médié par l'intervention des protéines de la famille des karyophérines- $\beta$ , telles que les importines (pour l'importation nucléaire) et les exportines (pour l'exportation nucléaire). L'altération de l'enveloppe nucléaire et la perturbation du transport nucléocytoplasmique (TNC) ont été associées à diverses maladies comme le cancer (Kim et al., 2020). Plus récemment, elles sont apparues comme des caractéristiques du vieillissement normal (D'Angelo et al., 2009; Mattout et al., 2006; Scaffidi and Misteli, 2006) et des neurones âgés (Fifková et al., 1987; Mertens et al., 2015) mais aussi de plusieurs MN (Coyne and Rothstein, 2022; Kim and Taylor, 2017). En effet, des études ont montré la présence d'altérations de l'enveloppe nucléaire et du TNC dans les tissus post-mortem de patients atteints de la SLA (Aizawa et al., 2019; Chou et al., 2018; Kinoshita et al., 2009), de Huntington (Gasset-Rosa et al., 2017; Grima et al., 2017), de la MP (Liu et al., 2012) et de la MA (Sheffield et al., 2006).



**Figure 10 : Représentation du complexe de pore nucléaire (CPN) et le transport nucléocytoplasmique (TNC) (Fallini et al., 2020).**

(A) Aperçu de la structure de base du CPN et de ses sous-complexes. Les CPN sont des édifices multi-protéiques situés au niveau de l'enveloppe nucléaire, qui régulent le trafic bidirectionnel des composants cellulaires entre le cytoplasme et le noyau. Les principaux sous-complexes du CPN comprennent l'anneau et les filaments cytoplasmiques, l'anneau externe et interne, l'anneau transmembranaire, le canal central et le panier nucléaire. Chacun de ces sous-complexes est composé de près de 30 nucléoporines qui interagissent avec les importines et les exportines nécessaires au transport des protéines à travers le CPN. Les filaments cytoplasmiques et le panier nucléaire s'étendent dans le cytoplasme et le nucléoplasme respectivement, tandis que les nucléoporines transmembranaires ancrent le CPN à la membrane nucléaire.

(B) Représentation du TNC. Les importines se lient à leur cargaison et facilitent son déplacement à travers le CPN. Dans le nucléoplasme, Ran-GTP se lie soit aux importines pour induire la libération de la cargaison, soit au complexe exportine-cargaison, facilitant ainsi son transport à travers les pores nucléaires vers le cytoplasme. Dans les deux compartiments nucléaire ou cytoplasmique, RanGAP1 hydrolyse le Ran-GTP en Ran-GDP et déclenche la libération de la cargaison.

Malgré nos connaissances sur la nature fondamentale de l'enveloppe nucléaire et ses composants, les mécanismes conduisant à la détérioration de l'enveloppe nucléaire et du trafic nucléocytoplasmique dans le contexte de neurodégénérescence restent encore inconnus.

Le travail présenté dans cette thèse et dans l'article scientifique joint, révèle un nouveau rôle pathogénique de ORF1p encore méconnu ciblant l'enveloppe nucléaire et ses composants. Dans l'article de revue également joint à cette thèse, nous discutons de l'implication des ET et en particulier les rétrotransposons LINE-1 dans les MN en tant qu'acteurs pathogéniques dans la neurodégénérescence agissant via des voies moléculaires et cellulaires multiples, et de comment les ET peuvent représenter un lien moléculaire (manquant) entre le vieillissement et les MN et de ce fait être des cibles pour tenter de développer des nouvelles stratégies thérapeutiques.





**Nuclear translocation of LINE-1 encoded ORF1p alters nuclear envelope integrity and disrupts nucleocytoplasmic transport in neurons**

Rania Znaidi, Olivia Massiani-Beaudoin<sup>1</sup>, Philippe Mailly, H elo ise Monnet, Rajiv L. Joshi and Julia Fuchs

BioRxiv, posted August 2023.

**Title:**

**Nuclear translocation of LINE-1 encoded ORF1p alters nuclear envelope integrity and disrupts nucleocytoplasmic transport in neurons**

**Authors:**

Rania Znaidi<sup>1</sup>, Olivia Massiani-Beaudoin<sup>1</sup>, Philippe Mailly<sup>2</sup>, H lo se Monnet<sup>2</sup>,

Rajiv L. Joshi<sup>1\*</sup> and Julia Fuchs<sup>1\*</sup>

**Affiliations:**

<sup>1</sup>Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), Coll ge de France, INSERM U1050/ CNRS UMR 7241, PSL Research University, 11 place Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05, France.

<sup>2</sup>Orion Imaging Facility, Center for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), College de France, CNRS Unit  Mixte de Recherche 724, INSERM Unit  1050, Labex Memolife, PSL Research University, Paris, France

**\*For correspondence:**

J.F. (Julia.fuchs@college-de-france.fr); R.L.J. (rajiv.joshi@college-de-france.fr)

**Key words:** Retrotransposons ; LINE-1 ; ORF1p ; nuclear envelope ; nuclear pore complex ; nucleo-cytoplasmic transport ; neurodegeneration.

## **Abstract**

LINE-1 retrotransposons are emerging as possible culprits in neurodegenerative diseases. However, the molecular mechanisms underlying the pathogenic role of LINE-1 and their encoded proteins ORF1p and ORF2p are still not completely understood. While the endonuclease and reverse transcriptase activity of ORF2p has been associated with DNA damage and inflammation, no pathogenic role has yet been assigned to ORF1p. Using a neuronal model of oxidative stress displaying increased LINE-1 expression, we report here that ORF1p stress-dependently translocates into the nucleus, localizes to the nuclear envelope and directly binds to nuclear lamina (Lamin B1), nuclear pore complex (NUP153) components and nuclear import (KPNB1) proteins. Stress-dependent targeting of nuclear envelope components by ORF1p alters nuclear envelope integrity, disrupts nucleo-cytoplasmic transport and induces heterochromatin destructure, which are key features associated with neurodegenerative diseases and aging. Interestingly, nuclear deformations and heterochromatin destructure were restored by the small molecule Remodelin which also normalized nuclear ORF1p levels. This study thus reveals a retrotransposition-independent pathogenic action of ORF1p perturbing nuclear envelope barrier function.

## Introduction

Repetitive sequences derived from transposable elements (TEs) represent 45% of the human genome, including non-LTR and LTR retroelements. Non-LTR retrotransposons of the Long Interspersed Element-1 (LINE-1) family have been the most active TEs in mammalian genomes and LINE-1-derived sequences represent almost 21% of the human genome which carries nearly 500000 LINE-1 copies <sup>1</sup>. Although most of these LINE-1 copies are remnants of past retrotransposition events and are truncated or mutated, the reference human genome still carries 146 full-length LINE-1 copies which can be autonomously active and competent for retrotransposition <sup>2</sup>. Full-length LINE-1 sense strand codes for two proteins, namely ORF1p and ORF2p, which are required for retrotransposition. ORF1p is an RNA binding protein and ORF2p encompasses reverse transcriptase and endonuclease activities. Since LINE-1 activation can lead to deleterious consequences such as DNA damage and genomic instability <sup>3-6</sup>, senescence and inflammation <sup>7,8</sup>, these TEs are repressed in most somatic cells at the transcriptional and post-transcriptional level. Failure of these repressive mechanisms can lead to the activation of LINE-1 and other TEs in the context of aging or human diseases like cancer.

Several recent studies have reported that TE activation might be linked to neurodegenerative diseases (NDs) such as Alzheimer's disease (AD), non-AD tauopathies, Parkinson disease (PD), Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and Huntington disease (HD) <sup>5,9-14</sup>. Although NDs present many common hallmarks such as pathological protein aggregation, synaptic and neuronal network dysfunction, aberrant proteostasis, cytoskeletal abnormalities, altered energy homeostasis, DNA and RNA defects, inflammation, oxidative stress and neuronal cell death <sup>15,16</sup>, the genetic basis and the molecular and cellular mechanisms underlying neurodegeneration still remain elusive. In this regard, recent work from our group <sup>5,17</sup> and others <sup>13,14,18</sup> suggests that TE activation could directly contribute to neuronal

dysfunctions associated with NDs. Indeed, several pathogenic features of NDs might actually be linked to TE de-repression<sup>19,20</sup>. While the deleterious consequences attributed to the endonuclease and reverse transcriptase activities of LINE-1 ORF2p (i.e. DNA strand breaks, cytosolic single-stranded DNA inducing innate immune activation and inflammation) are beginning to be well documented, no particular pathogenic function has yet been assigned to ORF1p apart from its RNA chaperone property.

To directly address the consequences of endogenous full-length LINE-1 activation and increased LINE-1-encoded proteins in adult neurons, we used a neuronal model of acute oxidative stress displaying an increase in LINE-1 encoded ORF1p expression. Using this model, we uncovered a so far unrecognized pathogenic role of ORF1p in potentiating nuclear envelope (NE) barrier alterations induced by an acute oxidative stress. This suggests that stressed neurons are susceptible to ORF1p mediated NE perturbations leading to the amplification of NE dysfunctions which are novel emerging feature of many NDs.

## **Material and methods**

### **Cell culture**

The Lund Human Mesencephalic (LUHMES) cell line is a conditionally immortalized cell line. These cells are derived from the tetracycline-controlled, v-myc-overexpressing human mesencephalic cell line MESC2.10<sup>21,22</sup>. The culturing and handling procedure of LUHMES cells were as described previously<sup>21</sup>. LUHMES cells can be differentiated into mature dopaminergic neurons. The differentiation was performed following the two-step protocol previously established<sup>23</sup>. Cell culture flasks, multi well plates and glass coverslips used for LUHMES culture were pre-coated by adding 50 µg/mL poly-L-ornithine (Sigma, P4957) diluted in 1X PBS (Phosphate buffered saline) for 1 h at 37°C, washed 3 times in 1X PBS, and

then incubated with 1 µg /mL fibronectin (Sigma, F0895) diluted in 1X PBS for 3 h minimum at 37°C to promote cell attachment. Uncapped flasks were air-dried before cell plating.

The base cell culture medium consisted of Advanced DMEM/F12 (ThermoFisher 12634028), N2-Supplement (ThermoFisher Scientific, 17502048) and 2 mM GlutaMAX (ThermoFisher Scientific, 35050061) which was supplemented by 40 ng/ml recombinant human basic fibroblast growth factor FGF (Peprotech, 100-18B) during proliferation, at 37°C in 100% humidified air with 5% CO<sub>2</sub> until 70%–80% of cellular confluence is reached.

The differentiation process was initiated by the shut-down of v-myc by adding 1 µg/ml doxycycline (Sigma, D9891) in the base medium supplemented with 2 ng/ml recombinant human glial-derived neurotrophic factor GDNF (Peprotech, 450-10) and 1 mM dibutyryl cyclic adenosine monophosphate sodium salt cAMP (Sigma, D0627). The pre-differentiated neurons were replated 48 h later at a defined density of 150 000 cells/well in 24-well plates or 10<sup>6</sup> cells/well in 6-well plates. To confirm successful generation of post-mitotic LUHMES, expression of neuronal and dopaminergic markers was assessed throughout the differentiation protocol, which lasts a total of 5 days (Fig. 1A; Suppl. Fig. 1A). All experiments were performed on day 5 of differentiation, at which point LUHMES cells were considered to be completely mature post-mitotic neurons.

### **Arsenite-induced oxidative stress**

Stock of Sodium Arsenite solution (NaAsO<sub>2</sub>) (Sigma-Aldrich, 1062771000, c= 0.05 mol/l) was stored at room temperature. Dilutions were carried out shortly before each experiment. Fully differentiated LUHMES cells (at day 5 of differentiation) were subjected to Arsenite during 1 h at 37°C at a concentration of 50 µM to induce oxidative stress.

## **Drug treatment**

For LUHMES treatment with Remodelin drug (a gift from Dr. Raphaël Rodriguez), differentiated neurons at day 4 of differentiation, were incubated in fresh culture medium containing Remodelin (10  $\mu$ M) or DMSO for 24 h and then subjected to oxidative stress using Arsenite (50  $\mu$ M for 1 h at 37°C). For Stavudine treatment differentiated neurons (at day 4 of differentiation) were incubated in fresh culture medium containing Stavudine (10  $\mu$ M) or NaCl for 24 h. The next day, cells were subjected to oxidative stress using Arsenite (50  $\mu$ M for 1 h at 37°C).

## **Transfection methods**

Adherent electroporation (Nucleofection): LUHMES cells were seeded at a density of 150 000 cells/well into 24-well plates already containing cover-slips pre-coated with poly-L-ornithine and fibronectine and were differentiated as described in Cell culture section. After 3 days of differentiation, cell culture medium was replaced by pre-warmed fresh medium and incubated for 1 h at 37°C prior to transfection. LUHMES cells were transfected by Nucleofection using the AMAXA 4D-Nucleofector® Y Unit (Lonza) which enables the direct Nucleofection (by electroporation) of cells in adherence in 24-well culture plates using the AD1 4D-Nucleofector™ Y Kit (Lonza, V4YP-1A24) for neuronal cells electroporation. The ER-100 program was the most appropriate to LUHMES cells in terms of transfection efficiency and viability and was used for all subsequent transfections. One Nucleofection sample contained 150 000 cells/well, 10  $\mu$ g plasmid DNA (pcDNA3-ORF1-HA, a gift from Dr. John and Dr. Y. Ariumi) or 10  $\mu$ g pmaxGFP vector and 350  $\mu$ l AD1 4D-Nucleofector Y solution. The 24-well dipping electrode array (provided in the kit) was inserted into the plate and cells were transfected by using the ER-100 Nucleofector program. After nucleofection, AD1 solution was removed and the cells were immediately washed once with fresh medium and incubated in



humidified 37°C / 5% CO<sub>2</sub> incubator. Media was not changed until analysis at day 5 of differentiation (48 h after transfection). Transfection efficiency (48 h after transfection) was monitored by fluorescence microscopy.

### **Protein extraction**

After aspirating media, cells were washed one time with 1X PBS. 200 to 500 µl of 1X RIPA lysis buffer (50 mM Tris-HCL pH 8, 150 mM NaCl, 0,5% Sodium deoxycholate, 1% NP-40, 0,1% SDS) with 1X protease inhibitor (Sigma, 11836153001) was added to each well in the plate. Cells were scraped and lysates were transferred to a sterile microtube. The lysates were incubated on ice for 30 min and sonicated using the Bioruptor UCD-200 for 15 min (30s on/30s off) on ice at high power to shear contaminating DNA. After collecting the supernatant (avoiding the pellet) into new microtubes, protein concentration was determined using Pierce™ BCA Protein Assay Kit. Aliquot of lysates were stored at -20°C avoiding multiple freeze/thaw cycles. Proteins were taken in 1X Laemmli buffer (250 mM Tris pH 6,8, 10% sodium dodecyl sulfate, 1,25% bromophenol blue, 5% β-mercaptoethanol, 50% glycerol) containing DTT, boiled 10 minutes at 95°C and stored at -20°C until analyzed.

### **Western blot analysis**

A 1.5 mm NuPAGE 4-12% Bis-Tris-Gel (Invitrogen™) polyacrylamide gel was used for Western blots. 10 µg of protein were loaded per well. Gel migrated in NuPAGE™ MES SDS Running Buffer (1X) (Invitrogen™) for 55 minutes at 200 V. Gels were transferred into a methanol activated PVDF membrane (Immobilon) in a transfer buffer (Tris 25 mM, pH 8,3 and glycine 192 mM) during 1 h at 400 mA at 4°C. For blocking, 5% milk in TBST (0,2% Tween 20, 150 mM NaCl, 10 mM Tris pH:8) was used during 1 h at room temperature. The membranes were then incubated overnight with primary antibody anti-ORF1p 1:500 (Abcam, ab245249).

The membranes were incubated with anti-actin peroxidase antibody 1:20000 (Sigma, A3854) diluted in 5% milk in TBST, 1 h at room temperature on a shaker. The membranes were washed in TBST (1X) and incubated with secondary antibody including anti-rabbit HRP 1:2000 (Cell Signaling, 7074S) and anti-mouse HRP 1:2000 (Cell Signaling, 7076S) for 1 h at room temperature. After washing in TBST (1X), membranes were revealed using Clarity Western ECL Substrate (Bio Rad, #1705060) or Maxi Clarity Western ECL Substrate (BioRad, #1705062) in a LAS-4000 Fujifilm system.

### **Immunoprecipitation**

For immunoprecipitation (IP) we used ORF1p (Millipore, MABC 1152) and IgG mouse (Thermofisher, #31903) antibodies. The antibodies were coupled to magnetic beads using the Dynabeads® Antibody Coupling Kit (Invitogen, 14311D) according to the manufacturer's recommendations. We used 8 µg of antibody for 1 mg of beads. The appropriate volume of buffer was added to the coupled beads to achieve a final concentration of 10 mg/ml.

LUHMES cells were plated at a density of  $20 \times 10^6$  cells in 2 T75 flasks and grown in differentiation medium for 5 days. One flask was treated with 50 µM Arsenite for 1 h. Control and treated cells were washed with 1X PBS and harvested using 1 ml of lysis buffer (10 mM Tris HCl pH 8, 150 mM NaCl, NP40 0.5% v/v, protease inhibitor 10 µl/ml) per T75 flask. Samples were sonicated for 15 min at 4°C, then centrifuged at 1200 rpm for 15 min at 4°C.

The supernatants obtained were transferred to a new microcentrifuge tube and then separated into 3 tubes. One tube containing 50 µl of supernatant (1/10th of the test samples) was stored at 4°C until the samples were analyzed. The other two tubes containing 445 µl of the remaining supernatants were used for IP. Mouse IgG beads (75 µl) were added to one tube and ORF1p antibody beads (75 µl) to the other tube. Each of these two tubes was then diluted to 1.5 ml with buffer (10 mM Tris HCl pH8, 150 mM NaCl, 10 µl/ml protease inhibitor) to dilute the

NP40. The samples were then incubated overnight on a wheel at 4°C. Samples were then washed 3 times with 1 ml buffer (10 mM Tris HCl pH 8, 150 mM NaCl, 10 µl/ml protease inhibitor) using a magnet and then resuspended in 50 µl of the same buffer. The samples were boiled in Laemmli buffer (95°C, 10 min) and 20 µl of each sample were deposited on a 4-12% Nupage gel (Invitrogen, NP0336). Migration was carried out in MES SDS running buffer (Invitrogen, NP0002) for 45 min at 200 V. The gel was then transferred onto a PVDF membrane activated with methanol (Sigma, Immobilon-P 2659478) in glycine buffer (25 mM Tris, 200 mM glycine pH 8,3) for 1 h at 400 mA. The membranes were revealed using the primary antibodies anti-ORF1p rabbit 1:500 (Abcam, ab245249), anti-lamin B1 rabbit 1:1000 (Abcam, ab16048) or anti-KPNB1 rabbit 1:1000 (Cell Signaling, #51186), the secondary anti-rabbit HRP 1:2000 (Ozyme, 7074S) with the Maxi Clarity Western ECL Substrate kit (BioRad, #1705062). Analysis of immunoblotting images was performed manually using Fiji software.

### **RT-qPCR**

Total RNA from  $5 \times 10^5$  lysed cells was extracted using RNeasy Plus Micro Kit (Qiagen, 74034) according to the manufacturer's instructions. The removal of contaminating genomic DNA (gDNA) was assessed by using the ezDNase kit (Invitrogen™, 11766051). After gDNA elimination, RNA (300 ng) was reverse transcribed using the All-In-One 5X RT MasterMix kit (Abcam, G592) for first-strand cDNA synthesis. The newly synthesized first-strand cDNA is ready for immediate real-time PCR analysis.

Quantitative PCR reactions were carried out in duplicates with SsoAdvanced Universal SYBR® Green Supermix (Biorad, 1725274) on a CFX Opus 384 (Bio-Rad, #12011452) with the following program: enzyme activation at 95°C 2 min, primer denaturation at 95°C, annealing at 57°C and primer extension at 72°C for 42 cycles. The following primers were used: HPRT (F: CAGCCCTGGCGTCGTGATTAGT; R: CCAGCAGGTCAGCAAAGA

AT); TBP (F: CAGCATCACTGTTTCTTGGCGT; R: AGATAGGGATTCCGGGAGTCAT)  
; LINE-1 5'UTR (F: GTACCGGGTTCATCTCACTAGG R: TGTGGGATATAGTCTCGTG  
GTG), ORF1 (F: AGGAAATACAGAGAACGCCACAA) R: GCTGGATATGAAATTCTG  
GGTTGA), LINE-1 ORF2 (F: AAATGGTGCTGGGAAAAGT ; R: GCCATTGCTTTTGG  
TGTTTT ), 3'UTR (F : GGGAATTGAACAATGAGATCAC; R: TATACATGTGCCATGC  
TGGTG).

Data were analyzed using the ddCt method and values normalized to hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HPRT) or to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (TBP) TATA-binding protein.

### **Proximity Ligation Assay (PLA)**

The detection of the interactions between ORF1p and Lamin B1, NUP153 and KPNB1 were analyzed using proximity ligation Assay (PLA) method using Duolink® In Situ Red Starter Kit Mouse/Rabbit (Sigma, DUO92101). Cells were treated according to the manufacturer's instructions. After PLA, cells are mounted with a Fluoromount (Invitrogen™, 15586276). Fluorescence images were acquired using a Spinning Disk W1 Yokogawa imaging system.

### **Immunofluorescence**

Immunostaining experiments were assessed at 1 h after Arsenite treatment. Stressed and control differentiated LUHMES cells cultured in 24-well plates (150 000 cells/well) were fixed with 4% paraformaldehyde (PFA) for 10 min. Immunofluorescence were performed overnight at 4°C after a 20 min permeabilization in 0,2% Triton X100 and incubation in blocking buffer (10 % bovine serum albumin BSA) for 1 h with the following antibodies: ORF1p 1:500 (Millipore, MABC1152 clone 4H1), TH 1:500 (Millipore, AB9702), Tuj1 1:1000 (Abcam, ab18207), Lamin B1 1:1000 (Abcam, ab16048), KPNB1 1:500 (GTX, 133733), NUP153 1:1000 (Novus

biological, NB100-93329), H4K20me3 1:1000 (Abcam, ab9053), HP1 1:1000 (Cell Signaling, #2623S), TDP-43 1:600 (Proteintech, 107-82-2AP), HA 1:1000 (Roche, 11867423001), RANGAP1 1:500 (Santa Cruz, sc-28322), ssDNA 1:500 (ENZO, (F7-26) ALX 804-192) diluted in the blocking buffer, overnight at 4°C. For ssDNA immunostaining, cells were fixed with PFA, followed by 24 h methanol incubation at -20°C, then incubated at 37°C for 4 h with RNaseA. Fluorescence secondary antibodies: Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 642, 1:2000 (ThermoFisher Scientific) were added for 1 h at room temperature. Nuclei were stained with Hoechst 1:2000 (Invitrogen, H3570). We used Fluoromount (Invitrogen™, 15586276). Cells were imaged by Spinning Disk W1 Yokogawa and STED Abberior Facility line imaging systems.

### **Quantification and image analysis**

The quantification of ORF1p fluorescence was performed with a custom-written plugin ([https://github.com/orion-cirb/Julia\\_Nucleus\\_Analysis](https://github.com/orion-cirb/Julia_Nucleus_Analysis)) developed for the Fiji software <sup>24</sup>, using Bio-Formats <sup>25</sup> and 3D Image Suite <sup>26</sup> libraries. Hoechst channel is downscaled by a factor 2, before detecting nuclei with the 2D-stitched version of Cellpose <sup>27</sup> (model = 'cyto2', diameter = 100, flow threshold = 0.4, cell probability threshold = 0.0, stitching threshold = 0.5). Segmented image is rescaled to original size and obtained 3D nuclei are filtered by volume to avoid false positive detections. Cells in ORF1p channel are detected in the same manner as nuclei. Then, each cell is associated with a nucleus having at least half of its volume in contact with it. Cells without any associated nucleus are filtered out. For each cell, ORF1p signal is analyzed in the following cellular compartments: cytoplasm, nucleus, outer and inner nuclear membranes and nucleoplasm (Fig. 2C, E). Compartmentalization is obtained using combinations of morphological operations (dilation, erosion and subtraction) of the cell and nucleus masks.

In each compartment, the integrated intensity of ORF1p is measured and normalized to ensure comparability across images. Normalization is done by subtracting the image background noise, estimated as the median intensity value of the minimum intensity Z-projection of the ORF1p channel. ORF1p foci are detected with Stardist 2D<sup>28</sup>, applying a model trained on a dataset of 1950 images of foci. The following settings are used: percentile normalization = [0.2 - 99.8], probability threshold = 0.2, overlap threshold = 0.25. ORF1p foci are then labeled in 3D and filtered by volume. The number of foci, their volume and their normalized integrated intensity are computed in each cellular compartment. Results are provided as an Excel file.

To quantify nuclear deformation, another custom plugin ([https://github.com/orion-cirb/HA\\_ORF1P\\_Prot/](https://github.com/orion-cirb/HA_ORF1P_Prot/)) was developed for the Fiji software, that uses the same libraries listed above, CLIJ<sup>29</sup> and Find Focused Slices (<https://sites.google.com/site/qingzongtseng/find-focus?authuser=0>). In brief, best focussed slice in the stack is selected. Nuclei are detected on this slice with Cellpose 2D (model = 'cyto2', diameter = 120, flow threshold = 0.4, cell probability threshold = 0.0), filtered by area and their circularity is computed. For each nucleus, ORF1p integrated intensity is analyzed in the following compartments: nucleus, outer and inner nuclear membranes and nucleoplasm. Compartments are obtained with the same combinations of morphological operations than previously described.

In case a HA-ORF1p channel is provided, cells are detected on the best focussed slice with Cellpose 2D (model = 'cyto2', diameter = 200, flow threshold = 0.4, cell probability threshold = 0.0) and filtered by area. Nuclei having at least one pixel in contact with a HA-ORF1p cell are considered as HA-ORF1p+, other nuclei as HA-ORF1p-. The intensity quantification of other markers than ORF1p was also performed with this plugin.

## Statistical Analysis

Data were obtained from independent experiments. The number of cells analyzed in each experiment is described in corresponding figure legends. Data analysis was performed using GraphPad Prism 8. Shapiro Wilk normality tests were performed prior to the statistical test. Two-tailed Student's t-test or One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test were used to determine statistical significance. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). The significant threshold was defined as  $p < 0.5$  and depicted as follows on all graphs: \* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

## Results

### Stress-induced activation of LINE-1 in human post-mitotic dopaminergic neurons

LUHMES cells represent a robust model to investigate the molecular and cellular mechanisms leading to neurodegeneration<sup>30–32</sup>. LUHMES cells were differentiated into post-mitotic neurons according to the experimental paradigm<sup>21–23</sup> displayed in Fig. 1A and Suppl. Fig. 1A. These cells acquire a mature dopaminergic neuronal phenotype as revealed by immunostaining for the neuronal marker Tuj1 ( $\beta$ -III tubulin) and the dopaminergic marker TH (Tyrosine hydroxylase) at day 5 of differentiation as shown in Figure 1B and quantified in Supplementary Figure 1B. The dopaminergic phenotype of these cells was further confirmed by analyzing TH protein expression by Western blot at different days of differentiation (Suppl. Fig. 1C). Surprisingly, but as previously observed in mouse dopaminergic neurons<sup>5</sup>, full-length LINE-1 elements are expressed at steady-state in human dopaminergic neurons as revealed by immunostaining for the LINE-1 ORF1p protein (Fig. 1B). Human ORF1p, as mouse ORF1p, shows a predominant cytoplasmic expression pattern. Oxidative stress is a common feature of aging<sup>33–35</sup>, cancer<sup>36</sup> and NDs<sup>37–40</sup> and has been associated with LINE-1 activation<sup>41–43</sup>. To

generate a human neuronal model of endogenous LINE-1 activation, we induced oxidative stress in differentiated dopaminergic neurons with low-dose arsenite ( $\text{NaAsO}_2$ ; 50  $\mu\text{M}$ ) for 1 hour at day 5 of differentiation as described in Figure 1A. This treatment did not affect the neuronal and dopaminergic phenotypes as shown by Tuj1 and TH immunofluorescence quantification (Suppl. Fig. 1D, E) and triggered no apparent cell death. Oxidative stress increased the expression of LINE-1 in human neurons as revealed by Western blot and immunofluorescence analysis of LINE-1 ORF1p protein (Fig. 1C, D). LINE-1 RNA quantification by RT-qPCR using several primers targeting different regions of the LINE-1 sequence also showed an up-regulation of LINE-1 transcripts (Suppl. Fig. 1F). In order to test LINE-1 encoded protein activity, we analyzed two known consequences of ORF2p activity (for which no effective antibodies are available). Increased LINE-1 ORF2p has been previously reported to induce DNA damage due to the endonuclease activity<sup>3-5</sup>. Upon oxidative stress, differentiated human dopaminergic neurons displayed increased DNA damage as quantified by an increase in  $\gamma\text{H2AX}$  (Phosphorylated histone H2AX)-positive foci, which decreased in the presence of Stavudine, an inhibitor of the reverse transcriptase of LINE-1 ORF2p (Fig. 1E). The reverse transcriptase activity of LINE-1 ORF2p has also been reported to generate the accumulation of single-stranded DNA (ssDNA) in the cytosol leading to inflammation<sup>6,44</sup>. We also observed an increase of ssDNA foci volume and intensity in the cytosol of stressed neurons (Suppl. Fig. 2A). Full-length LINE-1 and its encoded proteins are thus expressed at steady-state in human dopaminergic neurons, are inducible by oxidative stress and functionally active. This *in vitro* model therefore represents a valuable tool to investigate cellular effects of LINE-1 activation mediated by the encoded proteins.



## **ORF1p localizes to the nuclear envelope and translocates into the nucleus upon oxidative stress**

We next investigated the precise cellular localization and quantity of ORF1p upon stress using confocal imaging (Fig. 2A). ORF1p was predominantly cytoplasmic both in steady-state as well as in stress conditions and showed both, diffuse and dot-like patterns. Surprisingly and against the current assumptions<sup>45</sup>, we observed the presence of ORF1p in the nuclear compartment and an accumulation of ORF1p at the nuclear periphery both at the outer and the inner NE as distinguishable by Hoechst DNA staining (Fig. 2A, B). We further quantified ORF1p intensities using an automated deep-learning based quantification script developed in-house as schematized (Fig. 2C). This script allows for the quantification of immunofluorescence intensities, dot numbers and volumes in pre-defined cellular compartments including the nucleus and the cytosol. The increase in staining intensities was accompanied by a rearrangement of staining patterns as revealed by an increase in ORF1p-positive dot numbers and volumes, both in the cytoplasm and the nucleus (Fig. 2D), indicating a possible condensation of LINE-1 ORF1p in stress conditions.

As ORF1p appeared to accumulate along the NE, the script was further applied to analyze ORF1p intensity in more detailed compartments including the outer NE, the inner NE and the nucleoplasm (not including the inner NE) (Fig. 2E). The quantification showed a significant increase of ORF1p in both the inner and outer NE and in the nucleoplasm (Fig. 2F).

In summary, ORF1p immunostainings using an unbiased image quantification method revealed increased LINE-1 ORF1p levels in the cytoplasm, in the nucleus, and in the inner and outer NE, indicating a general increase of ORF1p, the accumulation of ORF1p at the NE, a rearrangement of ORF1p in a dot-like manner particularly in the cytoplasm and a significant nuclear translocation upon stress.

### **ORF1p targets nuclear envelope components upon oxidative stress**

To confirm ORF1p localization to the inner NE, we performed co-immunostainings for ORF1p and Lamin B1, a nuclear lamina protein which decorates the inner NE and plays a key role in the maintenance of nuclear architecture. These experiments revealed the colocalization of ORF1p and Lamin B1 at the inner NE which increased upon stress. This colocalization is particularly visible at the level of lamina invaginations (Fig. 3A). Co-immunoprecipitation experiments confirmed the interaction between ORF1p and Lamin B1 under stress conditions (Fig. 3B). Direct binding of ORF1p to Lamin B1 was further examined by proximity ligation assay (PLA). The results obtained indicate a direct interaction between ORF1p and Lamin B1 at the nuclear periphery upon stress (Fig. 3C) in line with the colocalization signals observed by co-immunostainings (Fig. 1A). However, direct interaction of ORF1p and Lamin B1 is also detected in the nucleoplasm of neurons and PLA signal quantification confirmed an increase of the number of dots (= direct interaction events) at the inner NE but also in the nucleoplasmic compartment (Fig. 3D). This suggests a possible scenario in which the stress-induced nuclear translocation of ORF1p and direct ORF1p binding to Lamin B1 induces Lamin B1 mislocalization from the inner NE to the nucleoplasm.

Previous studies have shown that ORF1p interacts with importin beta family members (*i.e.*, KPNB1)<sup>46</sup>, which could mediate its nuclear translocation using nuclear pore complexes (NPCs). To examine whether ORF1p nuclear translocation observed in human neurons upon oxidative stress (Fig. 2B) might depend on KPNB1 mediated import, we performed co-immunostaining of ORF1p with the importin KPNB1 or NUP153 (a nucleoporin of the nuclear basket), a core NPC protein shown to interact with KPNB1<sup>47</sup>. The results shown in Figure 3E indicate the colocalization of ORF1p with KPNB1 and NUP153 at the NE suggesting that nuclear translocation of ORF1p in human neurons upon oxidative stress might indeed be mediated by these proteins. Our results are in line with previous reports describing that KPNB1

may be involved in active nuclear import of LINE-1 ORF1p<sup>48</sup>. In addition, several cytoplasmic ORF1p-positive foci colocalize with KPNB1 (Fig. 3E) suggesting possible sequestration of this importin with ORF1p. Direct interaction of ORF1p with KPNB1 and NUP153 was further confirmed by PLA (Fig. 3F). PLA signal of ORF1p and KPNB1 interaction is not affected by oxidative stress (Fig. 3G), whereas the direct interaction between ORF1p and NUP153 is clearly increased in stress condition (Fig. 3H). These results suggest that ORF1p directly interacts with components of the inner NE and the nucleo-cytoplasmic transport (NCT) machinery and might mislocalize these proteins interfering with their physiological functions in nuclear architecture and NCT function. This let us to investigate whether ORF1p localization to the NE and direct protein-protein interaction with Lamin B1, KPNB1 and NUP153 might affect NE morphology and/or NCT efficiency.

### **Nuclear ORF1p accumulation correlates with nuclear envelope alterations**

Lamin B1-based staining of the inner nuclear lamina of human dopaminergic neurons revealed various NE dysmorphologies including nuclear invaginations and blebbing which appeared upon oxidative stress (exemplified in Fig. 4A). It is noteworthy that nearly 70% of stressed cells presented such deformations (Fig. 4B). Co-immunostaining for ORF1p and Lamin B1 revealed the accumulation of ORF1p at the level of NE invaginations and blebs, which is clearly observable in STED acquired 3D images and 3D reconstituted images (Fig. 4A). Nuclear dysmorphology was accompanied by increased Lamin B1 levels at the inner NE but even more so in the nucleoplasm of stressed cells (Fig. 4C), again suggesting a mislocalization or relocation of Lamin B1 possibly as a result of direct protein interactions with ORF1p. The degree of NE distortion (expressed as a circularity index) was analyzed using an automated script (detailed in the Materiel and Methods section) which measures nuclear circularity using Lamin B1 staining as a mask. This analysis showed a significant decrease of nuclear circularity

in stressed cells (Fig. 4D). Importantly, the degree of nuclear distortion (the lower the index, the higher the distortion) was significantly correlated with the intensity of nuclear ORF1p staining (thus nuclear ORF1p quantity) both in the nucleoplasm and in the inner NE (Fig. 4E). This correlation strongly suggests that nuclear ORF1p translocation and accumulation in the nucleoplasm and at the inner NE, at least in part, is functionally involved in the occurrence of nuclear dysmorphologies observed in neurons upon oxidative stress. It is noteworthy that ORF2p activity inhibitor (Stavudine) which prevented ORF2p induced DNA strand breaks (Fig. 1E) did not have any effect on nuclear circularity, or Lamin B1 delocalization, nor on ORF1p nuclear and cytoplasmic levels (Suppl. Fig. 3A-C). This suggests that the effect observed is not due to ORF2p activity.

Since nuclear lamina plays an important role in anchoring heterochromatin at the inner NE (= nuclear lamina), we examined whether the observed alteration of the nuclear lamina is accompanied by heterochromatin disorganization by immunostaining for the heterochromatin markers HP1 (heterochromatin marker protein-1) and the repressive histone mark H4K20me3 (histone H4, trimethylated on lysine 20) in control and stressed cells. HP1 was significantly depleted from the inner NE (Fig. 4F) and H4K20me3 levels decreased in stress conditions (Fig. 4G) suggesting possible decondensation or detachment of heterochromatin from the inner NE.

### **Nuclear envelope targeting by ORF1p is accompanied by nucleo-cytoplasmic transport defects**

In view of the interaction of ORF1p with KPNB1 and NUP153 reported above, we examined whether the accumulation of ORF1p at the NE could lead to NCT deficiencies. Immunostainings and subsequent quantification of intensity, distribution and localization of KPNB1 showed an accumulation of KPNB1 in the cytoplasm, as revealed by an increase in the intensity of KPNB1. We also observed a change in KPNB1 distribution, as revealed by an

increase in the number of counted dots and their volume in the cytoplasm (Fig. 5A) indicating a possible alteration of its function. To examine whether these changes in KPNB1 upon stress were associated with NCT defects, we first analyzed the localization of a major nucleocytoplasmic transport protein, RANgap1, by immunostaining. The GTPase activity of this protein is involved in maintaining the RAN gradient required for NCT and its delocalization is associated with NCT defects<sup>49</sup>. RANgap1 accumulated in the cytoplasm, shown by increased intensity, number and dot volume in the cytoplasm (Fig. 5B) which is indicative of an alteration of NCT. Disruption of NCT can lead to the abnormal localization of the RNA binding protein TDP-43, a predominantly nuclear protein. *TARDBP* mutations are causal in familial forms of FTD and ALS and a change from its predominantly nuclear to cytoplasmic localization has been observed in several NDs. Current consensus suggests that TDP-43 misdistribution leads to a pathological gain-of-function in the cytoplasm and loss-of-function in the nucleus<sup>50,51</sup> contributing to cellular dysregulation culminating in neurodegeneration. We therefore performed immunostainings for TDP-43 which revealed the presence of TDP-43-positive foci in the cytoplasm under stress conditions which were absent in non-stressed controls. Quantification showed that the intensity as well as the number and volume of TDP-43 positive dots were increased in the cytoplasm in stressed neurons (Fig. 5C). The quantification of the nucleoporin NUP153 showed an abnormal intranuclear and cytoplasmic accumulation of NUP153 in stress conditions (Fig. 5D).

Attempts to establish a causal link between the increase of LINE-1 ORF1p and NE alterations and NCT defects using siRNA were technically not successful. We therefore performed LINE-1 ORF1p gain of function experiments to examine whether increased ORF1p (and only ORF1p) could lead to the above-described effects in the absence of stress.

## **ORF1p overexpression leads to nuclear envelope dysmorphology and nucleo-cytoplasmic transport defects in the absence of oxidative stress**

Dopaminergic neurons were nucleofected at day 3 of differentiation with a plasmid encoding either ORF1-HA or GFP control and analyzed 48 h later. Co-immunostainings for HA and Lamin B1 showed the presence of HA-ORF1 in the nucleus and at the inner NE, colocalizing with Lamin B1 (Fig. 6A). HA-ORF1 transfected cells displayed pronounced NE deformations as revealed by Lamin B1 staining (Fig. 6A), decreased circularity and increased nucleoplasmic Lamin B1 levels compared to GFP expressing cells (Fig. 6B). Interestingly, the loss of nuclear circularity was highly correlated with the nuclear intensity of HA-ORF1 in transfected cells (Fig. 6B), strongly suggesting a causal link between ORF1p nuclear localization and NE dysmorphology. Neurons transfected with HA-ORF1 also presented increased levels of RANgap1 in the cytoplasm and TDP-43 in both the cytoplasm and nucleus compared to GFP expressing cells (Fig. 6C-F). These results indicate that overexpression of ORF1p, in the absence of stress, is sufficient to induce NCT defects and NE dysmorphology in human dopaminergic neurons.

## **Rescue of nuclear envelope dysmorphology under stress conditions by Remodelin**

NE morphology is disrupted during aging<sup>52</sup> and in premature aging syndromes caused by laminopathies<sup>53,54</sup> including progeria syndromes<sup>55</sup>. In Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS), nuclear integrity was shown to be restored by the small molecule “Remodelin”, an inhibitor of the acetylase-transferase protein NAT10<sup>56</sup> but whether this molecule is efficient in restoring misshapen nuclear morphology in cell types other than fibroblasts or epithelial cells was not known. We therefore examined whether NE dysmorphology induced by ORF1p under oxidative stress in human neurons could be restored by Remodelin. NE deformations (i.e invaginations) were clearly restored in cells pre-treated with Remodelin for 24 h (Fig. 7A, B).

Quantification showed that the decrease of nuclear circularity following arsenite treatment was restored by Remodelin (Fig. 7B), which was paralleled by a reduction of nucleoplasmic Lamin B1 levels quantified in Figure 7B. In order to investigate whether Remodelin treatment had an influence on ORF1p levels, we performed ORF1p immunostainings on cells treated or not with Remodelin. Arsenite-induced nuclear ORF1p increase was completely normalized in the presence of Remodelin, both at the inner NE and in the nucleoplasm (Fig. 7C) Interestingly, in these conditions cytoplasmic ORF1p levels remained unchanged at an expected higher level than non-stressed controls. Since Remodelin has been reported to restore a “juvenile” chromatin state in Progeria models <sup>56,57</sup>, we examined H4K20me3, known to repress LINE-1 elements <sup>58,59</sup>. As shown in Figure 7A, H4K20me3 immunostaining was significantly decreased following stress and restored with Remodelin treatment as confirmed by quantification of H4K20me3 intensity in the nucleus (Fig. 7D). This suggests that the decrease of nuclear ORF1p upon Remodelin treatment in stressed cells might induce indirect blockage of nuclear ORF1p translocation. Alternatively, this decrease could also be due to a transcriptional inhibition of LINE-1 or a consequence of deposition of H4K20me3 at LINE-1 loci.

## **Discussion**

In recent years, TEs have emerged as possible new pathogenic players in NDs <sup>5,10,13,19,20,60–62</sup>. However, the mechanisms through which LINE-1 might contribute to the pathogenesis of NDs still remain poorly understood but may potentially implicate cis-genetic or epigenetic, LINE-1 RNA or LINE-1 protein-mediated effects. Concerning the latter, the study of potential pathogenic effects of LINE-1 ORF2p has received most attention due to its enzymatic activities as an endonuclease and reverse transcriptase while ORF1p has widely been reduced to an RNA chaperone with cis-preference for its own RNA and a necessary component of the LINE-1

ribonucleoprotein particle (RNP) for retrotransposition. Previous work suggests that ORF2p is not only a source of genomic instability<sup>3-6,20</sup>, but can also trigger the innate immune response through reverse transcription of RNA generating cytoplasmic ssDNA<sup>6,8,44</sup>. While ORF2p reverse transcriptase activity can be targeted by inhibitors (nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs, i.e. Stavudine), the analysis of ORF2p protein expression and localization remains challenging due to a lack of efficient antibodies and/or its lesser abundance compared to ORF1p (1 ORF2p for 240 ORF1p molecules per LINE-1 RNP<sup>63</sup>). In contrast, no inhibitor has been identified to target ORF1p activity, but effective antibodies are available to explore its expression and subcellular localization in pathological situations. However, a better understanding of the implication of ORF1p in the LINE-1 life cycle and beyond is interesting as accumulating data suggests that full-length LINE-1 are expressed, predominantly in epithelial cancers<sup>64</sup> but also at steady-state in mouse neurons<sup>5</sup>, human neurons<sup>65</sup> and post-mortem brain tissues<sup>66</sup>.

Using a human neuronal model of oxidative stress which displays increased LINE-1 activity as monitored by an increase in ORF1p expression and ORF2p-dependent genomic instability, we observed not only an increase of ORF1p in the cytoplasm, but also a striking translocation of ORF1p to the nucleus. Current consensus postulates that LINE-1 encoded proteins enter the nucleus only during cell cycle<sup>45</sup> which thus would exclude the presence of LINE-1 proteins in the nucleus of non-dividing cells including post-mitotic neurons. However, others have reported the presence of ORF1p in the nucleus in human cells in neurodegenerative context<sup>67</sup>. We also observed ORF1p staining in the nucleus of human dopaminergic neurons *in vitro* and in mouse dopaminergic neurons *in vivo* even at steady-state<sup>5</sup>, and oxidative stress dramatically increases the nuclear translocation of ORF1p. The most probable mode of import for ORF1p is the importin-beta pathway. Indeed, ORF1p, as we show here in neurons and others have shown in HeLa cells<sup>46</sup> binds directly to the importin beta family member KPMB1, which



is a transport mediator carrying cargo proteins through the NPC. This importin-assisted mode of nuclear entry is widely used by several viral proteins<sup>68,69</sup>, certain retrotransposons (i.e Ty1<sup>70</sup>, LINE-1 ORF1p itself<sup>48</sup>) but also a pathological form of Tau which aggregates in neurodegeneration<sup>71</sup>. The binding of ORF1p to KPNB1 does not increase under stress condition indicating that the stress-induced increase of ORF1p nuclear translocation probably requires other protein partners. It is noteworthy that ORF1p, in a stress-dependent manner, accumulates both at the outer NE and the inner NE which corresponds to the nuclear lamina and co-localizes with and binds directly to the NPC protein NUP153. This suggests a NUP153-dependent nuclear import of ORF1p under stress. Indeed, NUP153 binding of cytoplasmic proteins can mediate nuclear import of proteins<sup>72</sup>. ORF1p and NUP153 interaction might be favored by KPNB1, which also binds NUP153<sup>72</sup>. However, both pathways also interact<sup>73</sup> making it difficult to dissect the precise mechanisms.

The small transcriptional increase in LINE-1 RNA following arsenite treatment suggests that the overall increase in ORF1p could be partially transcriptional and partially post-transcriptional, possibly by releasing LINE-1 RNA stored in P-bodies for translation<sup>74,75</sup>. Once ORF1p translocates to the nucleus, it accumulates at the inner NE by directly binding to Lamin B1 in a stress-specific manner. This targeting of the inner NE by ORF1p is paralleled by NE dysmorphology including invaginations and blebs which significantly correlated with ORF1p intensity, both in the nucleus and the inner NE, suggesting that it is the stress-dependent nuclear translocation of ORF1p and the direct binding to Lamin B1 that participate in NE dysmorphology. A direct functional role of ORF1p in NE dysmorphology independent of oxidative stress is further supported by direct ORF1p gain of function experiments showing that neurons over-expressing ORF1p (and not ORF2p) display a significant decrease of nuclear circularity. These experiments also suggest that NE dysmorphology is mediated by the nuclear presence of ORF1p alone and does not rely on the presence of the entire RNP or ORF2p. NE

dysmorphology is associated with NCT deficiencies <sup>76</sup> and both have been described to be disturbed in the context of NDs <sup>51,77-83</sup>. Indeed, targeting of the NE by ORF1p in neurons was accompanied by NCT deficiencies as revealed by the mislocalization and abnormal and compartmentalized accumulation of several proteins involved in NCT function, some of which interact with ORF1p directly (KPNB1 and NUP153) or do not interact (i.e. RANgap1). KPNB1 sequestration by binding to ORF1p might alter nuclear import but could also inhibit its important disaggregase function <sup>84</sup>. Analogous, the abnormal localization of NUP153 in the nucleoplasm suggests an alteration of its physiological function, potentially mediated by the interaction with ORF1p as illustrated by the accumulation of nucleoplasmic PLA foci. Nucleoporins are long-lived proteins <sup>85,86</sup> and rely on cell division for their renewal. Post-mitotic neurons do not divide and nucleoporins therefore are not renewed <sup>87,88</sup>. Their continuous functioning in non-dividing cells throughout the life time of an individual is thus of crucial importance and any perturbations will have potentially irreversible consequences <sup>87</sup>. Indeed abnormal intranuclear and/or cytoplasmic accumulation of nucleoporins (such as NUP62, NUP88) have been described in the context of NDs (i.e, HD) <sup>83</sup>. Similarly, delocalization and abnormal cytoplasmic accumulation of RANgap1, a protein with GTPase activity involved in maintaining a RAN gradient required for NCT, have been described in ND-affected tissues <sup>49</sup>.

NCT deficiencies have been consistently linked to the abnormal subcellular distribution of TDP-43, a nuclear protein involved in RNA metabolism <sup>89,90</sup>, mutated in ALS/FTD <sup>91-94</sup> and mislocalized to the cytoplasm in numerous NDs <sup>49-51</sup> not linked to TDP-43 mutations. Indeed, in our model, NCT deficiencies as a consequence of mislocalized NCT proteins resulted in the cytoplasmic accumulation of TDP-43. TDP-43 exits the nucleus through passive <sup>95</sup> or active nuclear export <sup>96</sup> through nuclear pores. We also observed an increase in the nuclear pool which could be indicative of a perturbed export mechanism of this shuttling protein <sup>97</sup>. Together, our

results suggest a possible scenario in which ORF1p might sequester and/or mislocalize NE components such as Lamin B1 or NUP153 (see below).

NE alteration and NCT defects are emerging pathogenic features in several NDs <sup>77,98,99</sup> including HD <sup>81</sup>, ALS/FTD <sup>82</sup>, PD <sup>79</sup>, AD <sup>98,99</sup> and more generally in the context of tauopathies <sup>100</sup>. For example, aggregated Tau directly interacts with the nuclear pore complex <sup>98</sup> and oligomeric Tau with lamin proteins <sup>101</sup> resulting in loss of nuclear integrity including NCT failure <sup>76</sup>, similar to what we describe here. Loss of nuclear integrity in the form of NE deformation and loss of NE function has been extensively described in the context of aging <sup>102</sup> including in the brain <sup>103</sup> with associated changes in chromatin organization and NCT dysfunction <sup>99,103–105</sup>. Progerin, a mutant form of lamin A, is the cause of the premature aging syndrome Hutchinson-Gilford progeria. Similar to mutant Tau, it accumulates at the NE and disrupts NE morphology, NCT and chromatin organization <sup>56</sup>. In cellular and mouse models of accelerated aging, these alterations can be successfully corrected by treatment with the small molecule Remodelin <sup>56,57</sup>. Remodelin acts by inhibiting the acetyltransferase NAT10 <sup>56</sup>. In our model of oxidative stress, pre-treatment of neurons with Remodelin 24 h prior to arsenite application restored, just as in progeria cells, NE abnormalities. In parallel, Remodelin decreased nuclear ORF1p while not affecting cytoplasmic ORF1p content. Remodelin might thus, through the restoration of the nuclear architecture, prevent ORF1p nuclear translocation and therefore further ORF1p-induced NE dysmorphology. Nuclear lamina-alterations do not only affect NCT but alter global chromatin organization <sup>106</sup> and potentially cell type specific gene expression <sup>107</sup>. Chromatin organization in cells is spatial and specific heterochromatin domains are directly linked to the nuclear lamina, called lamina-associated domains (LADs). One marker associated with LADs is H4K20me3, a repressive heterochromatin mark known to silence LINE-1 elements <sup>59</sup>. Indeed, oxidative stress induced a global loss of H4K20me3 which is rescued by Remodelin pre-treatment. Together, these data indicate that Remodelin can

preserve and/or restore nuclear integrity of neurons including chromatin disorganization induced by oxidative stress possibly or at least partly through an inhibitory effect on ORF1p nuclear translocation. The destructurement of nuclear lamina-anchored heterochromatin as indicated by the delocalization of H4K20me3 from the nuclear periphery could lead to the expression of genes normally repressed in post-mitotic neurons leading to neuronal fate loss, an emerging feature of aging and NDs <sup>108</sup>. Indeed, mutated Tau can lead to chromatin relaxation, re-expression of certain fetal genes in the brain in a fly model <sup>18</sup> and activation of TEs <sup>14,18</sup>. Further, the loss of H4K20me3 at the nuclear periphery could either be the source of LINE-1 activation (as H4K20me3 is a repressive mark known to decorate repeat DNA <sup>109,110</sup>) or the consequence of nuclear ORF1p translocation leading to a decrease in H4K20me3 through a yet to be identified mechanism. This would indeed lead to the amplification of the initial stress-induced increase in LINE-1 via a positive feedback loop. Another possibility is an adaptive response aimed at protecting the genome from damage as a short-term response to deformation <sup>111-113</sup>.

Recent studies have shown that aggregated proteins such as Tau <sup>71,114</sup>, mutant Huntingtin <sup>81</sup> and C9ORF72 poly(GA) <sup>49</sup> can target the NE and alter its integrity and function. Our data suggests that ORF1p might have a pathogenic action similar to ND-linked proteins by perturbing nuclear integrity. In addition, stress-granule independent cytoplasmic TDP-43 droplets can drive nuclear import defects and cell death <sup>115</sup>. Whether nuclear import defects are driven by a direct ORF1p dependent mechanism or via ORF1p-dependent TDP-43 cytoplasmic accumulation remains to be determined.

Condensation is a feature of ORF1p which is intrinsic to its role in LINE-1 mobilization <sup>116</sup>. We observed large ORF1p foci at the level of NE invaginations and an increase in the size of cytoplasmic and nuclear ORF1p foci (dots) indicative of ORF1p condensation. Whether ORF1p itself might be aggregation-prone or participate in the organization of LLPS (Liquid

liquid phase separation)-related cytoplasmic or nuclear membraneless organelles requires further investigation.

In conclusion, we provide evidence that the LINE-1 encoded protein ORF1p, independent on the LINE-1 RNP or ORF2p, translocates to the nucleus upon cellular stress in an importin-beta and NUP153 involving process. Upon translocation, ORF1p binds to Lamin B1 and sequesters and/or mislocalizes this protein, which is essential to NE integrity, leading to further deformation of the NE. In parallel, while entering the nucleus through nuclear pores, ORF1p binds to NUP153, leading to its mislocalization to the nucleoplasm and thereby contributing to NCT deficiencies including the cytoplasmic accumulation of TDP-43. NE deformation is associated with chromatin disorganization as illustrated by HP1 loss at the inner NE and global H4K20me3 depletion in the nucleus. Nuclear deformation and chromatin disorganization upon cell stress were rescued by the small molecule Remodelin which might indirectly act as an inhibitor of ORF1p nuclear translocation. This suggests that LINE-1 encoded protein ORF1p, for which no pathogenic function had yet been assigned, might play a pathogenic role by targeting the NE. As LINE-1 activation is a recurring observation in several neurological diseases <sup>117-123</sup>, in the aging process <sup>6</sup> and more generally upon oxidative stress <sup>5</sup> and if this activation includes full-length LINE-1 elements with coding potential, the result could be an increase in ORF1p, in addition to ORF2p and LINE-1 RNA. Passing a certain threshold and in conjunction with a fragilization of the NE either through aging, ND-linked mutated proteins known to affect the NE or oxidative stress, this then might trigger the nuclear translocation of ORF1p contributing to NE deformation and NCT dysfunction. One consequence we identified is the cytoplasmic accumulation of TDP-43 which could favor its aggregation <sup>124</sup>, one of the hallmarks of several NDs <sup>49-51</sup>.

Activation of LINE-1 elements in neurons, through ORF2p-induced genomic instability <sup>5</sup>, ORF2p-induced inflammation <sup>6,8,44</sup> or LINE-1 RNA mediated heterochromatin erosion <sup>125</sup> and,

as we show here, through the ORF1-dependent fragilization of nuclear integrity could contribute in multiple ways to pathological features common to several NDs. This reinforces the idea that LINE-1 elements might represent a novel therapeutic target for neuroprotection.

### **Acknowledgements**

RZ acknowledges the Fondation Recherche Alzheimer (FRA) for a Ph.D. fellowship and is enrolled with the Ecole Doctorale ED3C at Sorbonne University. This work was supported by grants to JF from the Fondation de France (00086320), the Fondation du Collège de France, the Fondation NRJ/Institut de France and the National French Agency for Research (ANR-20-CE16-0022 NEURAGE). We gratefully acknowledge Julien Dumont and the Collège de France Orion imaging facility (IMACHEM-IBiSA), member of the French National Research Infrastructure France-BioImaging (ANR-10-INBS-04), which received support from the program «Investissements d’Avenir» ANR-10-LABX-54 MEMOLIFE. We also thank the Fondation Bettencourt Schueller for their support.

### **Author contributions**

RZ performed most of the experiments. OMB contributed experimentally, PM and HM wrote the scripts for the automated image analysis workflow, RLJ and JF supervised the study and wrote the paper with RZ. JF received the funding.

## Figure Legends

### **Figure 1. LINE-1 are upregulated in differentiated LUHMES cells following stress.**

(A) Experimental paradigm of the differentiation scheme of LUHMES neuronal precursor cells into mature, post-mitotic dopaminergic neurons. At day 5 of differentiation, neurons were subjected to an oxidative stress using Arsenite ( $\text{NaAsO}_2$ ). (B) After 5 days of differentiation, LUHMES cells express the neuronal marker Tuj1 and the dopaminergic marker TH as revealed by immunofluorescence. These neurons express LINE-1 at steady-state as shown by immunostaining for ORF1p protein. (C) Differentiated LUHMES neurons subjected to Arsenite treatment, show increased levels of ORF1p protein by Western blot analysis.  $n = 3$  wells per condition from 4 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (D) Immunostaining for LINE-1 ORF1p of differentiated LUHMES cells treated with Arsenite and quantification of global ORF1p intensity,  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (E) Immunostaining of  $\gamma\text{H2AX}$  following Arsenite treatment in the presence or the absence of Stavudine and quantification of  $\gamma\text{H2AX}$  foci number in the nucleus.  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 2 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test (\* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ ). (Also see supplementary Fig. 1). Scale bar, 5  $\mu\text{m}$ .

**Figure 2. ORF1p increases, changes its conformational pattern and translocates to the nucleus following oxidative stress.**

(A) Immunostaining for LINE-1 ORF1p of differentiated LUHMES cells treated with Arsenite. (B) Quantification of ORF1p intensity both in the cytoplasm and the nucleus in the presence and the absence of stress.  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 8 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (C) Scheme of the script (for details see Materials and Methods) for ORF1p quantification in the cytoplasmic, nuclear (nucleoplasm = nucleus – inner NE) and inner and outer NE compartments. (D) Quantification of the number and volume of ORF1p positive dots shown in ROI (region of interest) in (A) in the cytoplasm and the nucleus using the same script,  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 8 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. Quantification of ORF1p signal at the nuclear envelope by an in-house script as schematized in (E) (for details see Materiel and Methods) shows increased ORF1p intensity at the inner NE and outer NE (F),  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 5 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ . Scale bar, 5  $\mu\text{m}$ .

**Figure 3. ORF1p association with nuclear envelope components and nuclear transport proteins increases upon oxidative stress.**

(A) Co-immunostaining of ORF1p and Lamin B1 reveals their colocalization (yellow). (B) Validation of ORF1p interaction with Lamin B1 by co-immunoprecipitation and Western-blotting. (C) Direct interaction of ORF1p with Lamin B1 was revealed by PLA and quantified in (D),  $n > 50$  neurons were quantified per condition, (3 wells per condition) (E) Co-immunostaining of ORF1p and KPNB1 or NUP153. (F) Validation of a direct interaction between ORF1p and KPNB1 or NUP153 by PLA. The quantification in separate cellular compartments is shown in (G, H),  $n > 50$  neurons were quantified per condition, (3 wells per



condition), mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\*p < 0.5, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001, \*\*\*\*p < 0.0001).

Scale bar, 5  $\mu$ m.

**Figure 4. Stress induced association of ORF1p to the nuclear envelope leads to nuclear envelope dysmorphology.**

(A) Nuclear envelope dysmorphology in the Arsenite stress model revealed by co-immunostaining of ORF1p and LaminB1 quantified in (B). The percentage of deformed cells was quantified in > 10 images per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments is shown, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (C) These deformations are paralleled by an increase of Lamin B1 at the inner NE and in the nucleoplasm. (D) Quantification of nuclear dysmorphology by analyzing nuclear circularity using a dedicated script (for details see Material and Methods) based on Lamin B1 as a mask, shows decreased circularity under stress conditions. n > 100 neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 5 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (E) Correlation of ORF1p intensity per cell in the nucleus or at the inner NE with nuclear circularity. n > 100 neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (F) Immunostaining of HP1 in stressed cells and the ratio of HP1 intensity in the nucleoplasm over the nuclear periphery (inner NE). n > 100 neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (G) Immunostaining of H4K20me3 repressive histone mark in stressed and control cells and its quantification in the nucleus. n > 100 neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\*p < 0.5, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001, \*\*\*\*p < 0.0001). Scale bar, 5  $\mu$ m.

**Figure 5. Stress induced association of ORF1p with the nuclear envelope is accompanied by nucleo-cytoplasmic transport defect.**

(A) Immunostaining of KPNB1 in oxidative stress conditions and quantification of the intensity levels, the number and the volume of dots in the cytoplasm. (B) Immunostaining of NPC protein RANgap1 in oxidative stress conditions and quantification of the intensity levels, the number and the volume of dots in the cytoplasm. (C) Immunostaining of TDP-43 in oxidative stress conditions and quantification of the intensity levels, the number and the volume of dots in the cytoplasm. (D) Immunostaining of NUP153 in oxidative stress conditions and quantification of the intensity levels in the nucleoplasm and the cytoplasm.  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ ). Scale bar, 5  $\mu\text{m}$ .

**Figure 6. Over-expression of LINE-1 ORF1p leads to nuclear envelope deformation and nucleo-cytoplasmic transport defects in the absence of stress.**

(A) Co-Immunostaining of HA and Lamin B1 in cells transfected with pcDNA3-ORF1-HA or with pGFP as a control. (B) Quantification of the nuclear circularity index, Lamin B1 intensity in the nucleoplasm and correlation of HA-ORF1p intensity per cell in the nucleus with nuclear circularity.  $n > 90$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (C) Immunostaining of HA and RANgap1 in cells transfected with pcDNA3-ORF1-HA or with pGFP as a control. (D) Quantification of cytoplasmic RANgap1 intensity in transfected cells with pHA-ORF1 or pGFP as a control.  $n > 90$  neurons were quantified per condition (3 wells per condition), mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (E) Immunostaining of HA and TDP-43 in cells

transfected with pcDNA3-ORF1-HA or with pGFP as a control. (F) Quantification of cytoplasmic and nuclear TDP-43 signal in cells transfected with pHA-ORF1 or pGFP as a control.  $n > 100$  neurons were quantified per condition (3 wells per condition), mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ ). Scale bar, 5  $\mu\text{m}$ .

**Figure 7. Restauration of nuclear alterations by the small molecule Remodelin**

(A) Immunostaining of ORF1p, LaminB1 and H4k20me3 of neurons with or without Remodelin pre-treatment 24 h before addition of Arsenite or sham. (B) Quantification of nuclear circularity and Lamin B1 intensity in the nucleoplasm. (C) Quantification of ORF1p intensity in the nucleus, in the inner NE and in the cytoplasm. (D) Quantification of H4k20me3 intensity in the nucleus.  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment (3 wells per condition) of 3 independent experiments, mean  $\pm$  SEM, One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test (\* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ ). Scale bar, 5  $\mu\text{m}$ .

## References

1. International Human Genome Sequencing Consortium, Whitehead Institute for Biomedical Research, Center for Genome Research., Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M.C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., et al. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* *409*, 860–921. 10.1038/35057062.
2. Penzkofer, T., Jäger, M., Figlerowicz, M., Badge, R., Mundlos, S., Robinson, P.N., and Zemojtel, T. (2017). L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes. *Nucleic Acids Res* *45*, D68–D73. 10.1093/nar/gkw925.
3. Gasior, S.L., Wakeman, T.P., Xu, B., and Deininger, P.L. (2006). The Human LINE-1 Retrotransposon Creates DNA Double-strand Breaks. *Journal of Molecular Biology* *357*, 1383–1393. 10.1016/j.jmb.2006.01.089.
4. Belgnaoui, S.M., Gosden, R.G., Semmes, O.J., and Haoudi, A. (2006). Human LINE-1 retrotransposon induces DNA damage and apoptosis in cancer cells. *Cancer Cell International* *6*, 13. 10.1186/1475-2867-6-13.
5. Blaudin de Thé, F., Rekaik, H., Peze-Heidsieck, E., Massiani-Beaudoin, O., Joshi, R.L., Fuchs, J., and Prochiantz, A. (2018). Engrailed homeoprotein blocks degeneration in adult dopaminergic neurons through LINE-1 repression. *EMBO J* *37*. 10.15252/emj.201797374.
6. Simon, M., Van Meter, M., Ablaeva, J., Ke, Z., Gonzalez, R.S., Taguchi, T., De Cecco, M., Leonova, K.I., Kogan, V., Helfand, S.L., et al. (2019). LINE1 Derepression in Aged Wild-Type and SIRT6-Deficient Mice Drives Inflammation. *Cell Metabolism* *29*, 871-885.e5. 10.1016/j.cmet.2019.02.014.
7. Thomas, C.A., Tejwani, L., Trujillo, C.A., Negraes, P.D., Herai, R.H., Mesci, P., Macia, A., Crow, Y.J., and Muotri, A.R. (2017). Modeling of TREX1-Dependent Autoimmune

Disease using Human Stem Cells Highlights L1 Accumulation as a Source of Neuroinflammation. *Cell Stem Cell* 21, 319-331.e8. 10.1016/j.stem.2017.07.009.

8. De Cecco, M., Ito, T., Petrashen, A.P., Elias, A.E., Skvir, N.J., Criscione, S.W., Caligiana, A., Broccoli, G., Adney, E.M., Boeke, J.D., et al. (2019). Author Correction: L1 drives IFN in senescent cells and promotes age-associated inflammation. *Nature* 572, E5–E5. 10.1038/s41586-019-1350-9.

9. Douville, R., Liu, J., Rothstein, J., and Nath, A. (2011). Identification of active loci of a human endogenous retrovirus in neurons of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 69, 141–151. 10.1002/ana.22149.

10. Li, W., Jin, Y., Prazak, L., Hammell, M., and Dubnau, J. (2012). Transposable Elements in TDP-43-Mediated Neurodegenerative Disorders. *PLoS ONE* 7, e44099. 10.1371/journal.pone.0044099.

11. Krug, L., Chatterjee, N., Borges-Monroy, R., Hearn, S., Liao, W.-W., Morrill, K., Prazak, L., Rozhkov, N., Theodorou, D., Hammell, M., et al. (2017). Retrotransposon activation contributes to neurodegeneration in a *Drosophila* TDP-43 model of ALS. *PLoS Genet* 13, e1006635. 10.1371/journal.pgen.1006635.

12. Prudencio, M., Gonzales, P.K., Cook, C.N., Gendron, T.F., Daugherty, L.M., Song, Y., Ebbert, M.T.W., van Blitterswijk, M., Zhang, Y.-J., Jansen-West, K., et al. (2017). Repetitive element transcripts are elevated in the brain of C9orf72 ALS/FTLD patients. *Human Molecular Genetics* 26, 3421–3431. 10.1093/hmg/ddx233.

13. Sun, W., Samimi, H., Gamez, M., Zare, H., and Frost, B. (2018). Pathogenic tau-induced piRNA depletion promotes neuronal death through transposable element dysregulation in neurodegenerative tauopathies. *Nat Neurosci* 21, 1038–1048. 10.1038/s41593-018-0194-1.

14. Guo, C., Jeong, H.-H., Hsieh, Y.-C., Klein, H.-U., Bennett, D.A., De Jager, P.L., Liu, Z., and Shulman, J.M. (2018). Tau Activates Transposable Elements in Alzheimer's Disease.

Cell Reports 23, 2874–2880. 10.1016/j.celrep.2018.05.004.

15. Gan, L., Cookson, M.R., Petrucelli, L., and La Spada, A.R. (2018). Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. *Nat Neurosci* 21, 1300–1309. 10.1038/s41593-018-0237-7.
16. Fu, H., Hardy, J., and Duff, K.E. (2018). Selective vulnerability in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci* 21, 1350–1358. 10.1038/s41593-018-0221-2.
17. Ravel-Godreuil, C., Massiani-Beaudoin, O., Mailly, P., Prochiantz, A., Joshi, R.L., and Fuchs, J. (2021). Perturbed DNA methylation by Gadd45b induces chromatin disorganization, DNA strand breaks and dopaminergic neuron death. *iScience* 24, 102756. 10.1016/j.isci.2021.102756.
18. Frost, B., Hemberg, M., Lewis, J., and Feany, M.B. (2014). Tau promotes neurodegeneration through global chromatin relaxation. *Nat Neurosci* 17, 357–366. 10.1038/nn.3639.
19. Rekaik, H., Blaudin de Thé, F.-X., Fuchs, J., Massiani-Beaudoin, O., Prochiantz, A., and Joshi, R.L. (2015). Engrailed Homeoprotein Protects Mesencephalic Dopaminergic Neurons from Oxidative Stress. *Cell Reports* 13, 242–250. 10.1016/j.celrep.2015.08.076.
20. Peze-Heidsieck, E., Bonnifet, T., Znaidi, R., Ravel-Godreuil, C., Massiani-Beaudoin, O., Joshi, R.L., and Fuchs, J. (2022). Retrotransposons as a Source of DNA Damage in Neurodegeneration. *Frontiers in Aging Neuroscience* 13.
21. Lotharius, J., Barg, S., Wiekop, P., Lundberg, C., Raymon, H.K., and Brundin, P. (2002). Effect of Mutant  $\alpha$ -Synuclein on Dopamine Homeostasis in a New Human Mesencephalic Cell Line. *Journal of Biological Chemistry* 277, 38884–38894. 10.1074/jbc.M205518200.
22. Lotharius, J., Falsig, J., Van Beek, J., Payne, S., Dringen, R., Brundin, P., and Leist, M. (2005). Progressive Degeneration of Human Mesencephalic Neuron-Derived Cells Triggered

by Dopamine-Dependent Oxidative Stress Is Dependent on the Mixed-Lineage Kinase Pathway. *J. Neurosci.* 25, 6329–6342. 10.1523/JNEUROSCI.1746-05.2005.

23. Scholz, D., Pörtl, D., Genewsky, A., Weng, M., Waldmann, T., Schildknecht, S., and Leist, M. (2011). Rapid, complete and large-scale generation of post-mitotic neurons from the human LUHMES cell line: LUHMES as widely applicable neuronal model system. *Journal of Neurochemistry* 119, 957–971. 10.1111/j.1471-4159.2011.07255.x.

24. Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., et al. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 9, 676–682. 10.1038/nmeth.2019.

25. Linkert, M., Rueden, C.T., Allan, C., Burel, J.-M., Moore, W., Patterson, A., Loranger, B., Moore, J., Neves, C., MacDonald, D., et al. (2010). Metadata matters: access to image data in the real world. *Journal of Cell Biology* 189, 777–782. 10.1083/jcb.201004104.

26. Ollion, J., Cochenec, J., Loll, F., Escudé, C., and Boudier, T. (2013). TANGO: a generic tool for high-throughput 3D image analysis for studying nuclear organization. *Bioinformatics* 29, 1840–1841. 10.1093/bioinformatics/btt276.

27. Stringer, C., Wang, T., Michaelos, M., and Pachitariu, M. (2021). Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation. *Nature Methods* 18, 100–107.

28. Schmidt, U., Weigert, M., Broaddus, C., and Myers, G. (2018). Cell Detection with Star-Convex Polygons. In *Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention – MICCAI 2018 Lecture Notes in Computer Science.*, A. F. Frangi, J. A. Schnabel, C. Davatzikos, C. Alberola-López, and G. Fichtinger, eds. (Springer International Publishing), pp. 265–273. 10.1007/978-3-030-00934-2\_30.

29. Haase, R., Royer, L.A., Steinbach, P., Schmidt, D., Dibrov, A., Schmidt, U., Weigert, M., Maghelli, N., Tomancak, P., Jug, F., et al. (2020). CLIJ: GPU-accelerated image processing for everyone. *Nat Methods* 17, 5–6. 10.1038/s41592-019-0650-1.

30. Zhang, X., Yin, M., and Zhang, M. (2014). Cell-based assays for Parkinson's disease using differentiated human LUHMES cells. *Acta Pharmacol Sin* 35, 945–956. 10.1038/aps.2014.36.
31. Harris, G., Hogberg, H., Hartung, T., and Smirnova, L. (2017). 3D Differentiation of LUHMES Cell Line to Study Recovery and Delayed Neurotoxic Effects. *Current Protocols in Toxicology* 73, 11.23.1-11.23.28. 10.1002/cptx.29.
32. Harischandra, D.S., Rokad, D., Ghaisas, S., Verma, S., Robertson, A., Jin, H., Anantharam, V., Kanthasamy, A., and Kanthasamy, A.G. (2020). Enhanced differentiation of human dopaminergic neuronal cell model for preclinical translational research in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1866, 165533. 10.1016/j.bbadis.2019.165533.
33. Junqueira, V.B.C., Barros, S.B.M., Chan, S.S., Rodrigues, L., Giavarotti, L., Abud, R.L., and Deucher, G.P. (2004). Aging and oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine* 25, 5–16. 10.1016/j.mam.2004.02.003.
34. Romano, A.D., Serviddio, G., de Matthaëis, A., Bellanti, F., and Vendemiale, G. (2010). Oxidative stress and aging. *J Nephrol* 23 *Suppl* 15, S29-36.
35. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., et al. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *CIA Volume* 13, 757–772. 10.2147/CIA.S158513.
36. Hayes, J.D., Dinkova-Kostova, A.T., and Tew, K.D. (2020). Oxidative Stress in Cancer. *Cancer Cell* 38, 167–197. 10.1016/j.ccell.2020.06.001.
37. Emerit, J., Edeas, M., and Bricaire, F. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 58, 39–46. 10.1016/j.biopha.2003.11.004.
38. Chen, X., Guo, C., and Kong, J. (2012). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res* 7, 376–385. 10.3969/j.issn.1673-5374.2012.05.009.



39. Kim, G.H., Kim, J.E., Rhie, S.J., and Yoon, S. (2015). The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol* *24*, 325–340. 10.5607/en.2015.24.4.325.
40. Fischer, R., and Maier, O. (2015). Interrelation of Oxidative Stress and Inflammation in Neurodegenerative Disease: Role of TNF. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* *2015*, e610813. 10.1155/2015/610813.
41. Giorgi, G., Marcantonio, P., and Del Re, B. (2011). LINE-1 retrotransposition in human neuroblastoma cells is affected by oxidative stress. *Cell Tissue Res* *346*, 383–391. 10.1007/s00441-011-1289-0.
42. Wongpaiboonwattana, W., Tosukhowong, P., Dissayabuttra, T., Mutirangura, A., and Boonla, C. (2013). Oxidative Stress Induces Hypomethylation of LINE-1 and Hypermethylation of the RUNX3 Promoter in a Bladder Cancer Cell Line. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* *14*, 3773–3778. 10.7314/APJCP.2013.14.6.3773.
43. Whongsiri, P., Pimratana, C., Wijitsettakul, U., Sanpavat, A., Jindatip, D., Hoffmann, M.J., Goering, W., Schulz, W.A., and Boonla, C. (2019). Oxidative stress and LINE-1 reactivation in bladder cancer are epigenetically linked through active chromatin formation. *Free Radical Biology and Medicine* *134*, 419–428. 10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.031.
44. Thomas, C.A., Tejwani, L., Trujillo, C.A., Negraes, P.D., Herai, R.H., Mesci, P., Macia, A., Crow, Y.J., and Muotri, A.R. (2017). Modeling of TREX1-Dependent Autoimmune Disease using Human Stem Cells Highlights L1 Accumulation as a Source of Neuroinflammation. *Cell Stem Cell* *21*, 319-331.e8. 10.1016/j.stem.2017.07.009.
45. Mita, P., Wudzinska, A., Sun, X., Andrade, J., Nayak, S., Kahler, D.J., Badri, S., LaCava, J., Ueberheide, B., Yun, C.Y., et al. (2018). LINE-1 protein localization and functional dynamics during the cell cycle. *eLife* *7*, e30058. 10.7554/eLife.30058.
46. Freeman, B.T., Sokolowski, M., Roy-Engel, A.M., Smither, M.E., and Belancio, V.P. (2019). Identification of charged amino acids required for nuclear localization of human L1

ORF1 protein. *Mobile DNA* 10, 20. 10.1186/s13100-019-0159-2.

47. Kapinos, L.E., Huang, B., Rencurel, C., and Lim, R.Y.H. (2017). Karyopherins regulate nuclear pore complex barrier and transport function. *Journal of Cell Biology* 216, 3609–3624. 10.1083/jcb.201702092.
48. Idica, A., Sevrioukov, E.A., Zisoulis, D.G., Hamdorf, M., Daugaard, I., Kadandale, P., and Pedersen, I.M. (2017). MicroRNA miR-128 represses LINE-1 (L1) retrotransposition by down-regulating the nuclear import factor TNPO1. *Journal of Biological Chemistry* 292, 20494–20508. 10.1074/jbc.M117.807677.
49. Zhang, K., Donnelly, C.J., Haeusler, A.R., Grima, J.C., Machamer, J.B., Steinwald, P., Daley, E.L., Miller, S.J., Cunningham, K.M., Vidensky, S., et al. (2015). The C9orf72 repeat expansion disrupts nucleocytoplasmic transport. *Nature* 525, 56–61. 10.1038/nature14973.
50. Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C.M., et al. (2006). Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* 314, 130–133. 10.1126/science.1134108.
51. Aizawa, H., Yamashita, T., Kato, H., Kimura, T., and Kwak, S. (2019). Impaired Nucleoporins Are Present in Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Motor Neurons that Exhibit Mislocalization of the 43-kDa TAR DNA-Binding Protein. *J Clin Neurol* 15, 62. 10.3988/jcn.2019.15.1.62.
52. Scaffidi, P., and Misteli, T. (2006). Lamin A-Dependent Nuclear Defects in Human Aging. *Science* 312, 1059–1063. 10.1126/science.1127168.
53. Worman, H.J. (2012). Nuclear lamins and laminopathies. *The Journal of Pathology* 226, 316–325. 10.1002/path.2999.
54. Stiekema, M., van Zandvoort, M.A.M.J., Ramaekers, F.C.S., and Broers, J.L.V. (2020). Structural and Mechanical Aberrations of the Nuclear Lamina in Disease. *Cells* 9, 1884.

10.3390/cells9081884.

55. De Sandre-Giovannoli, A., Bernard, R., Cau, P., Navarro, C., Amiel, J., Boccaccio, I., Lyonnet, S., Stewart, C.L., Munnich, A., Le Merrer, M., et al. (2003). Lamin A Truncation in Hutchinson-Gilford Progeria. *Science* 300, 2055–2055. 10.1126/science.1084125.
56. Larrieu, D., Viré, E., Robson, S., Breusegem, S.Y., Kouzarides, T., and Jackson, S.P. (2018). Inhibition of the acetyltransferase NAT10 normalizes progeric and aging cells by rebalancing the Transportin-1 nuclear import pathway. *Science Signaling* 11, eaar5401. 10.1126/scisignal.aar5401.
57. Larrieu, D., Britton, S., Demir, M., Rodriguez, R., and Jackson, S.P. (2014). Chemical Inhibition of NAT10 Corrects Defects of Laminopathic Cells. *Science* 344, 527–532. 10.1126/science.1252651.
58. Rangasamy, D. (2013). Distinctive patterns of epigenetic marks are associated with promoter regions of mouse LINE-1 and LTR retrotransposons. *Mobile DNA* 4, 27. 10.1186/1759-8753-4-27.
59. Ren, W., Fan, H., Grimm, S.A., Kim, J.J., Li, L., Guo, Y., Petell, C.J., Tan, X.-F., Zhang, Z.-M., Coan, J.P., et al. (2021). DNMT1 reads heterochromatic H4K20me3 to reinforce LINE-1 DNA methylation. *Nat Commun* 12, 2490. 10.1038/s41467-021-22665-4.
60. Casale, A.M., Liguori, F., Ansaloni, F., Cappucci, U., Finaurini, S., Spirito, G., Persichetti, F., Sanges, R., Gustincich, S., and Piacentini, L. (2021). Transposable element activation promotes neurodegeneration in a *Drosophila* model of Huntington's disease. *iScience* 25, 103702. 10.1016/j.isci.2021.103702.
61. Tam, O.H., Rozhkov, N.V., Shaw, R., Kim, D., Hubbard, I., Fennessey, S., Propp, N., Fagegaltier, D., Harris, B.T., Ostrow, L.W., et al. (2019). Postmortem Cortex Samples Identify Distinct Molecular Subtypes of ALS: Retrotransposon Activation, Oxidative Stress, and Activated Glia. *Cell Reports* 29, 1164-1177.e5. 10.1016/j.celrep.2019.09.066.

62. Ravel-Godreuil, C., Znaidi, R., Bonnifet, T., Joshi, R.L., and Fuchs, J. (2021). Transposable elements as new players in neurodegenerative diseases. *FEBS Letters* 595, 2733–2755. 10.1002/1873-3468.14205.
63. Dai, L., LaCava, J., Taylor, M.S., and Boeke, J.D. (2014). Expression and detection of LINE-1 ORF-encoded proteins. *Mobile Genetic Elements*. 10.4161/mge.29319.
64. Rangasamy, D., Lenka, N., Ohms, S., Dahlstrom, J.E., Blackburn, A.C., and Board, P.G. (2015). Activation of LINE-1 Retrotransposon Increases the Risk of Epithelial-Mesenchymal Transition and Metastasis in Epithelial Cancer. *Current Molecular Medicine* 15, 588–597.
65. Macia, A., Widmann, T.J., Heras, S.R., Ayllon, V., Sanchez, L., Benkaddour-Boumzaouad, M., Muñoz-Lopez, M., Rubio, A., Amador-Cubero, S., Blanco-Jimenez, E., et al. (2017). Engineered LINE-1 retrotransposition in nondividing human neurons. *Genome Res*. 27, 335–348. 10.1101/gr.206805.116.
66. Sur, D., Kustwar, R.K., Budania, S., Mahadevan, A., Hancks, D.C., Yadav, V., Shankar, S.K., and Mandal, P.K. (2017). Detection of the LINE-1 retrotransposon RNA-binding protein ORF1p in different anatomical regions of the human brain. *Mobile DNA* 8, 17. 10.1186/s13100-017-0101-4.
67. Pereira, G.C., Sanchez, L., Schaugency, P.M., Rubio-Roldán, A., Choi, J.A., Planet, E., Batra, R., Turelli, P., Trono, D., Ostrow, L.W., et al. (2018). Properties of LINE-1 proteins and repeat element expression in the context of amyotrophic lateral sclerosis. *Mobile DNA* 9, 35. 10.1186/s13100-018-0138-z.
68. Twyffels, L., Gueydan, C., and Kruys, V. (2014). Transportin-1 and Transportin-2: Protein nuclear import and beyond. *FEBS Letters* 588, 1857–1868. 10.1016/j.febslet.2014.04.023.
69. Kimura, M., Okumura, N., Kose, S., Takao, T., and Imamoto, N. (2013). Identification

of Cargo Proteins Specific for Importin- $\beta$  with Importin- $\alpha$  Applying a Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture (SILAC)-based in Vitro Transport System \*. *Journal of Biological Chemistry* 288, 24540–24549. 10.1074/jbc.M113.489286.

70. Manhas, S., Ma, L., and Measday, V. (2018). The yeast Ty1 retrotransposon requires components of the nuclear pore complex for transcription and genomic integration. *Nucleic Acids Research* 46, 3552–3578. 10.1093/nar/gky109.

71. Candia, R.F., Cohen, L.S., Morozova, V., Corbo, C., and Alonso, A.D. (2022). Importin-Mediated Pathological Tau Nuclear Translocation Causes Disruption of the Nuclear Lamina, TDP-43 Mislocalization and Cell Death. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 15.

72. Ando, Y., Tomaru, Y., Morinaga, A., Burroughs, A.M., Kawaji, H., Kubosaki, A., Kimura, R., Tagata, M., Ino, Y., Hirano, H., et al. (2011). Nuclear Pore Complex Protein Mediated Nuclear Localization of Dicer Protein in Human Cells. *PLoS ONE* 6, e23385. 10.1371/journal.pone.0023385.

73. Walther, T.C., Fornerod, M., Pickersgill, H., Goldberg, M., Allen, T.D., and Mattaj, I.W. (2001). The nucleoporin Nup153 is required for nuclear pore basket formation, nuclear pore complex anchoring and import of a subset of nuclear proteins. *The EMBO Journal* 20, 5703–5714. 10.1093/emboj/20.20.5703.

74. Arora, R., Bodak, M., Penouty, L., Hackman, C., and Ciaudo, C. (2022). Sequestration of LINE -1 in cytosolic aggregates by MOV10 restricts retrotransposition. *EMBO Reports* 23, e54458. 10.15252/embr.202154458.

75. Briggs, E.M., McKerrow, W., Mita, P., Boeke, J.D., Logan, S.K., and Fenyö, D. (2021). RIP-seq reveals LINE-1 ORF1p association with p-body enriched mRNAs. *Mob DNA* 12, 5. 10.1186/s13100-021-00233-3.

76. Paonessa, F., Evans, L.D., Solanki, R., Larrieu, D., Wray, S., Hardy, J., Jackson, S.P., and Livesey, F.J. (2019). Microtubules Deform the Nuclear Membrane and Disrupt

Nucleocytoplasmic Transport in Tau-Mediated Frontotemporal Dementia. *Cell Reports* 26, 582-593.e5. 10.1016/j.celrep.2018.12.085.

77. Kim, H.J., and Taylor, J.P. (2017). Lost in Transportation: Nucleocytoplasmic Transport Defects in ALS and Other Neurodegenerative Diseases. *Neuron* 96, 285–297. 10.1016/j.neuron.2017.07.029.

78. Kinoshita, Y., Ito, H., Hirano, A., Fujita, K., Wate, R., Nakamura, M., Kaneko, S., Nakano, S., and Kusaka, H. (2009). Nuclear Contour Irregularity and Abnormal Transporter Protein Distribution in Anterior Horn Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 68, 1184–1192. 10.1097/NEN.0b013e3181bc3bec.

79. Liu, S., Sawada, T., Lee, S., Yu, W., Silverio, G., Alapatt, P., Millan, I., Shen, A., Saxton, W., Kanao, T., et al. (2012). Parkinson's Disease–Associated Kinase PINK1 Regulates Miro Protein Level and Axonal Transport of Mitochondria. *PLoS Genet* 8, e1002537. 10.1371/journal.pgen.1002537.

80. Sheffield, L.G., Miskiewicz, H.B., Tannenbaum, L.B., and Mirra, S.S. (2006). Nuclear Pore Complex Proteins in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 65, 45–54. 10.1097/01.jnen.0000195939.40410.08.

81. Gasset-Rosa, F., Chillon-Marinas, C., Goginashvili, A., Atwal, R.S., Artates, J.W., Tabet, R., Wheeler, V.C., Bang, A.G., Cleveland, D.W., and Lagier-Tourenne, C. (2017). Polyglutamine-Expanded Huntingtin Exacerbates Age-Related Disruption of Nuclear Integrity and Nucleocytoplasmic Transport. *Neuron* 94, 48-57.e4. 10.1016/j.neuron.2017.03.027.

82. Chou, C.-C., Zhang, Y., Umoh, M.E., Vaughan, S.W., Lorenzini, I., Liu, F., Sayegh, M., Donlin-Asp, P.G., Chen, Y.H., Duong, D.M., et al. (2018). TDP-43 pathology disrupts nuclear pore complexes and nucleocytoplasmic transport in ALS/FTD. *Nat Neurosci* 21, 228–239. 10.1038/s41593-017-0047-3.

83. Grima, J.C., Daigle, J.G., Arbez, N., Cunningham, K.C., Zhang, K., Ochaba, J., Geater, C., Morozko, E., Stocksdales, J., Glatzer, J.C., et al. (2017). Mutant Huntingtin Disrupts the Nuclear Pore Complex. *Neuron* 94, 93-107.e6. 10.1016/j.neuron.2017.03.023.
84. Guo, L., Fare, C.M., and Shorter, J. (2019). Therapeutic Dissolution of Aberrant Phases by Nuclear-Import Receptors. *Trends in Cell Biology* 29, 308–322. 10.1016/j.tcb.2018.12.004.
85. Savas, J.N., Toyama, B.H., Xu, T., Yates, J.R., and Hetzer, M.W. (2012). Extremely Long-Lived Nuclear Pore Proteins in the Rat Brain. *Science* 335, 942–942. 10.1126/science.1217421.
86. Toyama, B.H., Savas, J.N., Park, S.K., Harris, M.S., Ingolia, N.T., Yates, J.R., and Hetzer, M.W. (2013). Identification of Long-Lived Proteins Reveals Exceptional Stability of Essential Cellular Structures. *Cell* 154, 971–982. 10.1016/j.cell.2013.07.037.
87. D'Angelo, M.A., Raices, M., Panowski, S.H., and Hetzer, M.W. (2009). Age-Dependent Deterioration of Nuclear Pore Complexes Causes a Loss of Nuclear Integrity in Postmitotic Cells. *Cell* 136, 284–295. 10.1016/j.cell.2008.11.037.
88. Hetzer, M.W. (2010). The Nuclear Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2, a000539–a000539. 10.1101/cshperspect.a000539.
89. Buratti, E., and Baralle, F.E. (2010). The multiple roles of TDP-43 in pre-mRNA processing and gene expression regulation. *RNA Biology* 7, 420–429. 10.4161/rna.7.4.12205.
90. Colombrita, C., Onesto, E., Megiorni, F., Pizzuti, A., Baralle, F.E., Buratti, E., Silani, V., and Ratti, A. (2012). TDP-43 and FUS RNA-binding Proteins Bind Distinct Sets of Cytoplasmic Messenger RNAs and Differently Regulate Their Post-transcriptional Fate in Motoneuron-like Cells. *Journal of Biological Chemistry* 287, 15635–15647. 10.1074/jbc.M111.333450.
91. Barmada, S.J., Skibinski, G., Korb, E., Rao, E.J., Wu, J.Y., and Finkbeiner, S. (2010). Cytoplasmic Mislocalization of TDP-43 Is Toxic to Neurons and Enhanced by a Mutation

Associated with Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J. Neurosci.* *30*, 639–649. 10.1523/JNEUROSCI.4988-09.2010.

92. Benajiba, L., Le Ber, I., Camuzat, A., Lacoste, M., Thomas-Anterion, C., Couratier, P., Legallic, S., Salachas, F., Hannequin, D., Decousus, M., et al. (2009). TARDBP mutations in motoneuron disease with frontotemporal lobar degeneration. *Annals of Neurology* *65*, 470–473. 10.1002/ana.21612.

93. Kabashi, E., Valdmanis, P.N., Dion, P., Spiegelman, D., McConkey, B.J., Velde, C.V., Bouchard, J.-P., Lacomblez, L., Pochigaeva, K., Salachas, F., et al. (2008). TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* *40*, 572–574. 10.1038/ng.132.

94. Sreedharan, J., Blair, I.P., Tripathi, V.B., Hu, X., Vance, C., Rogelj, B., Ackerley, S., Durnall, J.C., Williams, K.L., Buratti, E., et al. (2008). TDP-43 Mutations in Familial and Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* *319*, 1668–1672. 10.1126/science.1154584.

95. Duan, L., Zaepfel, B.L., Aksenova, V., Dasso, M., Rothstein, J.D., Kalab, P., and Hayes, L.R. (2022). Nuclear RNA binding regulates TDP-43 nuclear localization and passive nuclear export. *Cell Reports* *40*, 111106. 10.1016/j.celrep.2022.111106.

96. Winton, M.J., Igaz, L.M., Wong, M.M., Kwong, L.K., Trojanowski, J.Q., and Lee, V.M.-Y. (2008). Disturbance of Nuclear and Cytoplasmic TAR DNA-binding Protein (TDP-43) Induces Disease-like Redistribution, Sequestration, and Aggregate Formation \*. *Journal of Biological Chemistry* *283*, 13302–13309. 10.1074/jbc.M800342200.

97. Ederle, H., and Dormann, D. (2017). TDP-43 and FUS *en route* from the nucleus to the cytoplasm. *FEBS Lett* *591*, 1489–1507. 10.1002/1873-3468.12646.

98. Eftekharzadeh, B., Daigle, J.G., Kapinos, L.E., Coyne, A., Schiantarelli, J., Carlomagno, Y., Cook, C., Miller, S.J., Dujardin, S., Amaral, A.S., et al. (2018). Tau Protein Disrupts Nucleocytoplasmic Transport in Alzheimer’s Disease. *Neuron* *99*, 925-940.e7.



10.1016/j.neuron.2018.07.039.

99. Frost, B. (2016). Alzheimer's disease: An acquired neurodegenerative laminopathy. *Nucleus* 7, 275–283. 10.1080/19491034.2016.1183859.

100. Prissette, M., Fury, W., Koss, M., Racioppi, C., Fedorova, D., Dragileva, E., Clarke, G., Pohl, T., Dugan, J., Ahrens, D., et al. (2022). Disruption of nuclear envelope integrity as a possible initiating event in tauopathies. *Cell Reports* 40, 111249. 10.1016/j.celrep.2022.111249.

101. Jiang, L., and Wolozin, B. (2021). Oligomeric tau disrupts nuclear envelope via binding to lamin proteins and lamin B receptor. *Alzheimer's & Dementia* 17, e054521. 10.1002/alz.054521.

102. Martins, F., Sousa, J., Pereira, C.D., da Cruz e Silva, O.A.B., and Rebelo, S. (2020). Nuclear envelope dysfunction and its contribution to the aging process. *Aging Cell* 19, e13143. 10.1111/acel.13143.

103. Mertens, J., Paquola, A.C.M., Ku, M., Hatch, E., Böhnke, L., Ladjevardi, S., McGrath, S., Campbell, B., Lee, H., Herdy, J.R., et al. (2015). Directly Reprogrammed Human Neurons Retain Aging-Associated Transcriptomic Signatures and Reveal Age-Related Nucleocytoplasmic Defects. *Cell Stem Cell* 17, 705–718. 10.1016/j.stem.2015.09.001.

104. Oberdoerffer, P., and Sinclair, D.A. (2007). The role of nuclear architecture in genomic instability and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 692–702. 10.1038/nrm2238.

105. Jovičić, A., Mertens, J., Boeynaems, S., Bogaert, E., Chai, N., Yamada, S.B., Paul, J.W., Sun, S., Herdy, J.R., Bieri, G., et al. (2015). Modifiers of C9orf72 dipeptide repeat toxicity connect nucleocytoplasmic transport defects to FTD/ALS. *Nat Neurosci* 18, 1226–1229. 10.1038/nn.4085.

106. Chang, L., Li, M., Shao, S., Li, C., Ai, S., Xue, B., Hou, Y., Zhang, Y., Li, R., Fan, X., et al. (2022). Nuclear peripheral chromatin-lamin B1 interaction is required for global integrity

of chromatin architecture and dynamics in human cells. *Protein & Cell* 13, 258–280. 10.1007/s13238-020-00794-8.

107. Perovanovic, J., Dell’Orso, S., Gnochì, V.F., Jaiswal, J.K., Sartorelli, V., Vigouroux, C., Mamchaoui, K., Mouly, V., Bonne, G., and Hoffman, E.P. (2016). Laminopathies disrupt epigenomic developmental programs and cell fate. *Sci. Transl. Med.* 8. 10.1126/scitranslmed.aad4991.

108. Traxler, L., Lucciola, R., Herdy, J.R., Jones, J.R., Mertens, J., and Gage, F.H. (2023). Neural cell state shifts and fate loss in ageing and age-related diseases. *Nat Rev Neurol* 19, 434–443. 10.1038/s41582-023-00815-0.

109. Richards, E.J., and Elgin, S.C.R. (2002). Epigenetic Codes for Heterochromatin Formation and Silencing. *Cell* 108, 489–500. 10.1016/S0092-8674(02)00644-X.

110. Black, J.C., Van Rechem, C., and Whetstine, J.R. (2012). Histone Lysine Methylation Dynamics: Establishment, Regulation, and Biological Impact. *Molecular Cell* 48, 491–507. 10.1016/j.molcel.2012.11.006.

111. Denais, C.M., Gilbert, R.M., Isermann, P., McGregor, A.L., Te Lindert, M., Weigel, B., Davidson, P.M., Friedl, P., Wolf, K., and Lammerding, J. (2016). Nuclear envelope rupture and repair during cancer cell migration. *Science* 352, 353–358. 10.1126/science.aad7297.

112. Nava, M.M., Miroshnikova, Y.A., Biggs, L.C., Whitefield, D.B., Metge, F., Boucas, J., Vihinen, H., Jokitalo, E., Li, X., García Arcos, J.M., et al. (2020). Heterochromatin-Driven Nuclear Softening Protects the Genome against Mechanical Stress-Induced Damage. *Cell* 181, 800-817.e22. 10.1016/j.cell.2020.03.052.

113. Raab, M., Gentili, M., De Belly, H., Thiam, H.-R., Vargas, P., Jimenez, A.J., Lautenschlaeger, F., Voituriez, R., Lennon-Duménil, A.-M., Manel, N., et al. (2016). ESCRT III repairs nuclear envelope ruptures during cell migration to limit DNA damage and cell death. *Science* 352, 359–362. 10.1126/science.aad7611.

114. Hochmair, J., Exner, C., Franck, M., Dominguez-Baquero, A., Diez, L., Brognaro, H., Kraushar, M., Mielke, T., Radbruch, H., Kaniyappan, S., et al. (2022). Biomolecular Tau condensation is linked to Tau accumulation at the nuclear envelope. 2022.01.24.477544. 10.1101/2022.01.24.477544.
115. Gasset-Rosa, F., Lu, S., Yu, H., Chen, C., Melamed, Z., Guo, L., Shorter, J., Da Cruz, S., and Cleveland, D.W. (2019). Cytoplasmic TDP-43 De-mixing Independent of Stress Granules Drives Inhibition of Nuclear Import, Loss of Nuclear TDP-43, and Cell Death. *Neuron* 102, 339-357.e7. 10.1016/j.neuron.2019.02.038.
116. Sil, S. (2022). Condensation of LINE-1 Is Required for Retrotransposition.
117. Shpyleva, S., Melnyk, S., Pavliv, O., Pogribny, I., and Jill James, S. (2018). Overexpression of LINE-1 Retrotransposons in Autism Brain. *Mol Neurobiol* 55, 1740–1749. 10.1007/s12035-017-0421-x.
118. Bundo, M., Toyoshima, M., Okada, Y., Akamatsu, W., Ueda, J., Nemoto-Miyauchi, T., Sunaga, F., Toritsuka, M., Ikawa, D., Kakita, A., et al. (2014). Increased L1 Retrotransposition in the Neuronal Genome in Schizophrenia. *Neuron* 81, 306–313. 10.1016/j.neuron.2013.10.053.
119. Doyle, G.A., Crist, R.C., Karatas, E.T., Hammond, M.J., Ewing, A.D., Ferraro, T.N., Hahn, C.-G., and Berrettini, W.H. (2017). Analysis of LINE-1 Elements in DNA from Postmortem Brains of Individuals with Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol.* 42, 2602–2611. 10.1038/npp.2017.115.
120. Liu, S., Du, T., Liu, Z., Shen, Y., Xiu, J., and Xu, Q. (2016). Inverse changes in L1 retrotransposons between blood and brain in major depressive disorder. *Sci Rep* 6, 37530. 10.1038/srep37530.
121. Muotri, A.R., Marchetto, M.C.N., Coufal, N.G., Oefner, R., Yeo, G., Nakashima, K., and Gage, F.H. (2010). L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2. *Nature* 468,

443–446. 10.1038/nature09544.

122. Zhao, B., Wu, Q., Ye, A.Y., Guo, J., Zheng, X., Yang, X., Yan, L., Liu, Q.-R., Hyde, T.M., Wei, L., et al. (2019). Somatic LINE-1 retrotransposition in cortical neurons and non-brain tissues of Rett patients and healthy individuals. *PLOS Genetics* *15*, e1008043. 10.1371/journal.pgen.1008043.

123. Coufal, N.G., Garcia-Perez, J.L., Peng, G.E., Marchetto, M.C.N., Muotri, A.R., Mu, Y., Carson, C.T., Macia, A., Moran, J.V., and Gage, F.H. (2011). Ataxia telangiectasia mutated (ATM) modulates long interspersed element-1 (L1) retrotransposition in human neural stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *108*, 20382–20387. 10.1073/pnas.1100273108.

124. Van Eersel, J., Ke, Y.D., Gladbach, A., Bi, M., Götz, J., Kril, J.J., and Ittner, L.M. (2011). Cytoplasmic Accumulation and Aggregation of TDP-43 upon Proteasome Inhibition in Cultured Neurons. *PLoS ONE* *6*, e22850. 10.1371/journal.pone.0022850.

125. Della Valle, F., Thimma, M.P., Caiazzo, M., Pulcrano, S., Celi, M., Adroub, S.A., Liu, P., Alanis-Lobato, G., Broccoli, V., and Orlando, V. (2020). Transdifferentiation of Mouse Embryonic Fibroblasts into Dopaminergic Neurons Reactivates LINE-1 Repetitive Elements. *Stem Cell Reports* *14*, 60–74. 10.1016/j.stemcr.2019.12.002.

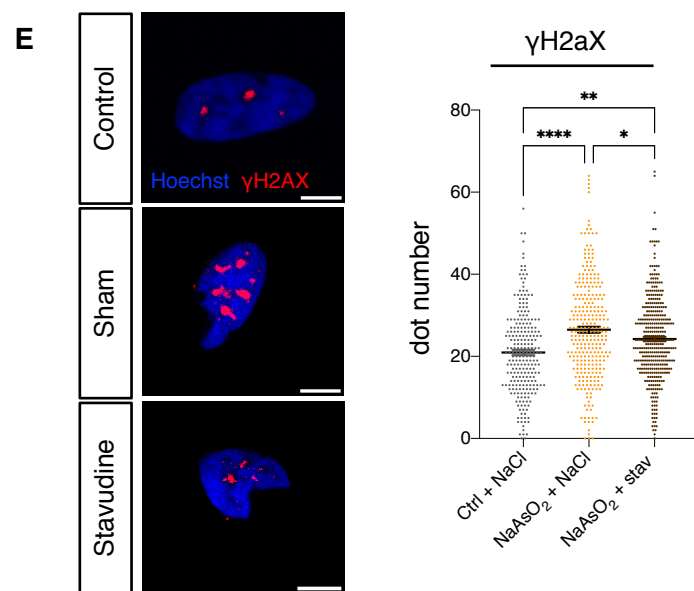
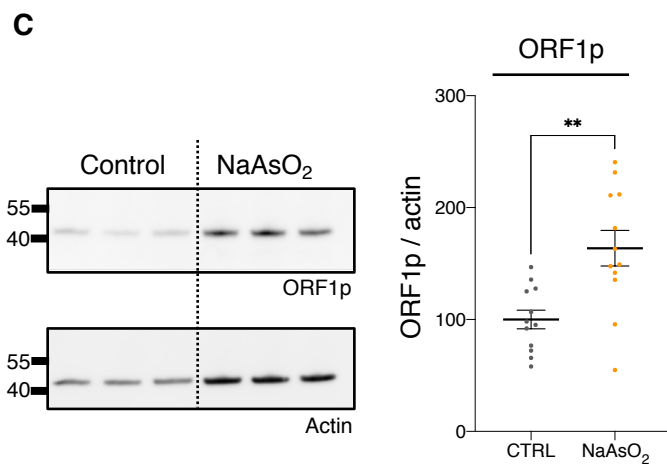
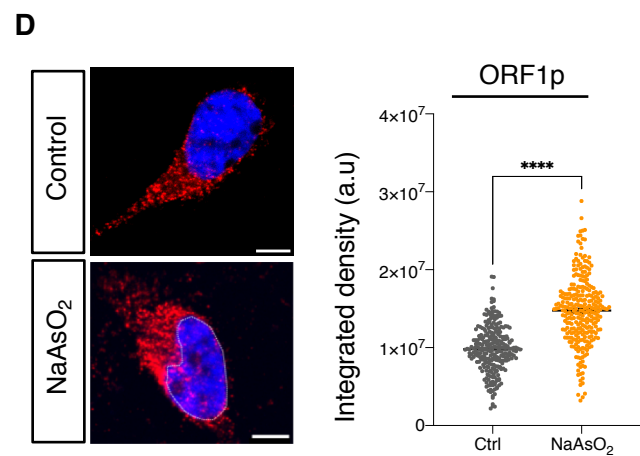
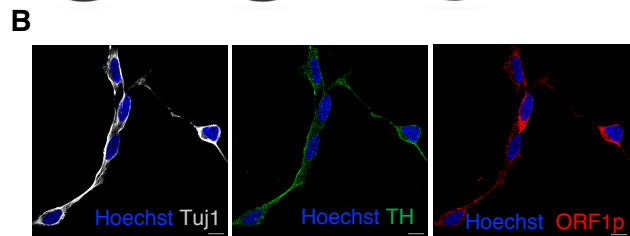
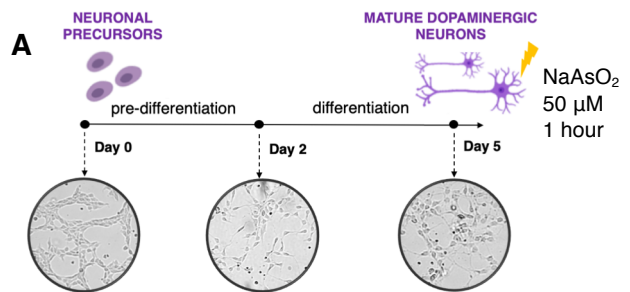
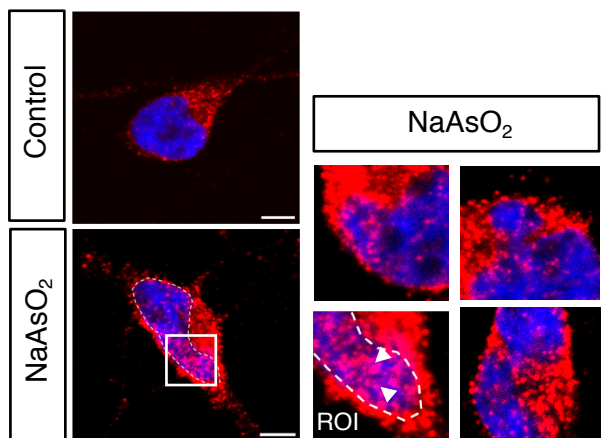
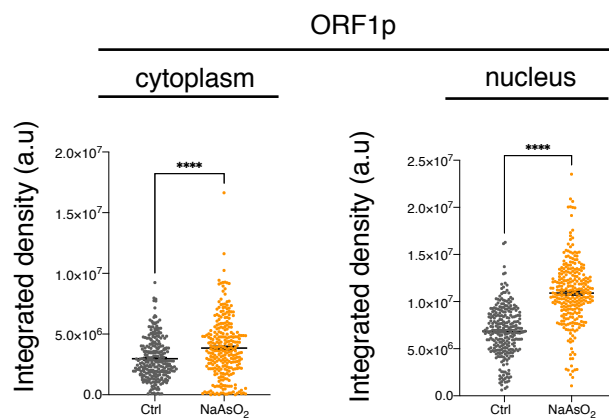
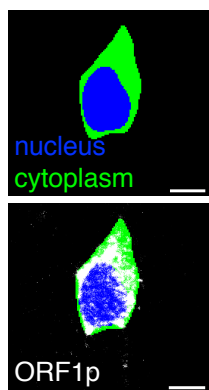
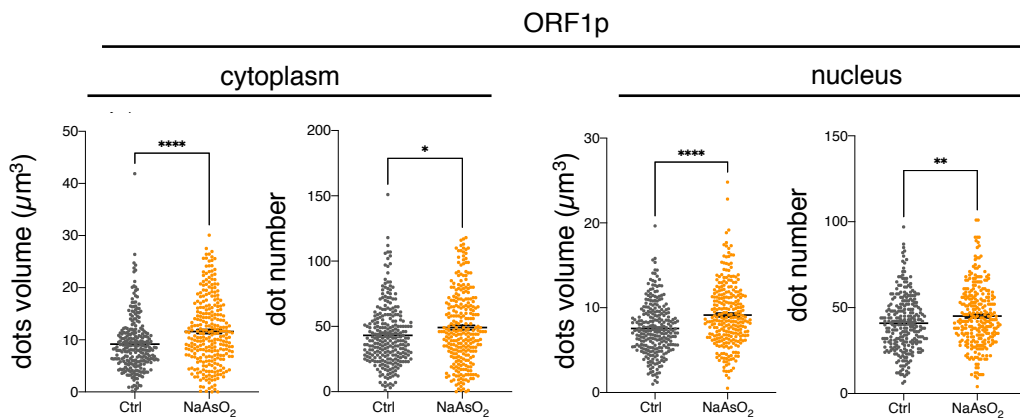
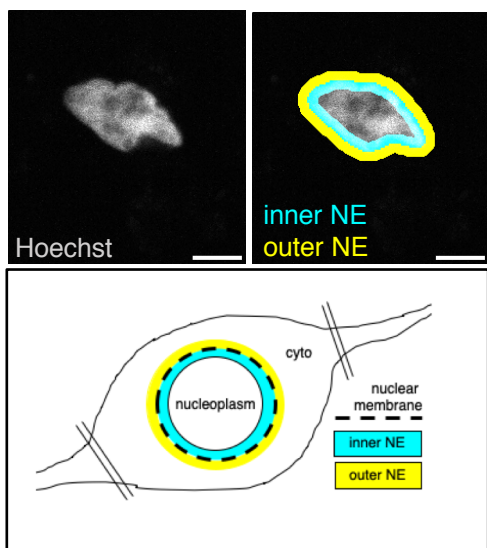
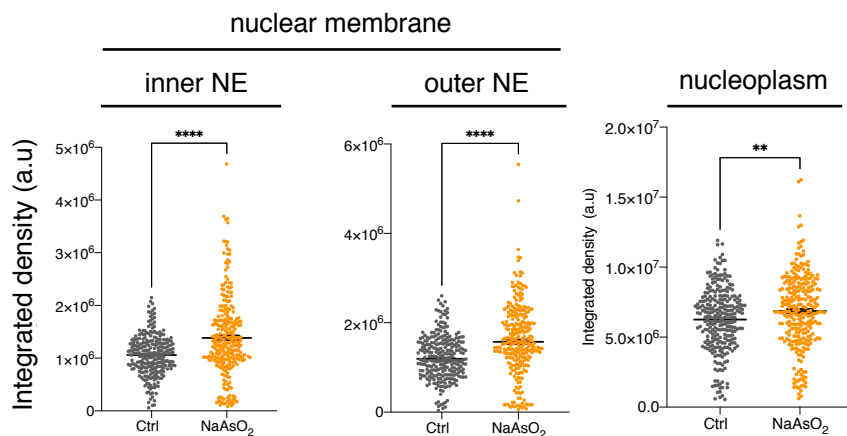


Fig. 1

**A****B****C****D****E****F**

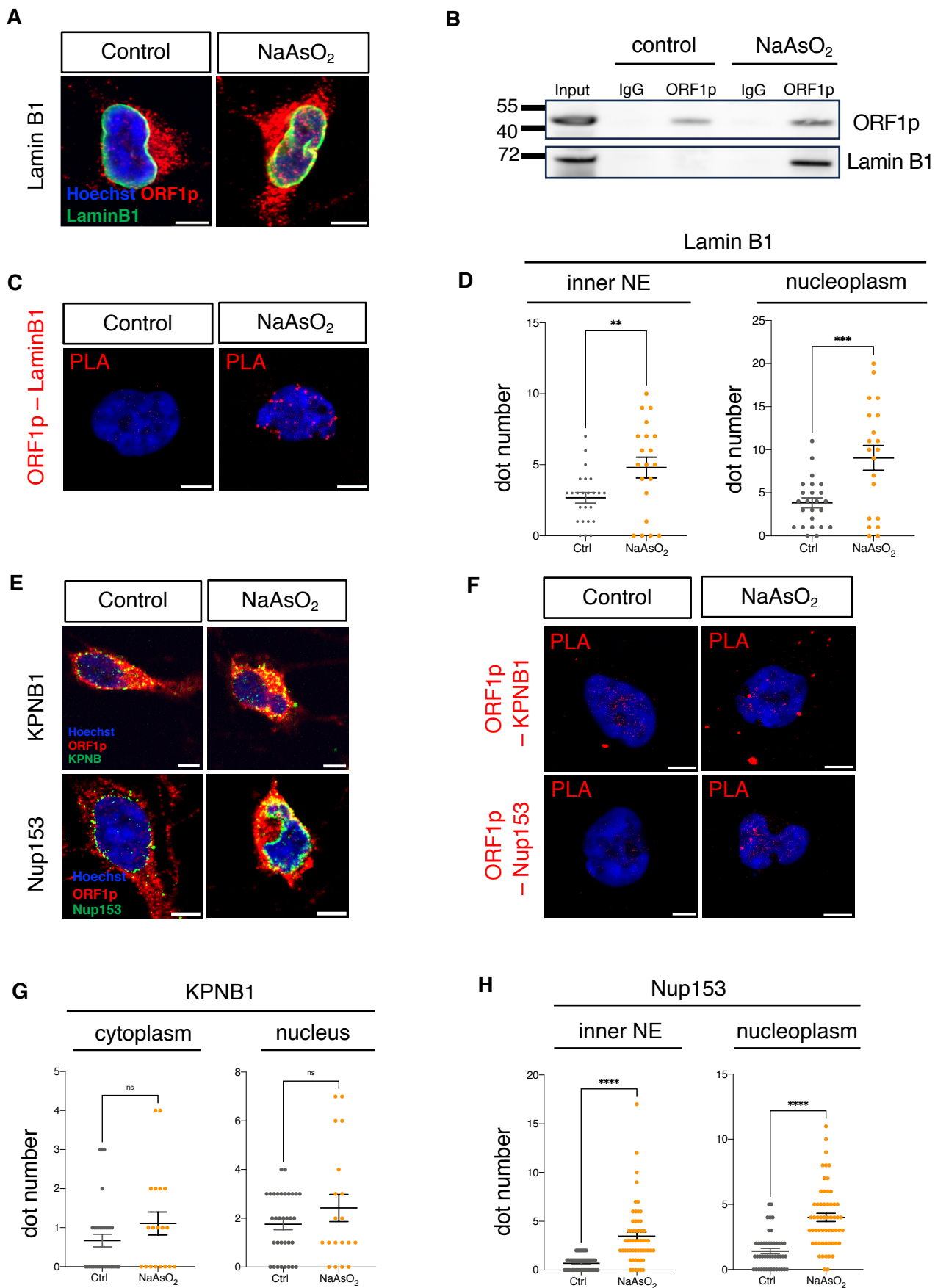
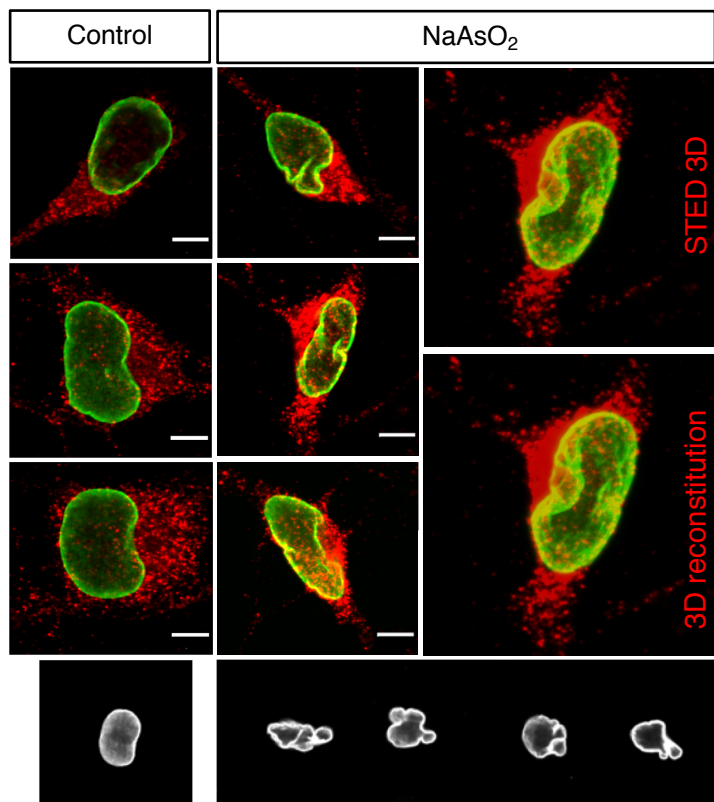
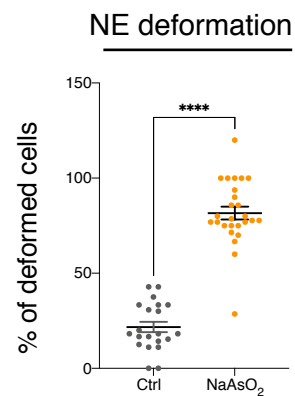
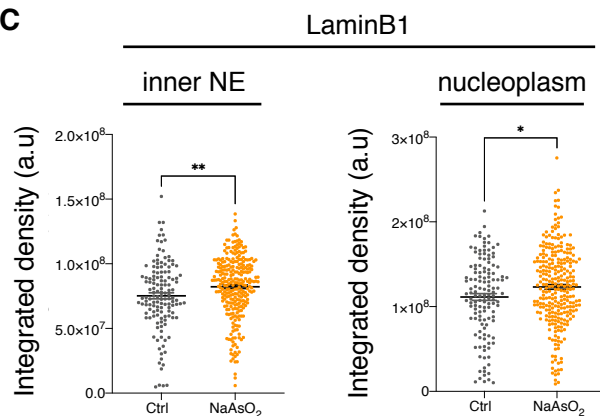
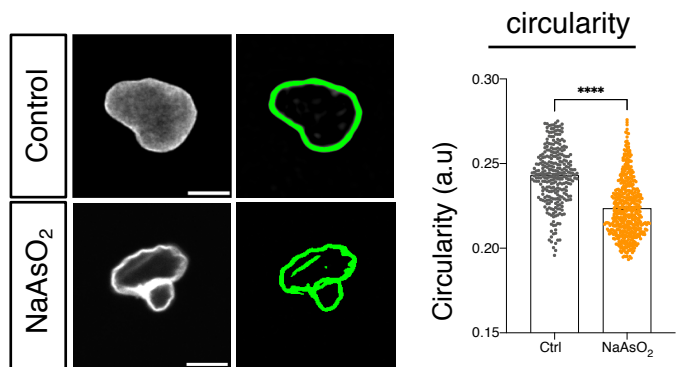
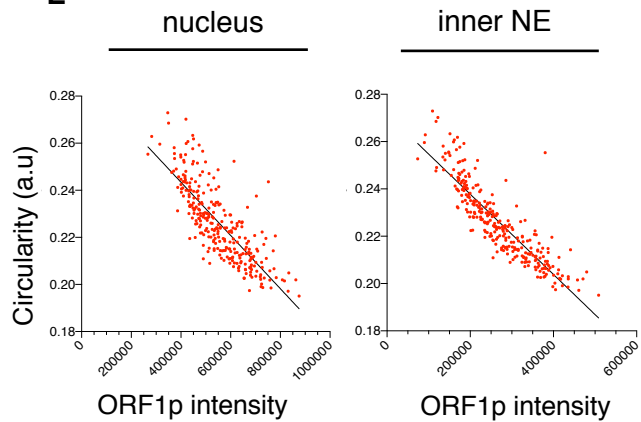
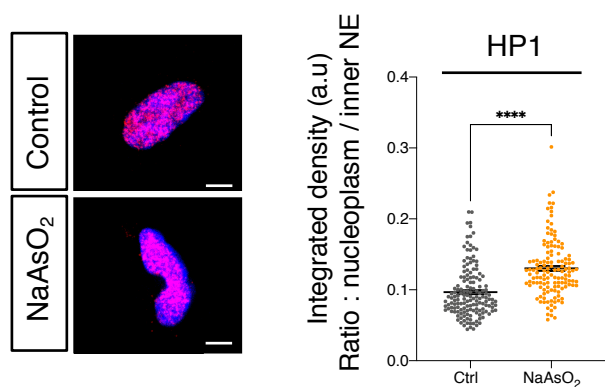
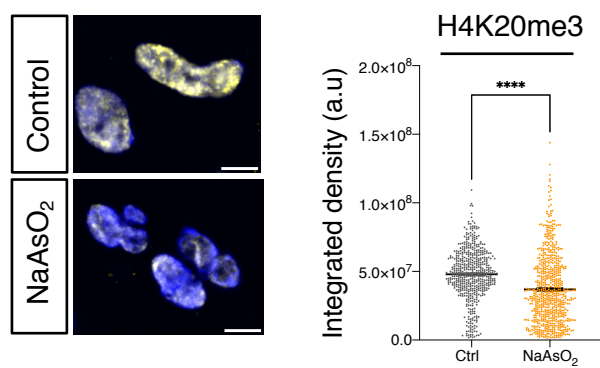


Fig. 3

**A****B****C****D****E****F****G**



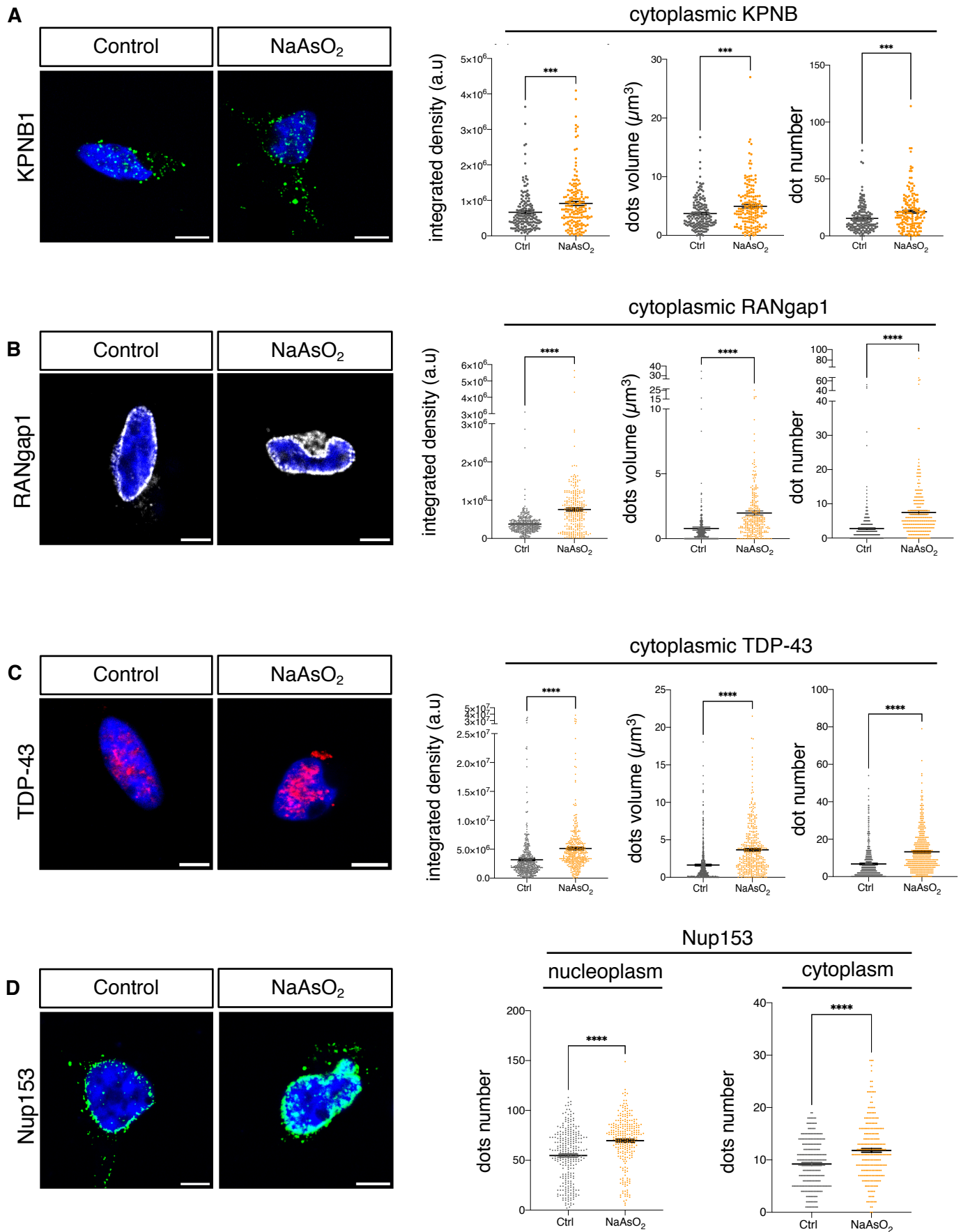
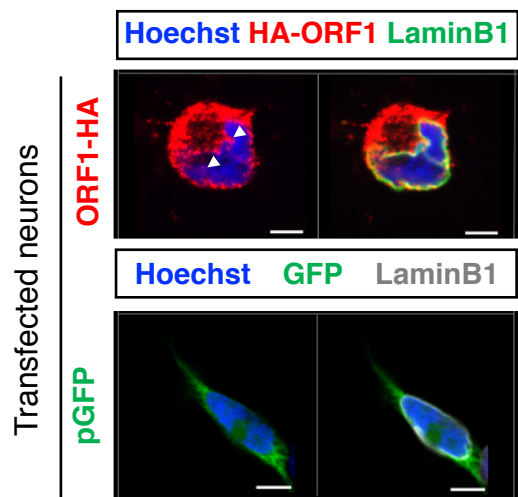
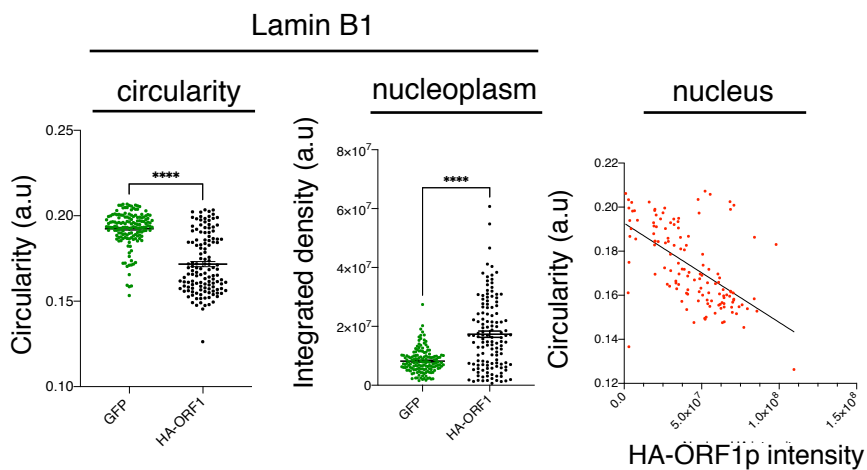
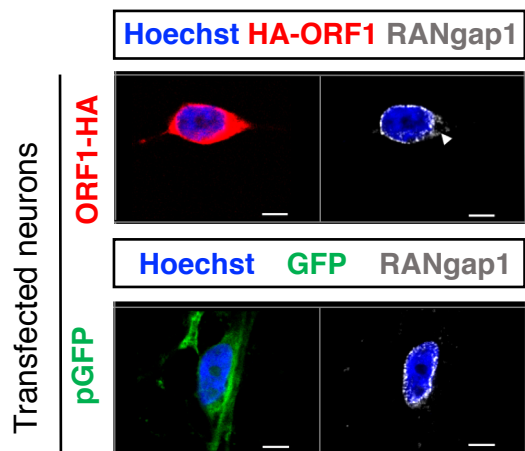
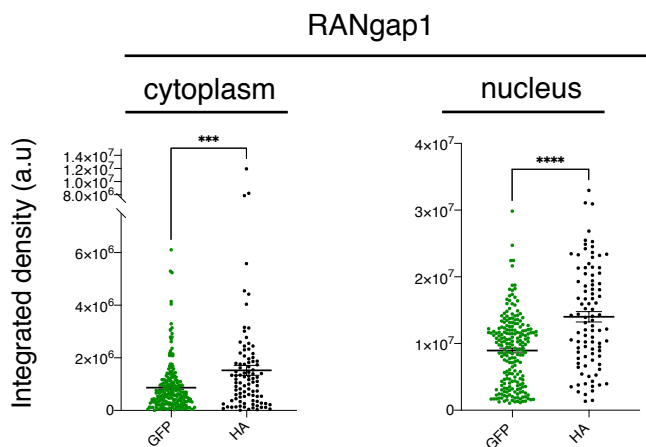
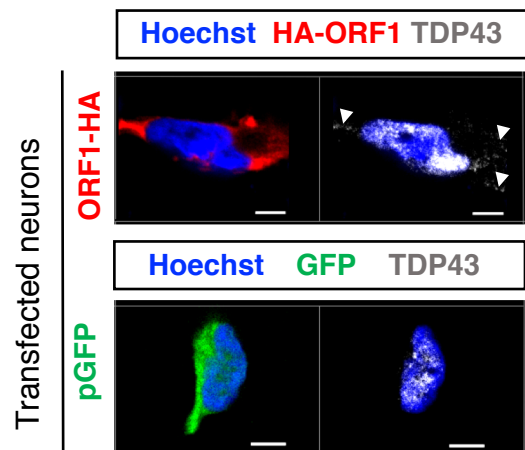
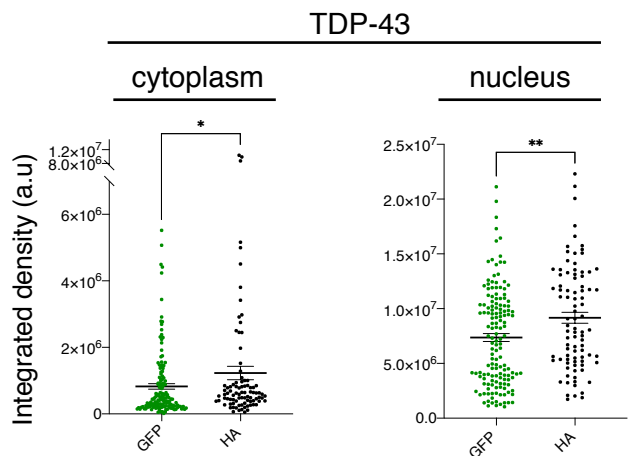


Fig. 5

**A****B****C****D****E****F****Fig. 6**

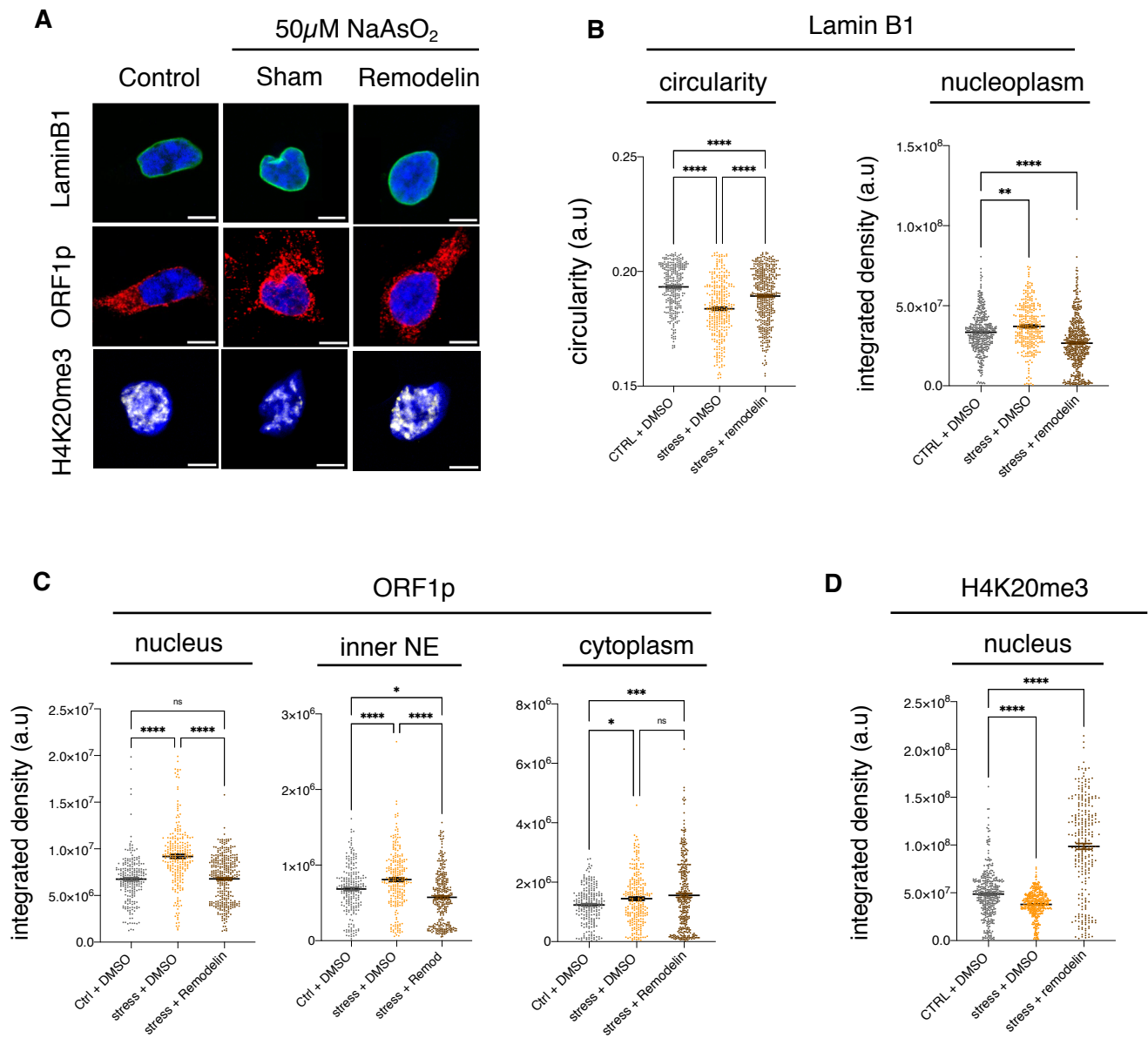


Fig. 7

## **Supplementary figure legends**

### **Suppl. Figure 1. Differentiated LUHMES cells express neuronal and dopaminergic markers Tuj1 and TH.**

(A) Experimental protocol of the differentiation of neuronal precursor cells (LUHMES) into mature, post-mitotic dopaminergic neurons in 5 days. (B) Quantification of the fluorescence intensity of TH and Tuj1.  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment of 3 independent experiments (3 wells per condition), mean  $\pm$  SEM, One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test. (C) Analysis of TH protein levels by Western blot. (D) Immunofluorescence of Tuj1 and TH in the absence and the presence of oxidative stress. (E) Arsenite treatment does not affect the neuronal and the dopaminergic phenotypes of differentiated LUHMES cells.  $n > 100$  neurons were quantified per condition, a representative experiment of 3 independent experiments (3 wells per condition), mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test. (F) LINE-1 RNA levels were increased as shown by RT-qPCR using primers targeting different LINE-1 regions. Cycle thresholds were obtained from 3 wells per conditions from 2 independent experiments, using the ddCt method relative to the expression of reference genes HPRT and TBP. Data are represented as the mean  $\pm$  SEM, Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test (\* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ ). Scale bar, 5  $\mu\text{m}$ .

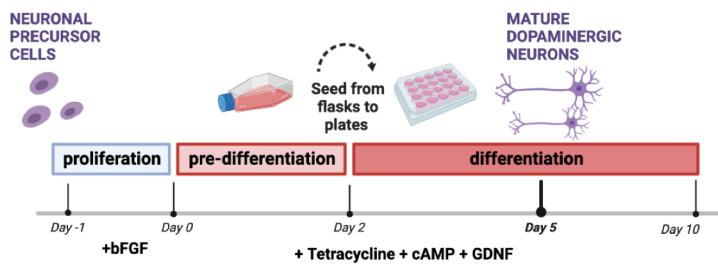
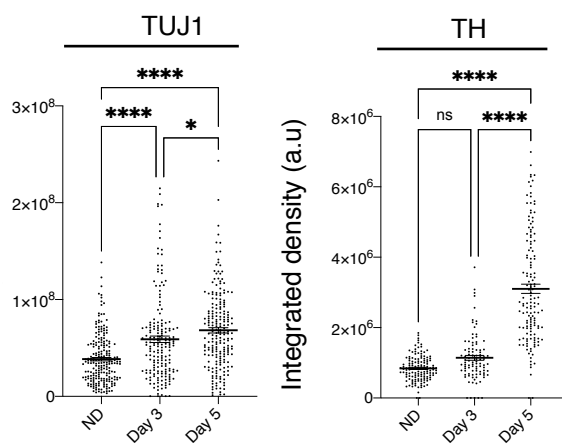
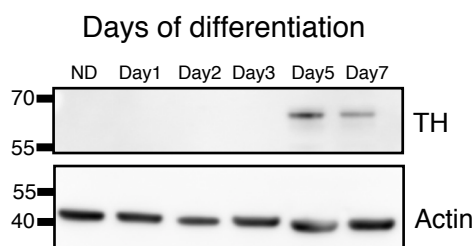
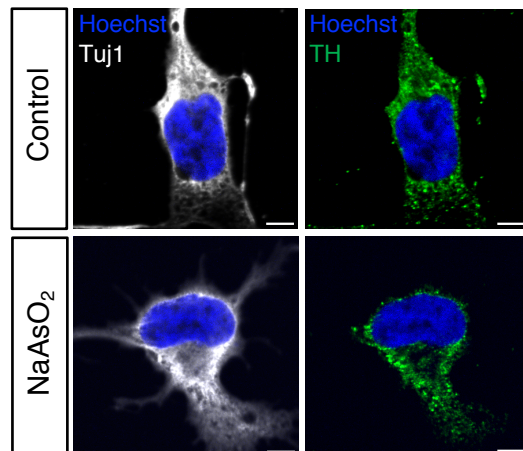
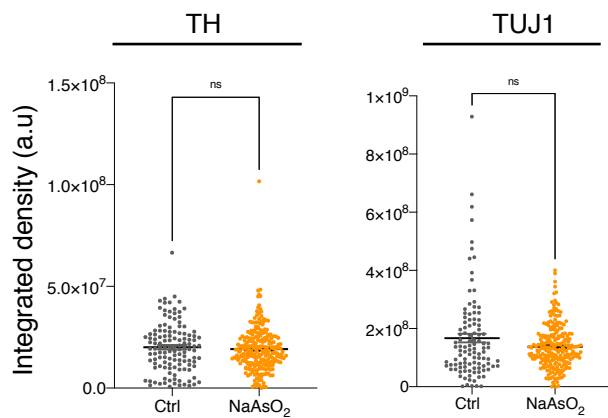
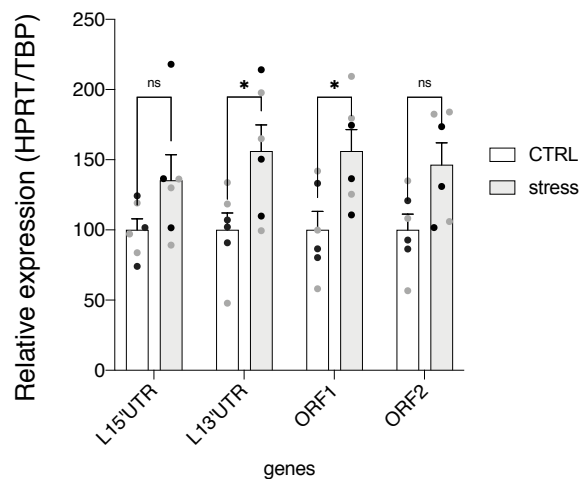
### **Suppl. Figure 2. Increased DNA damage in differentiated LUHMES cells following oxidative stress is restored upon Stavudine treatment.**

(A) ssDNA Immunostaining in arsenite treated LUHMES cells.  $n \geq 50$  neurons were quantified per condition, a representative experiment of 2 independent experiments (3 wells

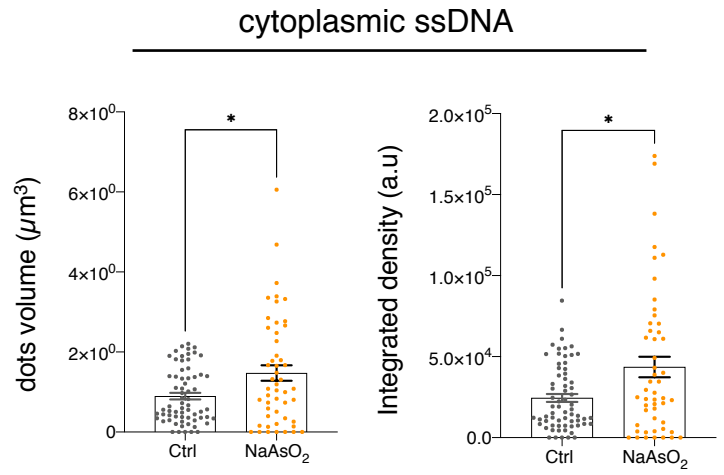
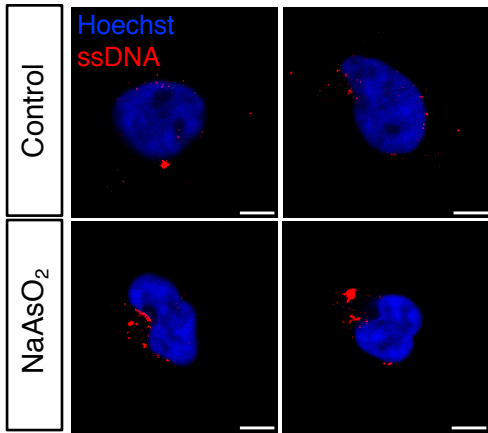
per condition), mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\*p < 0.5, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001, \*\*\*\*p < 0.0001). Scale bar, 5  $\mu$ m.

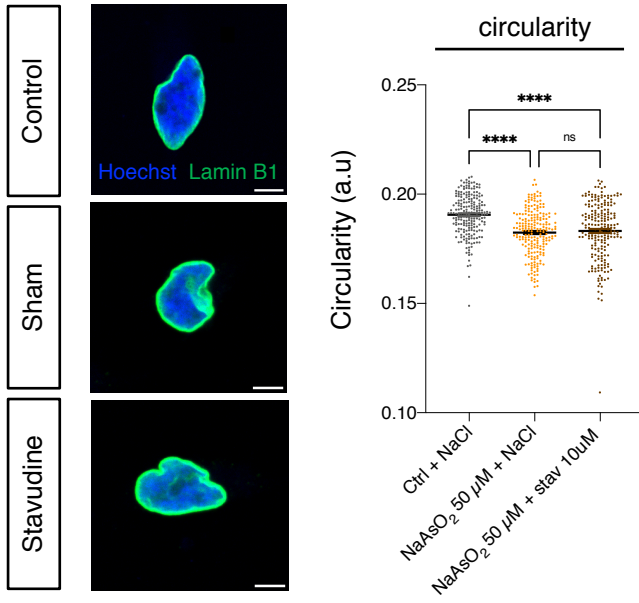
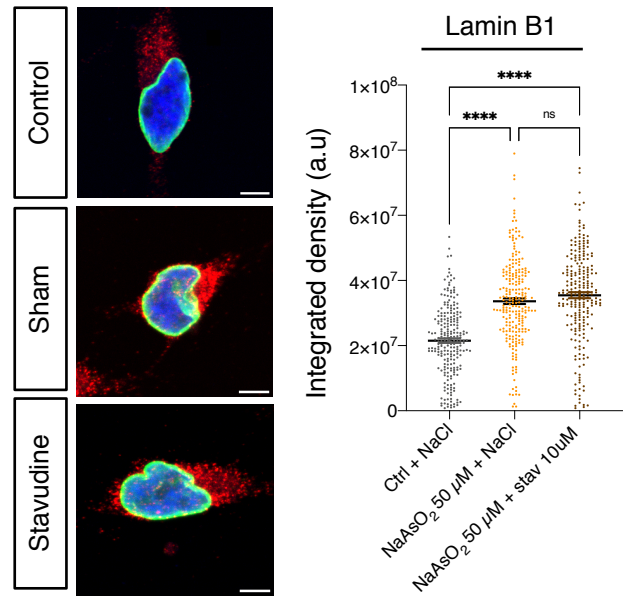
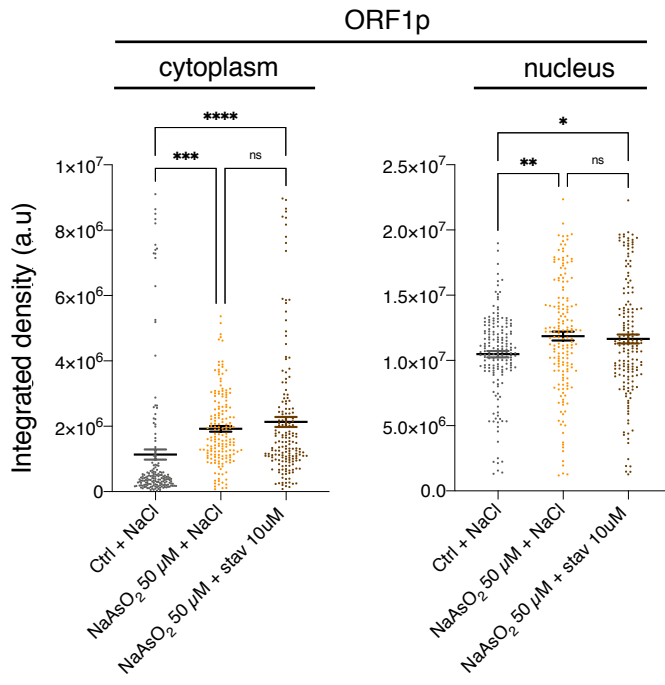
**Suppl. Figure 3. Nuclear dysmorphologies, and abnormal ORF1p increase in differentiated LUHMES cells following oxidative stress are not restored upon Stavudine treatment.**

(A) Immunostaining of Lamin B1 following Arsenite treatment in the presence or the absence of Stavudine and quantification of the circularity index. (B) Co-Immunostaining of ORF1p and Lamin B1 following Arsenite treatment in the presence or the absence of Stavudine and quantification of Lamin B1 in the nucleoplasm. (C) Quantification of ORF1p intensity both in the cytoplasm and the nucleus following stress in the presence or the absence of Stavudine. n > 100 neurons were quantified per condition (3 wells per condition) from 1 experiment, mean  $\pm$  SEM, Two-tailed t test (\*p < 0.5, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001, \*\*\*\*p < 0.0001). Scale bar, 5  $\mu$ m.

**A****B****C****D****E****F**

A



**A****B****C**






**Transposable elements as new players in neurodegenerative  
diseases**

Camille Ravel-Godreuil, Rania Znaidi, Tom Bonnifet, Rajiv L. Joshi and Julia Fuchs

FEBS Lett., 595, 2733–2755, 2021.

# Transposable elements as new players in neurodegenerative diseases

 Camille Ravel-Godreuil, Rania Znaidi, Tom Bonnifet, Rajiv L. Joshi  and Julia Fuchs

Center for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), Collège de France, CNRS, INSERM, Université PSL, Paris, France

## Correspondence

J. Fuchs and R. L. Joshi, Center for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), Collège de France, 11 Place Marcelin Berthelot, 75231 Paris, France  
 Tel: +3344271455  
 E-mails: julia.fuchs@college-de-france.fr (J.F.), rajiv.joshi@college-de-france.fr (R.L.J.)

(Received 5 July 2021, revised 23 September 2021, accepted 3 October 2021, available online 18 October 2021)

doi:10.1002/1873-3468.14205

Edited by Claus Azzalin

Neurodegenerative diseases (NDs), including the most prevalent Alzheimer's disease and Parkinson disease, share common pathological features. Despite decades of gene-centric approaches, the molecular mechanisms underlying these diseases remain widely elusive. In recent years, transposable elements (TEs), long considered 'junk' DNA, have gained growing interest as pathogenic players in NDs. Age is the major risk factor for most NDs, and several repressive mechanisms of TEs, such as heterochromatinization, fail with age. Indeed, heterochromatin relaxation leading to TE derepression has been reported in various models of neurodegeneration and NDs. There is also evidence that certain pathogenic proteins involved in NDs (*e.g.*, tau, TDP-43) may control the expression of TEs. The deleterious consequences of TE activation are not well known but they could include DNA damage and genomic instability, altered host gene expression, and/or neuroinflammation, which are common hallmarks of neurodegeneration and aging. TEs might thus represent an overlooked pathogenic culprit for both brain aging and neurodegeneration. Certain pathological effects of TEs might be prevented by inhibiting their activity, pointing to TEs as novel targets for neuroprotection.

**Keywords:** aging; Alzheimer's disease; gene dysregulation; genomic instability; heterochromatin destructureation; neurodegenerative diseases; neuroinflammation; oxidative stress; Parkinson disease; retrotransposons

Neurodegenerative diseases (NDs) affect several million people worldwide and have become a major hurdle in societies with aging populations. They result from the progressive loss of brain functions, which inexorably leads to severe disability and death [1]. The elucidation of the molecular mechanisms underlying these diseases and the development of effective therapies that either slow down or reverse the neurodegenerative process are urgently needed. Unfortunately, despite extensive gene-centric research carried out during the past several decades, our

knowledge of the etiology of NDs remains rudimentary [2,3].

Since protein-coding DNA represents only about 2–3% of the human genome, the focus has shifted in recent years to exploring the noncoding portion of human DNA with the hope that this endeavor may provide novel clues for a better understanding of the molecular basis of NDs and human diseases, in general. A large proportion of the human genome is composed of repetitive DNA sequences [4], which were considered junk DNA for decades. The initial

## Abbreviations

AD, Alzheimer's disease; ALS, amyotrophic lateral sclerosis; DNMT, DNA methyltransferase; ERV, endogenous retrovirus; FTD, frontotemporal dementia; HDAC, histone deacetylase; HERV, human ERV; LINE-1, long interspersed repeat-1; LTR, long terminal repeat; NDs, neurodegenerative diseases; PD, Parkinson disease; RTE, retrotransposon; SINEs, short interspersed elements; TDP-43, TAR DNA-binding protein 43; TEs, transposable elements.

sequencing of the human genome revealed that about 45% of the human DNA is derived from transposable elements (TEs) [5]. First discovered in maize by Barbara McClintock more than 70 years ago as ‘controlling elements’ implicated in the regulation of genes [6], TEs have long been considered selfish genetic elements that jump from one genomic location to another. It has become evident from the research performed during the past decades that TEs have played an important role in shaping mammalian genomes during evolution and TE-derived sequences have been co-opted for many gene regulatory functions in different organisms [7,8]. Noteworthy, certain TEs are still capable of mobilization in mammalian genomes, but they normally remain ‘dormant’ in somatic tissues. However, a partial reawakening of TEs in somatic tissues has been observed in many human diseases [9,10] and is well documented in cancer [11]. In recent years, several studies have provided evidence that TE activity is associated with neurodegeneration [12,13].

This review elaborates on the emerging concept that TEs might be unsuspected pathogenic drivers of neurodegeneration through diverse mechanisms. We will discuss how the activity of TEs, certain pathological hallmarks of aging and NDs, could be interconnected and why TEs may provide novel druggable therapeutic targets in NDs.

## Hallmarks of NDs

### Striking characteristics and shared pathological features

The clinical manifestations of NDs, among which Alzheimer’s disease (AD) and Parkinson disease (PD) are the most common, depend upon the neuronal populations affected in selected regions of the brain. For instance, degeneration of hippocampal and cortical neurons is associated with memory loss, cognitive impairment, and dementia in AD, whereas a progressive loss of dopaminergic neurons in the *substantia nigra par compacta* (SNpc) in the midbrain leads to the cardinal motor symptoms (resting tremor, bradykinesia, and rigidity) in PD. Dopaminergic neurons of the SNpc send long projections to innervate the dorsal striatum, forming the nigrostriatal pathway, and progressively degenerate in PD in a retrograde manner [14,15]. Among other devastating adult-onset NDs, amyotrophic lateral sclerosis (ALS) results from degeneration of upper and lower motor neurons (causing fatal paralysis with respiratory failure), while frontotemporal dementia (FTD) arises from progressive degeneration of frontal and temporal lobes. The

mechanisms underlying the selective vulnerability of specific neuronal populations affected in different NDs remain unknown [16].

One of the major hallmarks shared by several NDs is protein aggregation [17]. Senile plaques, specific to AD, are formed by insoluble fibrillar aggregates of amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ). Neurofibrillary tangles found in many neurodegenerative conditions, including AD and FTD, contain the hyperphosphorylated fibrillar forms of microtubule-associated protein tau and are hence referred to as tauopathies. Similarly, PD is characterized by the widespread presence of  $\alpha$ -synuclein aggregates in Lewy bodies and neurites in the nervous system [18]. ALS is known to have inclusions of TDP-43 (TAR DNA-binding protein 43), a protein involved in RNA metabolism. FTD can be driven by tauopathy or TDP-43 pathology. A subset of FTD patients with TDP-43 pathology is thought to have an FTD-ALS spectrum disorder considering the closely related pathologies of these two diseases [19]. TDP-43 aggregation can also be found in 37% of AD patients [20], illustrating that these different protein aggregations overlap among these NDs. A striking feature of aberrantly folded and aggregating proteins (*i.e.*, A $\beta$  and  $\alpha$ -synuclein) is their ability to spread in the nervous system in a prion-like manner [21,22]. Where the formation of these aggregates begins remains unclear. The Braak hypothesis stipulates that protein aggregation in AD and PD may initiate in the gut or the olfactory bulb and then progressively ascend to different brain regions [23].

Genetic studies of familial forms of NDs have identified mutations in several genes. These include the following: SNCA ( $\alpha$ -synuclein), LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2), PRKN (or Parkin; parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase), Pink1 (PTEN-induced kinase 1), and PARK7 (or DJ-1; parkinsonism-associated deglycase) in PD [24]; APP (amyloid beta precursor protein), PSEN1 (presenilin 1), PSEN2 (presenilin 2), and MAPT (microtubule-associated protein tau) in AD/tauopathies [25]. Although TDP-43 pathology is observed in about 95% of ALS patients and all FTD-TDP patients, TDP-43 mutations are not common drivers of these pathologies. Among many mutations with large effects found in ALS, the most common are repeat expansions in C9orf72 (C9orf72-SMCR8 complex subunit). For familial forms of ALS, the overlap with FTD drivers is very high, but this represents only 10% of all ALS patients [19]. Studies involving genome-wide associations have also revealed many disease risk loci that are associated with NDs. The genetic basis of the common idiopathic or sporadic forms of NDs remains largely unknown. Functional

studies of genes mutated in the familial forms of NDs have been instrumental in shedding some light on the mechanisms that may contribute to neurodegeneration.

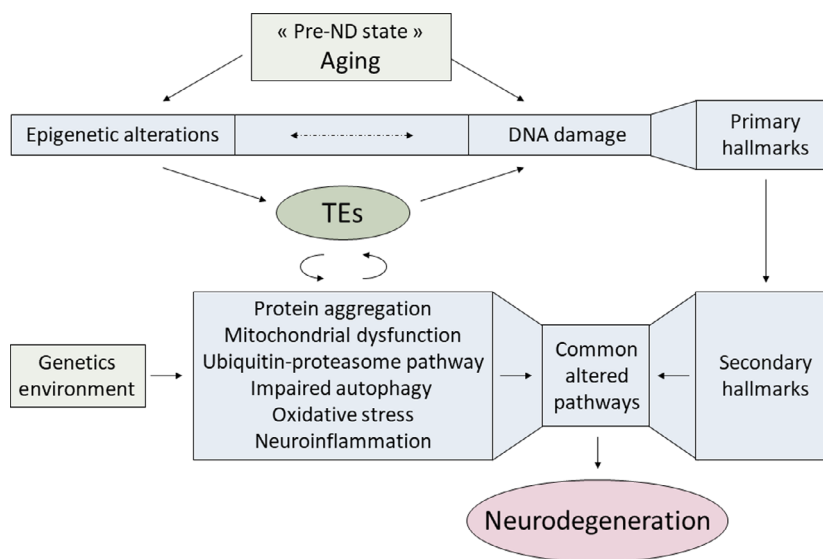
Besides protein aggregation, the pathological features shared by NDs include mitochondrial dysfunction, oxidative stress, impaired ubiquitin-proteasomal pathway, altered autophagy, and neuroinflammation [17]. Mitochondrial dysfunction has received particular attention in PD ever since the discovery that inhibition of mitochondrial complex I activity by certain neurotoxins (*e.g.*, 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine, MPTP) or pesticides (*e.g.*, rotenone) can lead to parkinsonism in humans [26,27]. It was shown that genes mutated in PD (*i.e.*, Pink1, Parkin) directly or indirectly affect mitochondrial activity [28]. Many other disease-related proteins (*i.e.*, A $\beta$  or phosphorylated tau in AD) have been reported to interact with mitochondria and alter mitochondrial processes, such as mitophagy [29,30]. Mitochondrial function/dysfunction and different energy requirements of the diverse neuronal populations in various brain regions could partly explain selective neuronal vulnerability in different NDs [31]. In addition to producing ATP, mitochondria also play an important role in the quality control of proteins produced and the disposal of protein aggregates [32]. Unfortunately, most efforts to develop animal models of NDs were unsuccessful as many of the mutations linked to these diseases did not fully recapitulate the disease symptoms [33]. In the context of PD, it is noteworthy that certain transcription factors (*i.e.*, Engrailed), required for the development of dopaminergic neurons, continue to be expressed in adulthood and play a critical role for the lifelong survival of these neurons [34]. Interestingly, targeted disruption of one *Engrailed-1* (*En1*) allele in mice provides a valuable PD model with progressive loss of dopaminergic neurons in the SNpc [35]. These *En1*<sup>+/-</sup> mice recapitulate several pathological features of PD, including altered mitochondria, impaired autophagy, retrograde degeneration, and inflammation [36,37]. Other studies lend support to the idea that genes involved in the development of dopaminergic neurons could also be involved in the development of PD [38].

### **Aging and neurodegeneration: Is a key player missing?**

Although genetic and environmental factors are certainly at play, age remains the major risk factor for NDs [39,40]. In PD, for instance, the appearance of the first classical motor symptoms is preceded by a prodromal (nonsymptomatic) pre-ND phase typically

presenting nonmotor symptoms (*i.e.*, olfaction loss, constipation, sleep disorders) that can last up to 20 years [41]. How the aging process contributes to neurodegeneration remains unknown. It is noteworthy that many pathological features of NDs are aggravated hallmarks of brain aging [42]. Neurodegeneration might thus be seen as a continuity of aging and the manifestation of NDs as accelerated aging (Fig. 1). To date, nine established hallmarks of aging have been defined: mitochondrial dysfunction, loss of proteostasis, DNA damage and genomic instability, epigenetic alterations, dysregulated nutrient sensing, cellular senescence, telomere attrition, stem cell exhaustion, and altered intercellular communication [43] of which genomic instability and epigenetic alterations are considered to be the primary hallmarks. The brain shows aging hallmarks very similar to those of other tissues, and many processes altered during aging have also been implicated in different neurodegenerative contexts [40,42]. As mentioned above, mitochondrial dysfunction is an established hallmark of aging and plays an important role in age-related NDs. Mitochondria are critical regulators of cell death, which is a common feature of NDs. Mitochondrial insults can lead to increased reactive oxygen species (ROS) production, and mutations in mitochondrial DNA (mtDNA) and oxidative stress can both contribute to the aging and development of NDs [29]. Several DNA repair pathways keep mtDNA intact to minimize these alterations [44]. Strategies that target mitochondrial processes such as energy metabolism, ROS production, or the interaction of disease-related proteins with mitochondria may have therapeutic potential. We will mainly focus here on the two primary hallmarks of brain aging, namely genomic instability and epigenetic alterations, which have so far remained widely unrecognized as potential pathogenic drivers of neurodegeneration.

A feature unequivocally linked to brain aging is the accumulation of unrepaired DNA that can jeopardize genome integrity [45]. High energy consumption, especially by neuronal cells, must impose a significant oxidative burden (*i.e.*, ROS production), which is considered a major source of DNA damage in the brain [46]. It is noteworthy that sheer physiological neuronal activity causes DNA strand breaks, which are rapidly repaired [47]. Postmitotic neurons mainly rely on non-homologous end-joining for DNA repair, which is error-prone. This leads to the accumulation of small deletions in the genome, compromising genome integrity over time [48,49]. Acceleration of this process by genetic or environmental factors could deteriorate genome integrity to a point where normal cellular functions can no longer be sustained. A progressive decline



**Fig. 1.** Aging hallmarks and neurodegeneration—TEs as a missing link. Age is a major risk factor for NDs like AD and PD, and aging is considered an accelerating factor for the development of NDs, inducing a ‘pre-ND’ state. Primary hallmarks of aging are DNA damage and epigenetic alterations, which are both related to TE activity. Epigenetic alterations derepress TEs, some of which are themselves a source of DNA damage (and epigenetic alterations). Secondary hallmarks of aging show a significant overlap with known altered pathways of neurodegeneration, which are thought to result from a combination of genetic and environmental factors. TE activation might be amplified by several deregulated pathways like mitochondrial dysfunction, oxidative stress, impaired autophagy or neuroinflammation, and TEs might maintain or amplify this dysregulation (*i.e.*, neuroinflammation). Subsequently, these deregulated pathways could progressively lead to neurodegeneration.

in DNA repair mechanisms during brain aging might lead to the accumulation of unrepaired DNA strand breaks. The presence of unrepaired DNA lesions initiates altered cellular processes, including senescence and apoptosis [50], which altogether could be sufficient to initiate a neurodegenerative process [51]. A potential link between DNA damage/repair and neurodegeneration is further emphasized by the fact that mutations in several genes encoding DNA repair enzymes such as ataxia telangiectasia mutated (ATM) are associated with NDs [48]. Furthermore, accumulation of DNA strand breaks has been reported in the brains of AD, PD, and ALS patients [52–54], and a number of proteins (*e.g.*, tau,  $\alpha$ -synuclein, TDP-43) involved in these diseases also participate in DNA repair [55–57]. Malfunctioning of the DNA repair machinery leads to the degeneration of the nigrostriatal pathway in different mouse models [58]. Inefficient DNA repair has also been suggested to be an aging-related disease modifier in a mouse model of PD [53]. Indeed, mice lacking the DNA excision repair protein ERCC-1 (excision repair cross-complementation group 1) in dopaminergic neurons become more vulnerable to MPTP. The DNA repair system is also impaired in AD [59,60]. In addition, A $\beta$  aggregates have been shown to exacerbate the levels of DNA strand breaks in models of tauopathy [47]. It is noteworthy that

DNA repair involves transient and local chromatin relaxation [61]. However, excessive chromatin disorganization could be deleterious and contribute to neurodegeneration.

DNA is structured and compacted into chromatin, which can be further organized in euchromatin (transcriptionally active) or heterochromatin (denser, transcriptionally inactive). Constitutive heterochromatin is enriched in repetitive sequences and has structural functions [62]. In contrast, facultative heterochromatin contains coding sequences and is essential during development and in determining cell-type specificity [62]. Chromatin in these domains is more versatile and can revert to euchromatin under certain conditions [63]. It is now well established that epigenetic modifications, namely DNA methylation and post-translational modifications (*i.e.*, methylation or acetylation) of various histones, play crucial roles in the structuration of DNA into euchromatin or heterochromatin domains [64]. There is mounting evidence that epigenetic changes are implicated in normal brain aging and NDs [65–68]. Such modifications could alter gene expression and regulation. In accordance, many enhancers associated with genes involved in the early cell cycle, inflammation, and amyloid neuropathies have recently been shown to be differentially methylated in AD [69]. Dysregulation of histone acetylation has been reported

near genes involved in aging and AD or tauopathy [70,71]. Widespread alterations in histone acetylation have also been documented in the brains of PD patients [72]. Genome-wide epigenetic changes could disorganize the entire chromatin landscape, resulting in altered gene expression and regulation during aging and neurodegeneration. Similar to the heterochromatin loss model of aging [73], this suggests that normally repressed genes contained in heterochromatin domains may become accessible and re-expressed during aging. Global heterochromatin loss in the brain during aging could indeed be a key feature of NDs. Widespread destructure of heterochromatin resulting in aberrant gene expression has been reported in drosophila and mouse models of tauopathies and in AD patients [74]. Furthermore, the distribution of histone H3 lysine 9 trimethylation (H3K9me3) and heterochromatin binding protein 1 $\alpha$  (HP1 $\alpha$ ) was altered in neurons from tau-deficient mice [75]. Interestingly, gene expression profiles obtained by analyzing transcriptomes from AD brains were similar to those of a fetal brain [74], suggesting that heterochromatin structure in postmitotic neurons might be reverted to a de-differentiated state. Heterochromatin decondensation (indicated by the loss of repressive histone marks) was also reported in the *En1*<sup>+/-</sup> mouse model of PD and in cellular models of oxidative stress [31].

Importantly, epigenetic alterations and heterochromatin loss could cause the activation of dormant TEs. TEs, in turn, might become an additional source of DNA damage and genome instability and possibly contribute to several other pathological features of aging. We discuss below the emerging concept that TEs may represent new pathogenic players in NDs and a missing link between aging and neurodegeneration (Fig. 1).

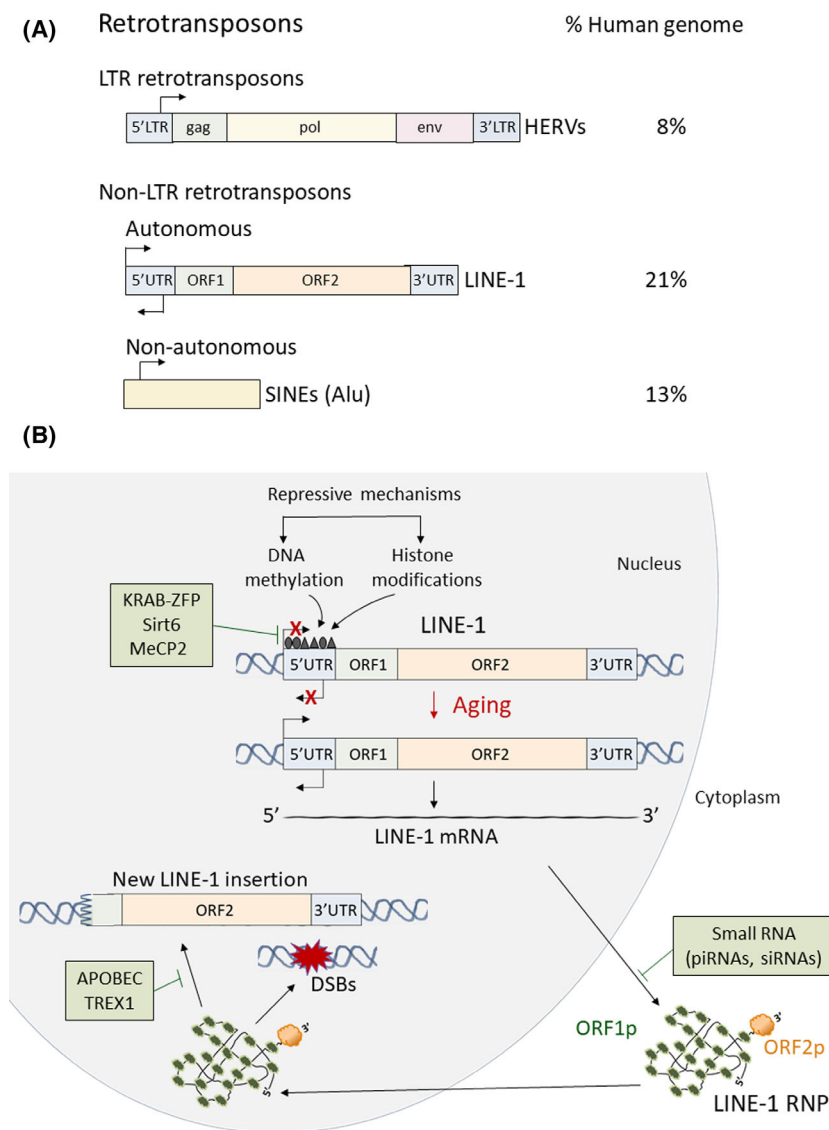
## TEs as sleeping culprits within the genome

### Overview of TEs

As mentioned above, a large portion of the human DNA is composed of repetitive sequences derived from TEs (also known as ‘jumping’ genes or mobile elements), which have self-amplified in the mammalian genomes during evolution (Fig. 2A) [76]. TEs comprise DNA transposons and retrotransposons (RTEs). DNA transposons, the TE class discovered by Barbara McClintock, mobilize using a ‘cut-and-paste’ mechanism. They have been very active during primate evolution but are now inactive in humans [77]. RTEs use a ‘copy-and-paste’ mechanism to self-amplify *via* an

RNA intermediate (retrotransposition). Depending upon the presence or absence of long terminal repeats (LTRs), they are divided into LTR RTEs (*i.e.*, endogenous retroviruses, ERVs or human ERVs, HERVs; Ty1-copia, Ty3-gypsy; terminal-repeat retrotransposon in miniature, TRIM) and non-LTR RTEs (*i.e.*, Long Interspersed Repeat-1, LINE-1; Short Interspersed Elements, SINEs; SINE-VNTR-Alu, SVA). SVA elements are evolutionarily derived from SINEs. While the LTR RTEs seem to have lost the ability to mobilize, and most of them have recombined to generate solo LTRs, the non-LTR RTEs are still mobile in humans [78]. LINE-1 elements are autonomous RTEs, whereas SINEs, comprised of human Alu sequences, and SVAs are nonautonomous RTEs that hijack the LINE-1 machinery for self-amplification (Fig. 2A) [79,80]. LINEs are the most widespread TEs, representing about 21% of the human genome. There are roughly 500 000 LINE-1 copies in the human genome, but most of them are fossilized (either mutated or truncated) and unable to move. Yet, more than 100 full-length LINE-1 (human-specific LINE-1 L1HS and older L1PA2 LINE-1) have retained their coding capacity and can potentially retrotranspose. However, only a limited number of these LINE-1 loci seem to account for the bulk of retrotransposition in the human population [81–83]. The number of potentially active, full-length LINE-1 elements in the mouse (L1Md-Tf, -A, and -Gf families) is much higher (around 3000) [84]. Full-length LINE-1 is composed of a 5′ untranslated region (UTR) containing two promoters on the sense and antisense DNA strands followed by two open reading frames (ORFs) and a 3′UTR, which contains a polyadenylation signal.

ORF1 codes for an RNA binding protein (ORF1p) whereas ORF2 codes for ORF2p that encompasses endonuclease and reverse transcriptase activities (Fig. 2A). The antisense transcript codes for ORF0 and could possibly yield fusion proteins and contribute to retrotransposon-mediated diversity at the level of gene expression [85]. LINE-1 retrotransposition involves several steps. Following transcription, LINE-1 mRNA is translocated to the cytoplasm for translation. The resulting proteins, ORF1p and ORF2p, bind to the LINE-1 mRNA forming ribonucleoprotein particles (RNPs), which translocate to the nucleus. The endonuclease activity of ORF2p generates a nick in the genomic DNA at a consensus site (5′TTTT/AA3′). The reverse transcriptase activity of ORF2p makes use of the exposed poly-T stretch as a primer to generate LINE-1 cDNA (target-primed reverse transcription, TPRT), which results in LINE-1 insertion within the genome [86–88]. Most insertions result in truncated



**Fig. 2.** RTE structure and their potential involvement in DNA strand breaks and genome instability. (A) Structure of LTR and non-LTR RTEs that have self-amplified in the human genome by a 'copy and paste' mechanism during evolution. The percent human genome represented by these RTEs is indicated on the right. (B) Failure of epigenetic repressive mechanisms with aging and LINE-1 activation could lead to DNA strand breaks and genomic instability. See text for details.

LINE-1 copies, as DNA repair pathways disrupt retrotransposition (Fig. 2B) [89,90]. It was recently shown that LINE-1 ORF2p binding in *cis* to the 3' poly(A) tail of LINE-1 RNA is required for LINE-1 retrotransposition, and binding in *trans* to the 3' poly(A) tract of cellular or other RNAs is required for their mobilization [91]. The 3' poly(A) tails of Alu RNAs efficiently compete with LINE-1 3' poly(A) tracts for the binding of LINE-1 ORF2p. Although TEs have played an important role in generating diversity and shaping the human genome throughout evolution, TEs can be an important source of mutation and genomic instability at the level of an individual. Indeed, LINE-1 insertions, depending upon the location, can lead to deleterious mutations, and ORF2p endonuclease activity, required for retrotransposition, can generate numerous

additional DNA strand breaks, compromising genome integrity (Fig. 2B). To date, over a hundred human diseases have been linked to retrotransposition events [9]. Several means to restrict LINE-1 activity exist at a cellular level, but as discussed in the following section, these repressive mechanisms start to fail with age.

### Failure of mechanisms repressing TEs with aging

The activity of TEs is kept in check by several epigenetic modifications (DNA methylation and/or histone methylation) favoring heterochromatin formation (Fig. 2B) [92,93]. TEs silencing pathways work the same way for most transposons [94,95]. We illustrate here some of the mechanisms used for LINE-1 repression in particular. The CpG islands within the 5'UTR



of LINE-1 become methylated during early development. These repressive marks are maintained by DNA methyltransferases (*i.e.*, DNA methyltransferase 1, DNMT1) and allow negative regulation (suppression of LINE-1 expression) by the methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) [95–97]. LINE-1 repression also involves histone modifications. For instance, nucleosomal and remodeling deacetylase (NuRD) multiprotein complexes form on LINE-1 promoters [98,99], which also possess binding sites for repressive transcription factors like Rb (retinoblastoma) or E2F that can recruit histone deacetylases (HDAC1, HDAC2). Kruppel-associated box (KRAB)-associated protein 1 (KAP1), a scaffolding protein, plays a central role in silencing LINE-1 elements [100]. KAP1 is recruited by KRAB-containing zinc finger proteins, a large family of transcription factors, upon binding to LINE-1 promoters. KAP1 then recruits SET domain bifurcated histone lysine methyltransferase 1 (SETDB1), a histone methyltransferase (HMT) that deposits H3K9me3 marks, as well as HDACs, NuRD complex proteins, and DNA methyltransferases (DNMTs). Similarly, the human silencing hub (HUSH) complex deposits H3K9me3 marks to repress young retrotransposons, including LINE-1 [101]. In addition, the sirtuin 6 (SIRT6) also participates in LINE-1 repression by ribosylating KAP1 [102]. This modification facilitates the interaction of KAP1 with its partners, particularly HP1 $\alpha$  (heterochromatin binding protein 1 $\alpha$ ) that contributes to transcriptional repression through heterochromatinization of LINE-1 promoters. H3K9me3 is an important repressive chromatin mark, which contributes to LINE-1 silencing. H1 linker histones also silence repetitive elements by promoting both histone H3K9 methylation and chromatin compaction [103]. Polycomb repressive complex 2 (PRC2) also participates in repressing young LINE-1 elements and other TEs through deposition of histone H3 lysine 27 trimethylation (H3K27me3) marks [94,104–106]. In addition, DNMT1 has been recently shown to recognize histone H4 lysine 20 trimethylation (H4K20me3) marks in heterochromatin to reinforce LINE-1 methylation [107]. Human TRIM5 $\alpha$  (tripartite motif-containing protein 5 $\alpha$ ) also senses and restricts LINE-1 elements [108]. In the germline, the small RNA-based P-Element induced wimpy testis (PIWI)-PIWI interacting RNA (piRNA) system silences TEs at the transcriptional level by promoting the recruitment of DNMTs and HMTs to TEs promoters, as well as at the post-transcriptional level [109]. Small interfering RNAs (siRNAs) resulting from bidirectional transcription of LINE-1 5'UTR [110] and microRNAs are involved in the degradation of LINE-1 mRNA in somatic cells; for

example, the microRNA mir-128 was shown to bind to LINE-1 mRNA and promote its degradation [111]. LINE-1 activity is also restricted at the post-transcriptional level by proteins such as APOBEC (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide-like) cytidine deaminases or TREX1 (the three prime repair exonuclease 1) [112,113]. Several host factors binding to the ORF1p protein were recently identified, which control LINE-1 retrotransposition at the post-transcriptional level [114–116]. Despite these multiple layers of repressive mechanisms, LINE-1 repression seems to decline with age (Fig. 2B). Expression of TEs, generally low in somatic tissues, increases with age in several tissues, including the brain [117–119]. The derepression of LINE-1 could thus contribute to the loss of genome integrity that characterizes aging [120].

In this context, it is interesting to recall the ‘transposon theory of aging’, which hypothesizes that epigenetically silenced TEs become reactivated as cellular defense and surveillance mechanisms break down with age [121,122]. It was indeed reported in drosophila that loss of heterochromatin with aging leads to unsilencing of heterochromatin repressed genes, including TEs [121]. Overexpression of proteins involved in heterochromatin maintenance was shown to stabilize chromatin, mitigate the age-related derepression of TEs, and increase healthy lifespan. Healthy aging was also promoted by degrading TE mRNAs or by blocking the reverse transcriptase activity of TEs. In contrast, inhibition of TE mRNA degradation following argonaute RISC (RNA-induced silencing complex) catalytic component 2 (Ago2) mutation led to a shortened lifespan [121]. Another striking example of the failure of TE repressive mechanisms with aging is provided with SIRT6 (sirtuin 6). As mentioned above, SIRT6 is an important LINE-1 repressor, but it also promotes longevity through different pathways, that is, promoting DNA repair, suppressing inflammation, and tumorigenesis. As DNA damage increases with age, SIRT6 accumulates at DNA strand breaks to coordinate DNA repair. This leads to a depletion of SIRT6 from LINE1 promoters, which results in their derepression [102]. Altogether, these results suggest that unsilencing of TEs resulting from heterochromatin loss could be an important contributor to aging.

The fact that activation of TEs during normal brain aging can be linked to functional neuronal decline was first shown in drosophila [117]. Bearing in mind that aging is the major risk factor for NDs, several groups have started to explore the role of TEs in the pathogenesis of NDs. Although previously seen as sleeping dogs in the genome, the reawakening of TEs is now

beginning to be documented in the context of NDs and provides a previously unrecognized link between aging, TEs, and neurodegeneration.

### Reawakening of TEs in neurodegeneration

Heterochromatin decondensation and TE derepression have now been documented in many models of NDs. Mutant tau (R406W) was shown to induce heterochromatin loss and neurodegeneration in a drosophila model of tauopathy [74]. Recently, an increase in TE transcripts has also been observed in these flies [123,124]. Pathogenic tau seems to accelerate the age-associated activation of TEs in the mouse central nervous system [125]. Dysregulated expression of TEs was also reported in the post-mortem brain tissues of patients with AD and progressive supranuclear palsy (another tauopathy) [126]. Hence, this pathologic characteristic might be conserved in human tauopathies. The fact that heterochromatin loss and derepression of TEs could be linked to neurodegeneration is further supported by the AD-like phenotype of mice lacking *Bmi1* (*BMI1* Proto-Oncogene, Polycomb Ring Finger), a protein involved in chromatin compaction. Indeed, in addition to the heterochromatin loss induced by *Bmi1* haplo-deficiency, these mice develop cognitive deficits with age and present neurodegenerative features similar to AD in addition to a derepression of repetitive elements [127]. Interestingly, *Bmi1* levels were also decreased in the brain of AD patients [128].

In the context of PD, epigenetic alterations reflecting heterochromatin loss and increased LINE-1 expression were also observed in dopaminergic neurons subjected to oxidative stress and in the *En1*<sup>+/-</sup> mouse model of PD [129]. Furthermore, global disruption of the DNA methylation landscape, induced by overexpression of *Gadd45b* (growth arrest and DNA damage-inducible beta, a protein involved in the brain in active DNA demethylation in the brain), was sufficient to induce chromatin disorganization, altered expression of key genes, and loss of dopaminergic neurons of the SNpc [130]. These alterations were accompanied by enhanced sensitivity to oxidative stress, extensive DNA damage, and increased LINE-1 transcripts and Orf1p protein levels, all preceding neurodegeneration. Derepression of LINE-1 and other TEs remains to be examined in PD patients.

The reawakening of TEs has also been reported in ALS and FTD [131]. These neurodegenerative diseases are characterized by cytoplasmic aggregates, which result in a loss of nuclear TDP-43 [132]. The nuclear RNA- and DNA-binding protein TDP-43 has been

shown to bind to LINE-1 DNA and TE transcripts [131,133,134]. Indeed, TDP-43 directly binds to TE mRNAs, and loss of TDP-43 results in overexpression of those particular LINE-1 targets and other TEs [134]. A good correspondence was found between the genomic TDP-43 targets and the specific mRNAs that are upregulated in ALS patients with TDP-43 pathology. These observations suggest that this protein either silences or regulates TE expression in the nucleus. A recent study further showed that neuronal nuclei lacking TDP-43, isolated from ALS patients, display increased chromatin accessibility around LINE-1 elements, indicating that TDP-43 is implicated in the silencing of TEs [133]. LINE-1 DNA copy numbers were also increased in TDP-43 negative nuclei [133], consistent with previous reports of increased reverse transcriptase activity in ALS [135,136]. This suggests that LINE-1 retrotransposition events might take place in ALS, but this still needs to be established [137]; this aspect is further discussed below. However, quantitative PCR (qPCR) measures of LINE-1 DNA must be taken with caution since they may also reflect aberrant or abortive reverse transcription events rather than retrotransposition [138–140]. Fly models of human TDP-43 also display impaired siRNA-mediated silencing and derepression of TEs, including LINE-1 and ERVs [141]. Derepression of HERV-K, a human ERV encoding the gag, pol, and env proteins, has also been documented in ALS, and derepression of the highly active mouse ERV IAP (intracisternal A-type particles) and production of IAP-encoded gag protein were reported in AD mouse models [125,142]. The role of ERVs in neurological disorders has been discussed in more depth in a recent review [143].

Altogether these studies support a pathogenic mechanism common to several NDs where epigenetic alteration and chromatin destructure could lead to the derepression of normally silenced TEs. However, other TE repressive cellular functions, such as impaired autophagy or mitochondrial dysfunction, are impaired in NDs and might contribute to TE activation. Autophagy has been shown to support genomic stability by degrading RTE RNA [144]. Impaired autophagy might thus lead to the accumulation of LINE-1 transcripts and eventually proteins. Mitochondrial dysfunction, a prominent feature of several NDs, might also trigger TE activity. A recent study using a reporter system revealed that mitochondrial stress increases LINE-1 retrotransposition in cultured cells [145]. In addition, ORF1p binds to several mitochondrial genome-encoded RNAs, and these RNAs are presumably released from dysfunctional mitochondria [146].

Through various downstream events following TE derepression that are not dependent on retrotransposition *per se*, the activation of TEs could contribute to, maintain, amplify, or even initiate neurodegeneration (Fig. 1). Chromatin destructurement might be a general hallmark of NDs and other neurological disorders. Expression of repetitive elements, including TEs, increased LINE-1 DNA copy numbers, and the loss of repressive chromatin marks on such sequences have been documented in several neurological pathologies, from NDs to psychiatric disorders [96,123,124,127,129,131,133,142,147–160] as summarized in Table 1. The reawakening of TEs might thus well be a common feature in neurodegeneration as well as other neurological disorders [155,161].

## TEs as potential pathogenic drivers

Although the molecular mechanisms through which TEs may contribute to the neurodegenerative process are not fully dissected, a scenario emerges whereby TEs might drive neurodegeneration through several

different pathways or a combination thereof. Which pathway predominates might additionally be dependent on cell type, brain region, and the TE-activating trigger.

## TEs and genomic instability

As mentioned above, the accumulation of DNA strand breaks was reported in several models of NDs and diseased brain tissues. In addition to many other known sources (*e.g.*, oxidative stress) that cause DNA damage, the reawakening of TEs in NDs could be an additional source of DNA strand breaks compromising genome integrity (Fig. 2B) [162], and thereby contributing to neuronal death. Overexpression of LINE-1 ORF2p in human cells induces numerous DNA strand breaks [163]. Whether LINE-1 activation leads to DNA strand breaks in the context of NDs was explored in the *En1*<sup>+/-</sup> mouse model of PD [129]. Acute oxidative stress, as expected, led to DNA damage in mouse dopaminergic neurons but also increased LINE-1 expression. Interestingly, the increase in

**Table 1.** Increased expression of TEs and other repetitive DNA-derived transcripts in neurodegenerative and neurological disorders.

Disease	TEs/ repetitive family	Observation <sup>a,b</sup>	References
Alzheimer's disease (AD)/tauopathies	LINE-1 HERVs SINEs Satellite DNA	Increased TEs transcript levels. Increased satellite DNA transcripts (mouse model). Loss of heterochromatin and presence of DNA damage response at satellite sequences	[123,124,127]
Parkinson disease (PD)	LINE-1	Increased LINE-1 transcript levels (mouse model)	[129]
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)–frontotemporal dementia (FTD)	LINE-1 HERV-K LTRs SINEs	Increased TE transcript levels. Chromatin decondensation around LINE-1 sequences. Increased LINE-1 copy number	[131,133,142,147,148]
Multiple sclerosis (MS)	HERVs	Increased transcript levels	[149]
Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS)	LTRs	Increased transcript levels (fly model)	[150]
Ataxia telangiectasia (AT)	LINE-1	Increased LINE-1 copy number	[151,152]
Macular degeneration	Alu	Increased transcript levels	[153]
Rett syndrome (RTT)	LINE-1	Increased LINE-1 copy number	[96]
Sporadic Creutzfeldt–Jakob disease	HERVs	Increased transcript levels in CSF	[154]
Aicardi-Goutières syndrome (AGS)	LINE-1	Increased transcript levels. Increased LINE-1 copy number. Accumulation of cytosolic RNA/DNA (mouse model)	[155]
Autism spectrum disorder (ASD)	LINE-1 HERVs Alu	Loss of repressive marks on TEs. Increased TEs and Alu transcript levels (HERVs in PBMCs). Increased LINE-1 copy number	[152,156,157]
Bipolar Disorder (BD)	HERVs	Increased transcript levels	[158]
Schizophrenia (SCZ)	LINE-1 HERVs	Increased TE transcript levels. Increased LINE-1 Copy number (insertion in synapse and SCZ-related genes)	[158–160]

<sup>a</sup>Unless stated otherwise, the observations were made in the post-mortem brain tissues of patients.; <sup>b</sup>The analysis of LINE-1 DNA copy number by qPCR must be taken with caution as discussed in the text. CSF, cerebrospinal fluid; PBMCs, peripheral blood mononuclear cells.

LINE-1 transcripts preceded the occurrence of DNA strand breaks, suggesting that LINE-1 activity could contribute to oxidative stress-induced DNA damage. This was further supported by the fact that anti-LINE-1 strategies such as siRNA targeted against ORF2, Piwi1 overexpression, or a reverse transcriptase inhibitor (stavudine) all reduced DNA breaks induced by oxidative stress. Overexpression of LINE-1 in embryonic midbrain neuronal cultures (following transfection) increased DNA damage, which was mitigated by anti-LINE-1 strategies. Increased DNA damage following the unsilencing of TEs has also been reported in the *Bmi1* knockout mouse model of AD [127].

Although LINE-1 retrotransposition has been reported in certain neurological disorders such as schizophrenia [159,160], the question as to whether retrotransposition events can take place in postmitotic neurons in the adult is still a matter of debate. *De novo* LINE-1 insertions were initially thought to occur only in the germline. However, a growing body of evidence supports retrotransposition of LINE-1 in the healthy brain, at least in neuronal progenitor cells (NPCs) and during adult neurogenesis [151,164,165]. These somatic insertions seem to be rather specific to brain tissue. Compared to the germline, these insertions are mainly located in genes associated with neurogenesis and synaptic functions [164], a stochastic way to achieve neuronal mosaicism [165], although the frequency at which retrotransposition occurs is still debated and technical issues are not entirely resolved [140]. From a pathological point of view, abnormal expression of TEs and/or LINE-1 retrotransposition in neuronal progenitors during brain development might be at the origin of certain neurological disorders appearing in the adult age [12]. Interestingly, LINE-1 retrotransposition was recently demonstrated *in vitro* in nondividing mature neurons using a LINE-1 retrotransposition assay, suggesting that retrotransposition might also take place in postmitotic neurons *in vivo* [166]. Whether new insertions occur in mature neurons in the adult brain and contribute to the pathogenesis of NDs needs to be further investigated.

### TEs and aberrant gene expression

Another way in which TEs could be pathogenic drivers is by contributing to the aberrant gene expression patterns observed in NDs [167,168]. It is now well documented that TEs can serve as regulatory elements during development [7,169,170]. The presence or absence of epigenetic marks on TE sequences can impact host gene transcription. TEs are thought to be

heavily repressed in adulthood. However, several genome-wide studies mapping transcriptional activities or binding of transcription factors suggest that TE repression might not be drastic but rather dynamic [171], allowing TEs to participate in gene regulation [172]. Indeed, whether full-length and actively transcribed or fossilized and inactive, these sequences contain promoters, binding sites for transcription factors, and cryptic splice sites [173–175]. Some TEs might have been co-opted by the cell and have become part of regulatory networks throughout evolution, while others may have remained tightly silenced by repressive epigenetic marks. For instance, using a CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) and guide RNA (gRNA) multiplexing method, it has been established in human embryonic cells that transcriptional activation or silencing of LTR-5Hs elements (isolated promoters from a young human HERV-K family) was correlated to the up- or downregulation of hundreds of human genes, reinforcing the idea that HERVs can act as early embryonic enhancers [176]. Epigenetic modifier drugs (DNMT and HDAC inhibitors) induce transcription from LTRs and lead to a high number of chimeric RNAs [177]. It was recently shown that primate-specific KRAB zinc finger proteins and their target retrotransposons control gene expression in human neurons [178]. Activation of LINE-1 elements was also shown in human neuronal progenitors following global DNA demethylation [12]. The loss or alteration of repressive marks during aging or in NDs could allow TE sequences to alter the expression of hosting or neighboring genes [179]. For instance, intronic LINE-1 can modify the splicing of their host gene through a mechanism called exonization, leading to the presence of the LINE-1 as an additional exon in the gene transcript [174,180]. Alterations in gene splicing could disrupt gene expression by changing the reading frame, introducing premature stop codons, or decreasing transcript stability. Several RNA binding proteins which repress splicing were found to bind young LINE-1 sequences present in introns of pre-mRNAs to prevent alternative splicing and exonization of LINE-1-derived sequences by insulating numerous splice sites contained in active LINE-1 retrotransposons [174]. The polyadenylation signal in the 3'UTR of LINE-1 could alter the elongation of host gene transcription, resulting in fewer normal or shortened transcripts, leading to truncated proteins or even loss of proteins. Binding of transcription factors to promoters, such as LTRs or the 5'UTR of LINE-1, could modulate transcription of neighboring genes in an enhancer-like fashion. TE promoters could also serve as alternative promoters yielding

chimeric transcripts due to the sense and antisense promoters present in the 5'UTR of LINE-1 initiating bidirectional transcription [179]. It was recently shown that G-quadruplexes originating from evolutionarily conserved LINE-1 elements interfere with neuronal gene expression in AD [181]. Some of these mechanisms through which TEs can alter host gene expression are illustrated in Fig. 3.

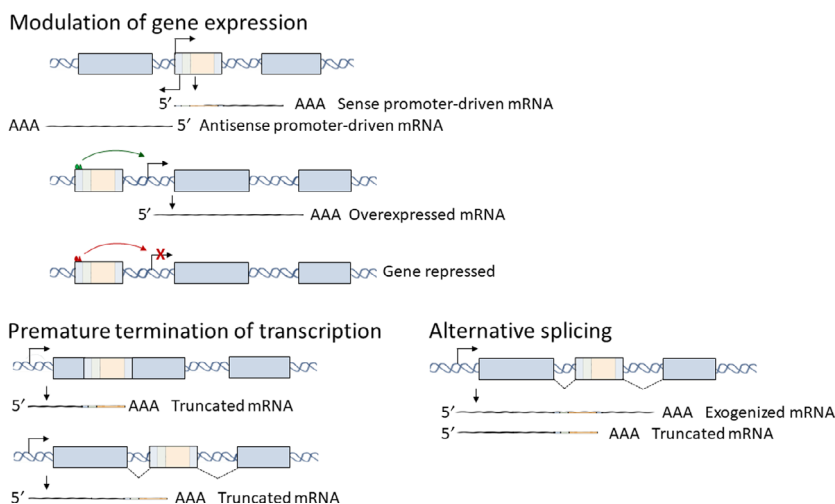
Even though TE repression might not be as rigid as previously thought, repressive marks of heterochromatin present on these elements could spread over short distances, thus participating in local chromatin organization. Loss of these marks could derepress genes (in the vicinity), with potentially deleterious consequences, when expressed. As mentioned above, gene expression profiles from the brain of AD patients resemble that of fetal brains, which includes the re-expression of cell-cycle genes and might partly be due to TE dysregulation. The expression of cell-cycle genes indicates a loss of postmitotic neuronal identity and results in an attempt to re-enter into the cell cycle, a process which can lead to neurodegeneration [74,182,183]. Interestingly, mounting evidence suggests the direct effects of TE transcripts in the regulation of gene expression. LINE-1 transcripts, for instance, bind H2B histones and participate in chromatin decompaction [184], and m6A modification of LINE-1 transcripts might enhance their association with DNA to stabilize heterochromatin [185]. It was recently suggested that m6A RNA modification, which enhances LINE-1 mRNA translation and increases retrotransposition, might have been a driving force for the successful amplification of LINE-1 elements during evolution [186]. As mentioned above, it is conceivable that LINE-1 retrotransposition events could actively take place in the aging brain following neuronal de-

differentiation. To what extent epigenetic modifications and/or expression of TEs contribute to transcriptional dysregulation in NDs remains to be dissected.

Finally, recent studies support the idea that TEs could be involved in higher-order 3D chromatin organization [187–189], suggesting that alteration of their epigenetic state might perturb chromatin structuration and affect gene expression globally. The 3D organization of chromatin is essential for the formation of complex regulatory networks, allowing long-range interactions between enhancers and promoters [190]. TEs are suspected to have contributed to the emergence of species-specific loops in mammals and genome regulation by harboring binding sites for regulatory factors, like CCCTC-binding factor (CTCF). TEs constitute up to 15% of CTCF-binding sites in the genome [191], implicating TEs as topologically associating domain (TAD) organizers. The identification of CTCF as a factor binding to the 5' and 3'UTRs of LINE-1 further suggests their possible involvement in 3D chromatin structuration [124]. It was reported that LINE-1 transcription *per se* during early mouse development could increase global chromatin accessibility [192]. More recently, ERVs have also been shown to demarcate TAD boundaries in chromosomes [193]. Since the binding of CTCF to DNA is methylation-dependent, it is conceivable that DNA methylation changes during aging and in NDs might induce not only derepression of TEs but also a profound perturbation of the 3D organization of chromatin.

### TEs and neuroinflammation

Neuroinflammation is a common feature of brain aging and NDs [194], but the origins have so far

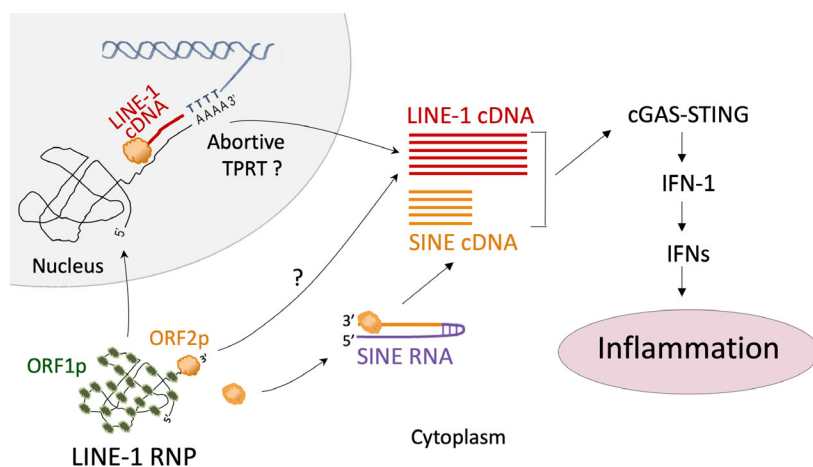


**Fig. 3.** TE contribution to altered host gene expression. Some striking mechanisms through which TEs could affect host gene expression are depicted. Modulation of host gene expression could occur through bidirectional transcription from intronic TEs and the extent of epigenetic modifications of TEs. Premature termination of transcription and alternative splicing could also affect host gene expression. See text for further details.

remained elusive. In recent years, mitochondria have emerged as an important player in activating innate immune response and neuroinflammation. The release of mitochondrial constituents (*i.e.*, mtDNA fragments or mitochondrial RNAs) in the cytoplasm, following mitochondrial stress, activates the innate immune system through the cytosolic DNA sensing cGAS (cyclic GMP-AMP synthase)-STING (stimulator of interferon response CGAMP interactor 1) or Toll-like receptors (TLRs) pathways [195,196]. Interestingly, the PD-related genes Parkin and PINK1 seem to mitigate STING-induced inflammation [196]. It should be recalled that the presence of cytoplasmic double-stranded RNA (dsRNA) is a hallmark of viral infections [197]. In mammalian cells, the detection of viral nucleic acids activates a signaling pathway that culminates in the expression of type I IFN (IFN1) and activation of proinflammatory cytokines. TE activity is a potential source of unusual, virus-resembling intracellular nucleic acid conformations (*i.e.*, RNA stem loops, dsRNA, ssDNA, or DNA:RNA hybrids) detected by the innate immune surveillance system and triggering an antiviral IFN1 response. Although this activation is a critical antiviral response, uncontrolled production of interferons (IFNs) could contribute to inflammatory or autoimmune diseases. As discussed above, repetitive element transcripts have been associated with toxicity and increased repetitive element expression has been observed in several NDs. For instance, transcripts from multiple classes and subclasses of repetitive elements (*i.e.*, LINE-1, ERVs, DNA transposons, simple repeats, *etc.*) were significantly increased in the frontal cortex of C9orf72 ALS patients [148]. Alu RNAs are known to be the most important source of dsRNA-mediated IFN response [198,199]. It was reported that cGAS detection of TE transcripts drives noncanonical-inflammasome

activation in age-related macular degeneration [200]. Interestingly, the nuclear RNA helicase DHX9 (DEXH-Box Helicase 9) neutralizes RNA processing defects caused by Alu invasion by resolving long dsRNAs, allowing proper RNA processing and nuclear export [201]. Moreover, constitutive activation of MDA5 (melanoma differentiation-associated protein 5, a cytosolic innate immune receptor that recognizes long dsRNA) in Aicardi Goutières syndrome (AGS) results from the loss of tolerance to cellular dsRNAs formed by Alu retroelements [202].

Nucleases such as TREX1 or RNase H2 also prevent the accumulation of cytoplasmic nucleic acids derived from TEs. Mutations resulting in loss of TREX1 activity lead to autoimmune or inflammatory diseases like AGS or some familial forms of lupus. A recent AGS study provided the proof of principle that LINE-1 cDNA accumulation could be a source of neuroinflammation [203]. TREX1 deficiency led to the accumulation of extranuclear single-stranded DNA (ssDNA) in the cytoplasm of both neurons and glial cells. This was prevented by short-hairpin RNA (shRNA) targeted against LINE-1 mRNA, indicating that LINE-1 activity contributes to the accumulation of cytoplasmic nucleic acids. The accumulation of LINE-1-derived cDNA in the cytosol leads to the neurotoxic secretion of IFNs. The phenotype resulting from TREX-1 deficiency was rescued by using reverse transcriptase inhibitors or blockers of neuronal IFN receptors. Thus, increased LINE-1 reverse transcriptase activity can mediate neuroinflammation and neurotoxicity through the IFN pathway (Fig. 4). Furthermore, two other studies recently supported the capacity of LINE-1 activation to trigger an inflammatory phenotype. LINE-1 derepression resulting from SIRT6 deficiency was identified as a source of inflammation in different tissues, including the brain. The



**Fig. 4.** TE activation as a potential source of neuroinflammation. Increased LINE-1 reverse transcriptase activity can lead to the accumulation of cytosolic cDNA, which could result in activation of IFN1 response, neuroinflammation, and neurotoxicity via the cGASSTING pathway. See text for details.

SIRT6 knockout mouse is a progeroid model of accelerated aging and displays growth retardation, elevated LINE-1 activity, and shortened lifespan. SIRT6 deficiency led to the accumulation of cytoplasmic LINE-1 cDNA in cells and tissues in this model, which triggered a strong inflammatory response by activating the IFN1 response through the cGAS-STING pathway [203,204]. Reverse transcriptase inhibitors improved the lifespan of these mice and mitigated the IFN response. LINE-1 knockdown using siRNAs reduced the IFN response as well as DNA damage in SIRT6-deficient cells. Likewise, LINE-1 transcripts, cytoplasmic cDNA, and IFNs were all elevated in aged wild-type mice, supporting the hypothesis that LINE-1 derepression is involved in sterile inflammation that occurs in aging (known as 'inflammaging'). The HUSH complex was also reported to be a gatekeeper of IFN1 through epigenetic regulation of LINE-1 [205]. As repressive mechanisms decline with age, LINE-1 derepression and increased reverse transcriptase activity of ORF2p in proliferating cells could activate the IFN1 response and lead to senescence-associated secretory phenotype (SASP) [206]. Neurons (as nondividing cells) can also present a senescent-like phenotype, and various senescent markers have been found in glial cells of AD and PD patients [207]. Neuroinflammation has also been observed in the *En1*<sup>+/-</sup> mouse model of PD [37], which shows elevated levels of LINE-1 expression. However, an effect on cytosolic cDNA accumulation in dopaminergic neurons has not yet been tested in this model. A recent study showed that LINE-1 reverse transcriptase could also generate cDNA within the cytoplasm using SINE RNA as a template following self-priming [208], bringing closer to the possibility of LINE-1 RNA serving as a template to generate LINE-1 cDNA in the cytoplasm (Fig. 4). Finally, the production and aggregation of proteins encoded by ERVs activated during development were found to be another source of neuroinflammation appearing in the adult age. More importantly, this study showed for the first time that TEs expression alone in the absence of other alterations or pathology can be sufficient to induce microglial activation, a characteristic feature seen in most NDs [209]. Further studies are needed to examine whether and to what extent reawakening of TEs and LINE-1 activity contribute to neuroinflammation in NDs.

### TEs and mitochondria

Emerging evidence suggests that mitochondrial integrity could also be impaired by TE activity. In the context of age-related macular degeneration, Alu elements

could be involved in mitochondrial dysfunction. Alu RNA can provoke mtDNA release into the cytosol by promoting the opening of mitochondrial permeability transition pore [200]. Moreover, in the absence of the endoribonuclease DICER1, the accumulation of Alu RNA leads to mitochondrial ROS production [210,211]. These two phenomena activate the NLRP3 (NLR Family Pyrin Domain Containing 3)-dependent inflammasome pathways. It is also noteworthy that Alu sequences appear to be preferentially located in introns of genes implicated in mitochondrial pathways, and epigenetic dysregulation of Alu elements could ultimately disrupt mitochondrial homeostasis within the central nervous system and contribute to the development of NDs [212]. LINE-1 ORF1p and ORF2p proteins interact with mitochondrial proteins [114]. ORF1p binds to ERAL1 (Era Like 12S mitochondrial rRNA chaperone 1), a mitochondrial GTPase, whereas ORF2p binds to TIMM13 (translocase of inner mitochondrial membrane 13) and TOMM40 (translocase of outer mitochondrial membrane 40), but the role of these interactions remains unknown [115,116]. All these observations point to important connections that might exist between the activity of TEs, mitochondrial dysfunction, and other pathological hallmarks of NDs (Fig. 1).

### TEs as new therapeutic targets

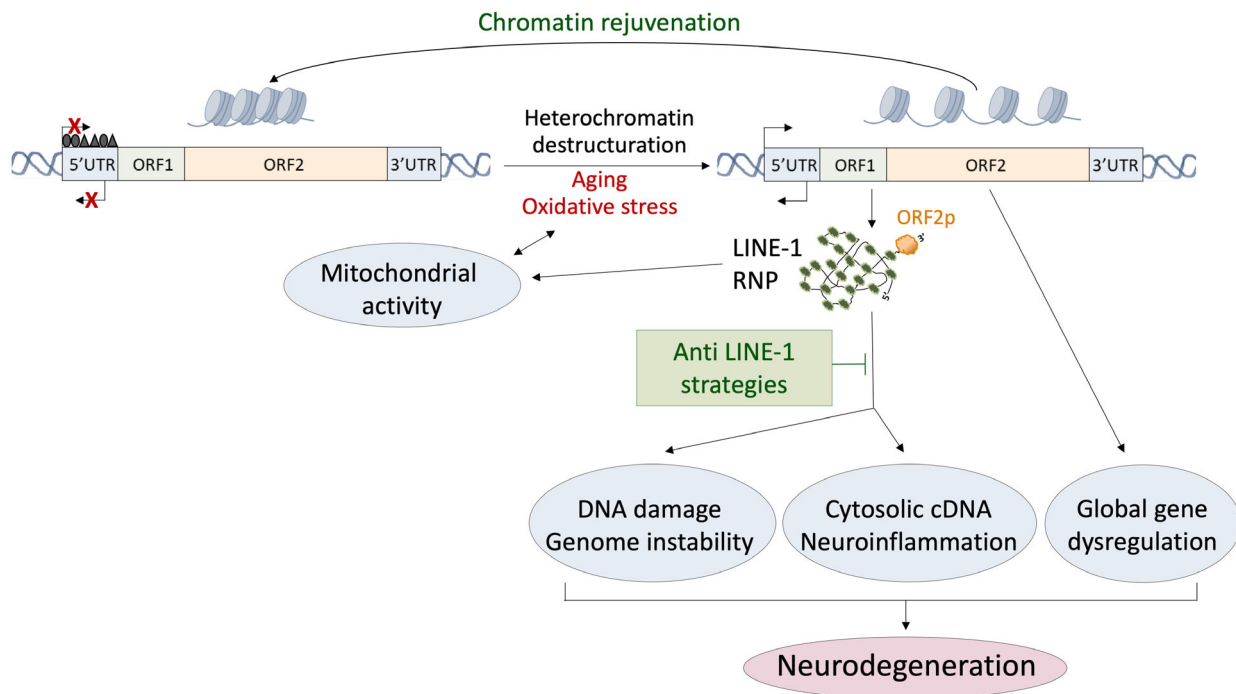
It emerges from all the studies discussed above that inhibiting TE expression and/or blocking their activity could constitute a novel therapeutic approach in age-related pathologies and, more specifically, in NDs. In several models, targeted degradation of TE transcripts, delivery of transcriptional repressors, or use of reverse transcriptase inhibitors conferred neuroprotection and anti-inflammatory properties, extended healthy lifespan, and rescued pathological phenotypes in general. As mentioned above, anti-LINE-1 strategies prevent the loss of dopaminergic neurons in the *En1*<sup>+/-</sup> mouse model of PD. It is noteworthy that the Engrailed protein itself is a therapeutic protein and protects dopaminergic neurons by directly repressing LINE-1 elements [129]. It would be interesting to test the therapeutic potential of strategies that block the expression or activity of TEs in NDs. Indeed, several ongoing clinical trials are currently testing the safety and tolerability of reverse transcriptase inhibitors in AD (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04500847>; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT04552795>), ALS [213], and AGS (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02363452>). These approaches are based on the use of reverse transcriptase inhibitors either alone or in

combination with anti-HERV integrase inhibitors [143] to target different TEs. Another therapeutic target could be chromatin itself since chromatin relaxation occurs in aging and several NDs. Preventing the loss of repressive marks might avoid the expression of TEs and associated deleterious pathological effects. More importantly, epigenetic modifications of TEs might alter the entire spatial organization of chromatin. Maintaining a juvenile and healthy chromatin state could also prevent genome-wide alterations of the transcriptome observed with aging and neurodegeneration [214]. One way to prevent chromatin loss could be to overexpress proteins involved in heterochromatin maintenance. Indeed, overexpression of genes known to affect heterochromatin structure like Sirt2 (sirtuin 2), the orthologue of Sirt1 (sirtuin 1; a deacetylase important for gene silencing), Su(var)3-9 (an H3K9 methyltransferase), or DICER 2, which recruits Su(var)3-9 at TE sites, led to increased lifespan in drosophila, whereas shRNA against those genes accelerated aging and shortened lifespan [121]. Alternatively, heterochromatin-promoting drugs such as remodelin [215] or methotrexate [63] shown to restore a juvenile chromatin state in models of accelerating aging or

autoimmune diseases could also have a therapeutic potential in NDs.

## Conclusions and perspectives

In conclusion, all of the studies discussed in this review support the concept that TEs represent a key pathogenic culprit linking brain aging and neurodegeneration. They also unveil a new unifying pathogenic axis for NDs in which age-induced chromatin destructure could lead to TE activation and its resulting deleterious effects, cumulating in neurodegeneration as illustrated in Fig. 5. Activation of TEs and a number of pathological features are common to various NDs, thus suggesting that they might be interconnected. As discussed above, this new axis also suggests important connections between mitochondrial activity and TEs. These new findings should revive interest in further exploring the role of ‘the dark side’ of DNA in neurodegeneration and other human diseases. It is tempting to speculate that TE activation might represent the tenth hallmark of aging and neurodegeneration. It is then not surprising that TEs are also being regarded as appealing targets for novel therapeutic interventions



**Fig. 5.** A new emerging pathogenic axis for NDs. Chromatin relaxation with oxidative stress and aging can result in LINE-1 activation leading to several pathological consequences common to many NDs, namely DNA strand breaks and genomic instability, neuroinflammation, and gene dysregulation. A possible interplay between mitochondria and TEs is also depicted. Inhibition of TEs activity or chromatin rejuvenation represents potential targets for neuroprotection.



for aging and NDs. In this regard, it will be particularly interesting to evaluate the therapeutic efficacy of reverse transcriptase inhibitors for neuroprotection in NDs.

## Acknowledgements

This work was supported by grants from the Fondation de France (00086320 to JF), the Fondation du Collège de France (to JF) and the National French Agency for Research (Agence nationale pour la recherche, ANR-20-CE16-0022 NEURAGE to JF). RZ and TB are enrolled in the Ecole Doctorale 3C at the Sorbonne Université, Paris, France. RZ acknowledges the Fondation pour la Recherche sur Alzheimer (FRA) for a fellowship. TB acknowledges the Fondation du Collège de France for a fellowship. We also thank the Fondation Bettencourt Schueller for their support.

## References

- Dugger BN and Dickson DW (2017) Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **9**, a028035.
- Heemels M-T (2016) Neurodegenerative diseases. *Nature* **539**, 179.
- Hurtley S and Alderton G (2020) Neurodegeneration. *Science* **370**, 48–49.
- Britten RJ and Kohne DE (1968) Repeated sequences in DNA. Hundreds of thousands of copies of DNA sequences have been incorporated into the genomes of higher organisms. *Science* **161**, 529–540.
- International Human Genome Sequencing Consortium (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409**, 860–921.
- McClintock B (1950) The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc Natl Acad Sci USA* **36**, 344–355.
- Friedli M and Trono D (2015) The developmental control of transposable elements and the evolution of higher species. *Annu Rev Cell Dev Biol* **31**, 429–451.
- Bourque G, Burns KH, Gehring M, Gorbunova V, Seluanov A, Hammell M, Imbeault M, Izsvák Z, Levin HL, Macfarlan TS *et al.* (2018) Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol* **19**, 199.
- Kazazian HH and Moran JV (2017) Mobile DNA in health and disease. *N Engl J Med* **377**, 361–370.
- Payer LM and Burns KH (2019) Transposable elements in human genetic disease. *Nat Rev Genet* **20**, 760–772.
- Burns KH (2017) Transposable elements in cancer. *Nat Rev Cancer* **17**, 415–424.
- Jönsson ME, Ludvik Brattås P, Gustafsson C, Petri R, Yudovich D, Piracs K, Verschuere S, Madsen S, Hansson J, Larsson J *et al.* (2019) Activation of neuronal genes via LINE-1 elements upon global DNA demethylation in human neural progenitors. *Nat Commun* **10**, 3182.
- Thomas CA, Paquola ACM and Muotri AR (2012) LINE-1 retrotransposition in the nervous system. *Annu Rev Cell Dev Biol* **28**, 555–573.
- Moore DJ, West AB, Dawson VL and Dawson TM (2005) Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci* **28**, 57–87.
- Kurowska Z, Kordower JH, Stoessl AJ, Burke RE, Brundin P, Yue Z, Brady ST, Milbrandt J, Trapp BD, Sherer TB *et al.* (2016) Is axonal degeneration a key early event in Parkinson's disease? *J Parkinsons Dis* **6**, 703–707.
- Fu H, Hardy J and Duff KE (2018) Selective vulnerability in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci* **21**, 1350–1358.
- Gan L, Cookson MR, Petrucelli L and La Spada AR (2018) Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. *Nat Neurosci* **21**, 1300–1309.
- Spillantini M, Schmidt M, Lee V, Trojanowski J, Jakes R and Goedert S (1997) Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* **388**, 839–840.
- Mackenzie IRA and Rademakers R (2008) The role of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Curr Opin Neurol* **21**, 693–700.
- James BD, Wilson RS, Boyle PA, Trojanowski JQ, Bennett DA and Schneider JA (2016) TDP-43 stage, mixed pathologies, and clinical Alzheimer's-type dementia. *Brain* **139**, 2983–2993.
- Frost B and Diamond MI (2010) Prion-like mechanisms in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* **11**, 155–159.
- Brundin P, Melki R and Kopito R (2010) Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Mol Cell Biol* **11**, 301–307.
- Braak H, Tredici KD, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH and Braak E (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* **24**, 197–211.
- Kalia LV and Lang AE (2015) Parkinson's disease. *Lancet* **386**, 896–912.
- Bellenguez C, Grenier-Boley B and Lambert J-C (2020) Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going. *Curr Opin Neurobiol* **61**, 40–48.
- Langston J, Ballard P, Tetrud J and Irwin I (1983) Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* **219**, 979–980.
- Schapira AH (2008) Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* **7**, 97–109.

- 28 Schon EA and Przedborski S (2011) Mitochondria: the next (neurode)generation. *Neuron* **70**, 1033–1053.
- 29 Lin MT and Beal MF (2006) Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* **443**, 787–795.
- 30 Reddy PH and Oliver DM (2019) Amyloid beta and phosphorylated tau-induced defective autophagy and mitophagy in Alzheimer's disease. *Cells* **8**, E488.
- 31 Rekaik H, Blaudin de Thé F-X, Prochiantz A, Fuchs J and Joshi RL (2015) Dissecting the role of Engrailed in adult dopaminergic neurons - Insights into Parkinson disease pathogenesis. *FEBS Lett* **589**, 3786–3794.
- 32 Sugiura A, McLelland G-L, Fon EA and McBride HM (2014) A new pathway for mitochondrial quality control: mitochondrial-derived vesicles. *EMBO J* **33**, 2142–2156.
- 33 Dawson TM, Golde TE and Lagier-Tourenne C (2018) Animal models of neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci* **21**, 1370–1379.
- 34 Di Nardo AA, Fuchs J, Joshi RL, Moya KL and Prochiantz A (2018) The physiology of homeoprotein transduction. *Physiol Rev* **98**, 1943–1982.
- 35 Sonnier L, Le Pen G, Hartmann A, Bizot J-C, Trovero F, Krebs M-O and Prochiantz A (2007) Progressive loss of dopaminergic neurons in the ventral midbrain of adult mice heterozygote for Engrailed1. *J Neurosci* **27**, 1063–1071.
- 36 Nordström U, Beauvais G, Ghosh A, Pulikkaparambil Sasidharan BC, Lundblad M, Fuchs J, Joshi RL, Lipton JW, Roholt A, Medicetty S *et al.* (2015) Progressive nigrostriatal terminal dysfunction and degeneration in the engrailed1 heterozygous mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* **73**, 70–82.
- 37 Ghosh A, Tyson T, George S, Hildebrandt EN, Steiner JA, Madaj Z, Schulz E, Machiela E, McDonald WG, Escobar Galvis ML *et al.* (2016) Mitochondrial pyruvate carrier regulates autophagy, inflammation, and neurodegeneration in experimental models of Parkinson's disease. *Sci Transl Med* **8**, 368ra174.
- 38 Blaudin de Thé F-X, Rekaik H, Prochiantz A, Fuchs J and Joshi RL (2016) Neuroprotective transcription factors in animal models of Parkinson disease. *Neural Plast* **2016**, 1–11.
- 39 Collier TJ, Kanaan NM and Kordower JH (2011) Ageing as a primary risk factor for Parkinson's disease: evidence from studies of non-human primates. *Nat Rev Neurosci* **12**, 359–356.
- 40 Hou Y, Dan X, Babbar M, Wei Y, Hasselbalch SG, Croteau DL and Bohr VA (2019) Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* **15**, 565–581.
- 41 Mahlknecht P, Seppi K and Poewe W (2015) The concept of prodromal Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis* **5**, 681–697.
- 42 Mattson MP and Arumugam TV (2018) Hallmarks of brain aging: adaptive and pathological modification by metabolic states. *Cell Metab* **27**, 1176–1199.
- 43 López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M and Kroemer G (2013) The hallmarks of aging. *Cell* **153**, 1194–1217.
- 44 Kazak L, Reyes A and Holt IJ (2012) Minimizing the damage: repair pathways keep mitochondrial DNA intact. *Nat Rev Mol Cell Biol* **13**, 659–671.
- 45 Chow H and Herrup K (2015) Genomic integrity and the ageing brain. *Nat Rev Neurosci* **16**, 672–684.
- 46 Raichle ME and Gusnard DA (2002) Appraising the brain's energy budget. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 10237–10239.
- 47 Suberbielle E, Sanchez PE, Kravitz AV, Wang X, Ho K, Eilertson K, Devidze N, Kreitzer AC and Mucke L (2013) Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid- $\beta$ . *Nat Neurosci* **16**, 613–621.
- 48 Rass U, Ahel I and West SC (2007) Defective DNA repair and neurodegenerative disease. *Cell* **130**, 991–1004.
- 49 McKinnon PJ (2013) Maintaining genome stability in the nervous system. *Nat Neurosci* **16**, 1523–1529.
- 50 d'Adda di Fagagna F (2008) Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer* **8**, 512–522.
- 51 Madabhushi R, Pan L and Tsai L-H (2014) DNA damage and its links to neurodegeneration. *Neuron* **83**, 266–282.
- 52 Mitra J, Guerrero EN, Hegde PM, Liachko NF, Wang H, Vasquez V, Gao J, Pandey A, Taylor JP, Kraemer BC *et al.* (2019) Motor neuron disease-associated loss of nuclear TDP-43 is linked to DNA double-strand break repair defects. *Proc Natl Acad Sci USA* **116**, 4696–4705.
- 53 Sepe S, Milanese C, Gabriels S, Derks KWJ, Payan-Gomez C, van IJcken WFJ, Rijkse YMA, Nigg AL, Moreno S, Cerri S *et al.* (2016) Inefficient DNA repair is an aging-related modifier of Parkinson's disease. *Cell Rep* **15**, 1866–1875.
- 54 Shanbhag NM, Evans MD, Mao W, Nana AL, Seeley WW, Adame A, Rissman RA, Masliah E and Mucke L (2019) Early neuronal accumulation of DNA double strand breaks in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun* **7**, 77.
- 55 Sultan A, Nessler F, Violet M, Bégard S, Loyens A, Talahari S, Mansuroglu Z, Marzin D, Sergeant N, Humez S *et al.* (2011) Nuclear Tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Bio Chem* **286**, 4566–4575.
- 56 Schaser AJ, Osterberg VR, Dent SE, Stackhouse TL, Wakeham CM, Boutros SW, Weston LJ, Owen N, Weissman TA, Luna E *et al.* (2019) Alpha-synuclein is a DNA binding protein that modulates DNA repair

- with implications for Lewy body disorders. *Sci Rep* **9**, 10919.
- 57 Mita P, Wudzinska A, Sun X, Andrade J, Nayak S, Kahler DJ, Badri S, LaCava J, Ueberheide B, Yun CY *et al.* (2018) LINE-1 protein localization and functional dynamics during the cell cycle. *eLife* **7**, e30058.
- 58 Eilam R, Peter Y, Elson A, Rotman G, Shiloh Y, Groner Y and Segal M (1998) Selective loss of dopaminergic nigro-striatal neurons in brains of Atm-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 12653–12656.
- 59 Yu H, Harrison FE and Xia F (2018) Altered DNA repair; an early pathogenic pathway in Alzheimer's disease and obesity. *Sci Rep* **8**, 5600.
- 60 Lin X, Kapoor A, Gu Y, Chow MJ, Peng J, Zhao K and Tang D (2020) Contributions of DNA damage to Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci* **21**, 1666.
- 61 Price BD and D'Andrea AD (2013) Chromatin remodeling at DNA double-strand breaks. *Cell* **152**, 1344–1354.
- 62 Janssen A, Colmenares SU and Karpen GH (2018) Heterochromatin: guardian of the genome. *Annu Rev Cell Dev Biol* **34**, 265–288.
- 63 Loyola AC, Zhang L, Shang R, Dutta P, Li J and Li WX (2019) Identification of methotrexate as a heterochromatin-promoting drug. *Sci Rep* **9**, 11673.
- 64 Allshire RC and Madhani HD (2018) Ten principles of heterochromatin formation and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* **19**, 229–244.
- 65 O'Sullivan RJ and Karlseder J (2012) The great unravelling: chromatin as a modulator of the aging process. *Trends Biochem Sci* **37**, 466–476.
- 66 Benayoun BA, Pollina EA and Brunet A (2015) Epigenetic regulation of ageing: linking environmental inputs to genomic stability. *Nat Rev Mol Cell Biol* **16**, 593–610.
- 67 Pal S and Tyler JK (2016) Epigenetics and aging. *Sci Adv* **2**, e1600584.
- 68 Berson A, Nativio R, Berger SL and Bonini NM (2018) Epigenetic regulation in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* **41**, 587–598.
- 69 Li P, Marshall L, Oh G, Jakubowski JL, Groot D, He Y, Wang T, Petronis A and Labrie V (2019) Epigenetic dysregulation of enhancers in neurons is associated with Alzheimer's disease pathology and cognitive symptoms. *Nat Commun* **10**, 2246.
- 70 Nativio R, Donahue G, Berson A, Lan Y, Amlie-Wolf A, Tuzer F, Toledo JB, Gosai SJ, Gregory BD, Torres C *et al.* (2018) Dysregulation of the epigenetic landscape of normal aging in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* **21**, 497–505.
- 71 Klein H-U, McCabe C, Gjoneska E, Sullivan SE, Kaskow BJ, Tang A, Smith RV, Xu J, Pfenning AR, Bernstein BE *et al.* (2019) Epigenome-wide study uncovers large-scale changes in histone acetylation driven by tau pathology in aging and Alzheimer's human brains. *Nat Neurosci* **22**, 37–46.
- 72 Toker L, Tran GT, Sundaresan J, Tysnes O-B, Alves G, Haugarvoll K, Nido GS, Dölle C and Tzoulis C (2021) Genome-wide histone acetylation analysis reveals altered transcriptional regulation in the Parkinson's disease brain. *Mol Neurodegener* **16**, 31.
- 73 Villeponteau B (1997) The heterochromatin loss model of aging. *Exp Gerontol* **32**, 383–394.
- 74 Frost B, Hemberg M, Lewis J and Feany MB (2014) Tau promotes neurodegeneration through global chromatin relaxation. *Nat Neurosci* **17**, 357–366.
- 75 Mansuroglu Z, Benhelli-Mokrani H, Marcato V, Sultan A, Violet M, Chauderlier A, Delattre L, Loyens A, Talahari S, Bégard S *et al.* (2016) Loss of Tau protein affects the structure, transcription and repair of neuronal pericentromeric heterochromatin. *Sci Rep* **6**, 33047.
- 76 Burns KH and Boeke JD (2012) Human transposon tectonics. *Cell* **149**, 740–752.
- 77 Pace JK and Feschotte C (2007) The evolutionary history of human DNA transposons: evidence for intense activity in the primate lineage. *Genome Res* **17**, 422–432.
- 78 Hancks DC and Kazazian HH (2012) Active human retrotransposons: variation and disease. *Curr Opin Genet Dev* **22**, 191–203.
- 79 Dewannieux M, Esnault C and Heidmann T (2003) LINE-mediated retrotransposition of marked Alu sequences. *Nat Genet* **35**, 41–48.
- 80 Hancks DC, Goodier JL, Mandal PK, Cheung LE and Kazazian HH (2011) Retrotransposition of marked SVA elements by human L1s in cultured cells. *Hum Mol Genet* **20**, 3386–3400.
- 81 Brouha B, Schustak J, Badge RM, Lutz-Prigge S, Farley AH, Moran JV and Kazazian HH (2003) Hot L1s account for the bulk of retrotransposition in the human population. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 5280–5285.
- 82 Philippe C, Vargas-Landin DB, Doucet AJ, van Essen D, Vera-Otarola J, Kuciak M, Corbin A, Nigumann P and Cristofari G (2016) Activation of individual L1 retrotransposon instances is restricted to cell-type dependent permissive loci. *eLife* **5**, e13926.
- 83 Deininger P, Morales ME, White TB, Baddoo M, Hedges DJ, Servant G, Srivastav S, Smither ME, Concha M, DeHaro DL *et al.* (2017) A comprehensive approach to expression of L1 loci. *Nucleic Acids Res* **45**, e31.
- 84 Penzkofer T, Jäger M, Figlerowicz M, Badge R, Mundlos S, Robinson PN and Zemojtel T (2017) L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes. *Nucleic Acids Res* **45**, D68–D73.

- 85 Denli AM, Narvaiza I, Kerman BE, Pena M, Benner C, Marchetto MCN, Diedrich JK, Aslanian A, Ma J, Moresco JJ *et al.* (2015) Primate-specific ORF0 contributes to retrotransposon-mediated diversity. *Cell* **163**, 583–593.
- 86 Hohjoh H and Singer MF (1996) Cytoplasmic ribonucleoprotein complexes containing human LINE-1 protein and RNA. *EMBO J* **15**, 630–639.
- 87 Feng Q, Moran JV, Kazazian HH and Boeke JD (1996) Human L1 retrotransposon encodes a conserved endonuclease required for retrotransposition. *Cell* **87**, 905–916.
- 88 Cost GJ, Feng Q, Jacquier A and Boeke JD (2002) Human L1 element target-primed reverse transcription in vitro. *EMBO J* **21**, 5899–5910.
- 89 Scott AF, Schmeckpeper BJ, Abdelrazik M, Comey CT, O'Hara B, Rossiter JP, Cooley T, Heath P, Smith KD and Margolet L (1987) Origin of the human L1 elements: proposed progenitor genes deduced from a consensus DNA sequence. *Genomics* **1**, 113–125.
- 90 Servant G, Strevva VA and Deininger PL (2017) Transcription coupled repair and biased insertion of human retrotransposon L1 in transcribed genes. *Mob DNA* **8**, 18.
- 91 Doucet AJ, Wilusz JE, Miyoshi T, Liu Y and Moran JV (2015) A 3' Poly(A) tract is required for LINE-1 retrotransposition. *Mol Cell* **60**, 728–741.
- 92 Ariumi Y (2016) Guardian of the human genome: host defense mechanisms against LINE-1 retrotransposition. *Front Chem* **4**, 28.
- 93 Goodier JL (2016) Restricting retrotransposons: a review. *Mob DNA* **7**, 16.
- 94 Walter M, Teissandier A, Pérez-Palacios R and Bourc'his D (2016) An epigenetic switch ensures transposon repression upon dynamic loss of DNA methylation in embryonic stem cells. *eLife* **5**, e11418.
- 95 Deniz Ö, Frost JM and Branco MR (2019) Regulation of transposable elements by DNA modifications. *Nat Rev Genet* **20**, 417–431.
- 96 Muotri AR, Marchetto MCN, Coufal NG, Oefner R, Yeo G, Nakashima K and Gage FH (2010) L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2. *Nature* **468**, 443–446.
- 97 Haggerty C, Kretzmer H, Riemenschneider C, Kumar AS, Mattei AL, Bailly N, Gottfreund J, Giesselmann P, Weigert R, Brändl B *et al.* (2021) Dnmt1 has de novo activity targeted to transposable elements. *Nat Struct Mol Biol* **28**, 594–603.
- 98 Douse CH, Tchasovnikarova IA, Timms RT, Protasio AV, Seczynska M, Prigozhin DM, Albecka A, Wagstaff J, Williamson JC, Freund SMV *et al.* (2020) TASOR is a pseudoPARP that directs HUSH complex assembly and epigenetic transposon control. *Nat Commun* **11**, 4940.
- 99 Montoya-Durango DE, Ramos KA, Bojang P, Ruiz L, Ramos IN and Ramos KS (2016) LINE-1 silencing by retinoblastoma proteins is effected through the nucleosomal and remodeling deacetylase multiprotein complex. *BMC Cancer* **16**, 38.
- 100 Playfoot CJ and Adams IR (2016) KRABs regulate gene expression beyond the embryo. *Dev Cell* **36**, 591–592.
- 101 Robbez-Masson L, Tie CHC, Conde L, Tunbak H, Husovsky C, Tchasovnikarova IA, Timms RT, Herrero J, Lehner PJ and Rowe HM (2018) The HUSH complex cooperates with TRIM28 to repress young retrotransposons and new genes. *Genome Res* **28**, 836–845.
- 102 Van Meter M, Kashyap M, Rezazadeh S, Geneva AJ, Morello TD, Seluanov A and Gorbunova V (2014) SIRT6 represses LINE1 retrotransposons by ribosylating KAP1 but this repression fails with stress and age. *Nat Commun* **5**, 5011.
- 103 Heaton SE, Pinto HD, Mishra LN, Hamilton GA, Wheat JC, Swist-Rosowska K, Shukeir N, Dou Y, Steidl U, Jenuwein T *et al.* (2020) H1 linker histones silence repetitive elements by promoting both histone H3K9 methylation and chromatin compaction. *Proc Natl Acad Sci USA* **117**, 14251–14258.
- 104 Leeb M, Pasini D, Novatchkova M, Jaritz M, Helin K and Wutz A (2010) Polycomb complexes act redundantly to repress genomic repeats and genes. *Genes Dev* **24**, 265–276.
- 105 Ragazzini R, Pérez-Palacios R, Baymaz IH, Diop S, Ancelin K, Zielinski D, Michaud A, Givélet M, Borsos M, Aflaki S *et al.* (2019) EZHIP constrains polycomb repressive complex 2 activity in germ cells. *Nat Commun* **10**, 3858.
- 106 Délérís A, Berger F and Duharcourt S (2021) Role of polycomb in the control of transposable elements. *Trends Genet* **37**, 882–889.
- 107 Ren W, Fan H, Grimm SA, Kim JJ, Li L, Guo Y, Petell CJ, Tan X-F, Zhang Z-M, Coan JP *et al.* (2021) DNMT1 reads heterochromatic H4K20me3 to reinforce LINE-1 DNA methylation. *Nat Commun* **12**, 2490.
- 108 Volkmann B, Wittmann S, Lagisquet J, Deutschmann J, Eissmann K, Ross JJ, Biesinger B and Gramberg T (2020) Human TRIM5 $\alpha$  senses and restricts LINE-1 elements. *Proc Natl Acad Sci USA* **117**, 17965–17976.
- 109 Wang C and Lin H (2021) Roles of piRNAs in transposon and pseudogene regulation of germline mRNAs and lncRNAs. *Genome Biol* **22**, 27.
- 110 Yang N and Kazazian HH (2006) L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells. *Nat Struct Mol Biol* **13**, 763–771.
- 111 Hamdorf M, Idica A, Zisoulis DG, Gamelin L, Martin C, Sanders KJ and Pedersen IM (2015)

- miR128 represses L1 retrotransposition by binding directly to L1 RNA. *Nat Struct Mol Biol* **22**, 824–831.
- 112 Pizarro JG and Cristofari G (2016) Post-transcriptional control of LINE-1 retrotransposition by cellular host factors in somatic cells. *Front Cell Dev Biol* **4**, 14.
- 113 Orecchini E, Frassinelli L, Galardi S, Ciafrè SA and Michienzi A (2018) Post-transcriptional regulation of LINE-1 retrotransposition by AID/APOBEC and ADAR deaminases. *Chromosome Res* **26**, 45–59.
- 114 Goodier JL, Cheung LE and Kazazian HH (2013) Mapping the LINE1 ORF1 protein interactome reveals associated inhibitors of human retrotransposition. *Nucleic Acids Res* **41**, 7401–7419.
- 115 Taylor MS, LaCava J, Mita P, Molloy KR, Huang CRL, Li D, Adney EM, Jiang H, Burns KH, Chait BT *et al.* (2013) Affinity proteomics reveals human host factors implicated in discrete stages of LINE-1 retrotransposition. *Cell* **155**, 1034–1048.
- 116 Taylor MS, Altukhov I, Molloy KR, Mita P, Jiang H, Adney EM, Wudzinska A, Badri S, Ischenko D, Eng G *et al.* (2018) Dissection of affinity captured LINE-1 macromolecular complexes. *eLife* **7**, e30094.
- 117 Li W, Prazak L, Chatterjee N, Grüninger S, Krug L, Theodorou D and Dubnau J (2013) Activation of transposable elements during aging and neuronal decline in *Drosophila*. *Nat Neurosci* **16**, 529–531.
- 118 Belancio VP, Roy-Engel AM, Pochampally RR and Deininger P (2010) Somatic expression of LINE-1 elements in human tissues. *Nucleic Acids Res* **38**, 3909–3922.
- 119 De Cecco M, Criscione SW, Peckham EJ, Hillenmeyer S, Hamm EA, Manivannan J, Peterson AL, Kreiling JA, Neretti N and Sedivy JM (2013) Genomes of replicatively senescent cells undergo global epigenetic changes leading to gene silencing and activation of transposable elements. *Aging Cell* **12**, 247–256.
- 120 Sturm Á, Ivics Z and Vellai T (2015) The mechanism of ageing: primary role of transposable elements in genome disintegration. *Cell Mol Life Sci* **72**, 1839–1847.
- 121 Wood JG and Helfand SL (2013) Chromatin structure and transposable elements in organismal aging. *Front Genet* **4**, 274.
- 122 Driver CJ and McKechnie SW (1992) Transposable elements as a factor in the aging of *Drosophila melanogaster*. *Ann N Y Acad Sci* **673**, 83–91.
- 123 Guo C, Jeong H-H, Hsieh Y-C, Klein H-U, Bennett DA, De Jager PL, Liu Z and Shulman JM (2018) Tau activates transposable elements in Alzheimer's disease. *Cell Rep* **23**, 2874–2880.
- 124 Sun X, Wang X, Tang Z, Grivainis M, Kahler D, Yun C, Mita P, Fenýö D and Boeke JD (2018) Transcription factor profiling reveals molecular choreography and key regulators of human retrotransposon expression. *Proc Natl Acad Sci USA* **115**, E5526–E5535.
- 125 Ramirez P, Sun W, Zuniga G, Thomas EO, DeVos SL, Hyman B, Chiu G, Roy ER, Cao W, Orr M *et al.* (2021) Pathogenic tau accelerates aging-associated activation of transposable elements in the mouse central nervous system. *bioRxiv* 2021.02.25.432716.
- 126 Grundman J, Spencer B, Sarsoza F and Rissman RA (2021) Transcriptome analyses reveal tau isoform-driven changes in transposable element and gene expression. *bioRxiv* 2021.04.30.442101.
- 127 El Hajjar J, Chatoo W, Hanna R, Nkanza P, Tétreault N, Tse YC, Wong TP, Abdouh M and Bernier G (2019) Heterochromatic genome instability and neurodegeneration sharing similarities with Alzheimer's disease in old Bmi1+/- mice. *Sci Rep* **9**, 594.
- 128 Flamier A, El Hajjar J, Adjaye J, Fernandes KJ, Abdouh M and Bernier G (2018) Modeling late-onset sporadic Alzheimer's disease through BMI1 deficiency. *Cell Rep* **23**, 2653–2666.
- 129 Blaudin de Thé F, Rekaik H, Peze-Heidsieck E, Massiani-Beaudoin O, Joshi RL, Fuchs J and Prochiantz A (2018) Engrailed homeoprotein blocks degeneration in adult dopaminergic neurons through LINE-1 repression. *EMBO J* **37**, e97374.
- 130 Ravel-Godreuil C, Massiani-Beaudoin O, Mailly P, Prochiantz A, Joshi RL and Fuchs J (2021) Perturbed DNA methylation by Gadd45b induces chromatin disorganization, DNA strand breaks and dopaminergic neuron death. *iScience* **24**, 102756.
- 131 Li W, Jin Y, Prazak L, Hammell M and Dubnau J (2012) Transposable elements in TDP-43-mediated neurodegenerative disorders. *PLoS One* **7**, e44099.
- 132 Lee EB, Lee VM-Y and Trojanowski JQ (2012) Gains or losses: molecular mechanisms of TDP43 mediated neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* **13**, 38–50.
- 133 Liu EY, Russ J, Cali CP, Phan JM, Amlie-Wolf A and Lee EB (2019) Loss of nuclear TDP-43 is associated with decondensation of LINE retrotransposons. *Cell Rep* **27**, 1409–1421.e6.
- 134 Tam OH, Rozhkov NV, Shaw R, Kim D, Hubbard I, Fennessey S, Propp N, Fagegaltier D, Harris BT, Ostrow LW *et al.* (2019) Postmortem cortex samples identify distinct molecular subtypes of ALS: retrotransposon activation, oxidative stress, and activated glia. *Cell Rep* **29**, 1164–1177.e5.
- 135 McCormick AL, Brown RH, Cudkowicz ME, Al-Chalabi A and Garson JA (2008) Quantification of reverse transcriptase in ALS and elimination of a novel retroviral candidate. *Neurology* **70**, 278–283.
- 136 Steele AJ, Al-Chalabi A, Ferrante K, Cudkowicz ME, Brown RH and Garson JA (2005) Detection of serum reverse transcriptase activity in patients with ALS and unaffected blood relatives. *Neurology* **64**, 454–458.

- 137 Pereira GC, Sanchez L, Schaughency PM, Rubio-Roldán A, Choi JA, Planet E, Batra R, Turelli P, Trono D, Ostrow LW *et al.* (2018) Properties of LINE-1 proteins and repeat element expression in the context of amyotrophic lateral sclerosis. *Mob DNA* **9**, 35.
- 138 Faulkner GJ and Billon V (2018) L1 retrotransposition in the soma: a field jumping ahead. *Mob DNA* **9**, 22.
- 139 Kim J, Zhao B, Huang AY, Miller MB, Lodato MA, Walsh CA and Lee EA (2020) APP gene copy number changes reflect exogenous contamination. *Nature* **584**, E20–E28.
- 140 Faulkner GJ and Garcia-Perez JL (2017) L1 mosaicism in mammals: extent, effects, and evolution. *Trends Genet* **33**, 802–816.
- 141 Krug L, Chatterjee N, Borges-Monroy R, Hearn S, Liao W-W, Morrill K, Prazak L, Rozhkov N, Theodorou D, Hammell M *et al.* (2017) Retrotransposon activation contributes to neurodegeneration in a Drosophila TDP-43 model of ALS. *PLoS Genet* **13**, e1006635.
- 142 Li W, Lee M-H, Henderson L, Tyagi R, Bachani M, Steiner J, Campanac E, Hoffman DA, von Geldern G, Johnson K *et al.* (2015) Human endogenous retrovirus-K contributes to motor neuron disease. *Sci Transl Med* **7**, 307ra153.
- 143 Küry P, Nath A, Créange A, Dolei A, Marche P, Gold J, Giovannoni G, Hartung H-P and Perron H (2018) Human endogenous retroviruses in neurological diseases. *Trends Mol Med* **24**, 379–394.
- 144 Guo H, Chitiprolu M, Gagnon D, Meng L, Perez-Iratxeta C, Lagace D and Gibbins D (2014) Autophagy supports genomic stability by degrading retrotransposon RNA. *Nat Commun* **5**, 5276.
- 145 Baeken MW, Moosmann B and Hajieva P (2020) Retrotransposon activation by distressed mitochondria in neurons. *Biochem Biophys Res Commun* **525**, 570–575.
- 146 Briggs EM, McKerrow W, Mita P, Boeke JD, Logan SK and Fenyö D (2021) RIP-seq reveals LINE-1 ORF1p association with p-body enriched mRNAs. *Mob DNA* **12**, 5.
- 147 Douville R, Liu J, Rothstein J and Nath A (2011) Identification of active loci of a human endogenous retrovirus in neurons of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* **69**, 141–151.
- 148 Prudencio M, Gonzales PK, Cook CN, Gendron TF, Daugherty LM, Song Y, Ebbert MTW, van Blitterswijk M, Zhang Y-J, Jansen-West K *et al.* (2017) Repetitive element transcripts are elevated in the brain of C9orf72 ALS/FTLD patients. *Hum Mol Genet* **26**, 3421–3431.
- 149 Morandi E, Tanasescu R, Tarlinton RE, Constantinescu CS, Zhang W, Tench C and Gran B (2017) The association between human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* **12**, e0172415.
- 150 Tan H, Qurashi A, Poidevin M, Nelson DL, Li H and Jin P (2012) Retrotransposon activation contributes to fragile X premutation rCGG-mediated neurodegeneration. *Hum Mol Genet* **21**, 57–65.
- 151 Coufal NG, Garcia-Perez JL, Peng GE, Yeo GW, Mu Y, Lovci MT, Morell M, O'Shea KS, Moran JV and Gage FH (2009) L1 retrotransposition in human neural progenitor cells. *Nature* **460**, 1127–1131.
- 152 Jacob-Hirsch J, Eyal E, Knisbacher BA, Roth J, Cesarkas K, Dor C, Farage-Barhom S, Kunik V, Simon AJ, Gal M *et al.* (2018) Whole-genome sequencing reveals principles of brain retrotransposition in neurodevelopmental disorders. *Cell Res* **28**, 187–203.
- 153 Kaneko H, Dridi S, Tarallo V, Gelfand BD, Fowler BJ, Cho WG, Kleinman ME, Ponicsan SL, Hauswirth WW, Chiodo VA *et al.* (2011) DICER1 deficit induces Alu RNA toxicity in age-related macular degeneration. *Nature* **471**, 325–330.
- 154 Jeong B-H, Lee Y-J, Carp RI and Kim Y-S (2010) The prevalence of human endogenous retroviruses in cerebrospinal fluids from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Clin Virol* **47**, 136–142.
- 155 Terry DM and Devine SE (2020) Aberrantly high levels of somatic LINE-1 expression and Retrotransposition in human neurological disorders. *Front Genet* **10**, 1244.
- 156 Balestrieri E, Arpino C, Matteucci C, Sorrentino R, Pica F, Alessandrelli R, Coniglio A, Curatolo P, Rezza G, Macciardi F *et al.* (2012) HERVs expression in autism spectrum disorders. *PLoS One* **7**, e48831.
- 157 Shpyleva S, Melnyk S, Pavliv O, Pogribny I and Jill James S (2018) Overexpression of LINE-1 retrotransposons in autism brain. *Mol Neurobiol* **55**, 1740–1749.
- 158 Li F, Sabunciyany S, Yolken RH, Lee D, Kim S and Karlsson H (2019) Transcription of human endogenous retroviruses in human brain by RNA-seq analysis. *PLoS One* **14**, e0207353.
- 159 Bundo M, Toyoshima M, Okada Y, Akamatsu W, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A *et al.* (2014) Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron* **81**, 306–313.
- 160 Doyle GA, Crist RC, Karatas ET, Hammond MJ, Ewing AD, Ferraro TN, Hahn C-G and Berrettini WH (2017) Analysis of LINE-1 elements in DNA from postmortem brains of individuals with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **42**, 2602–2611.
- 161 Misiak B, Ricceri L and Szañdek MM (2019) Transposable elements and their epigenetic regulation

- in mental disorders: current evidence in the field. *Front Genet* **10**, 580.
- 162 Kazazian HH and Goodier JL (2002) LINE drive retrotransposition and genome instability. *Cell* **110**, 277–280.
- 163 Gasior SL, Wakeman TP, Xu B and Deininger PL (2006) The human LINE-1 retrotransposon creates DNA double-strand breaks. *J Mol Biol* **357**, 1383–1393.
- 164 Baillie JK, Barnett MW, Upton KR, Gerhardt DJ, Richmond TA, De Sapio F, Brennan PM, Rizzu P, Smith S, Fell M *et al.* (2011) Somatic retrotransposition alters the genetic landscape of the human brain. *Nature* **479**, 534–537.
- 165 Muotri AR, Chu VT, Marchetto MCN, Deng W, Moran JV and Gage FH (2005) Somatic mosaicism in neuronal precursor cells mediated by L1 retrotransposition. *Nature* **435**, 903–910.
- 166 Macia A, Widmann TJ, Heras SR, Ayllon V, Sanchez L, Benkaddour-Boumzaouad M, MuñozLopez M, Rubio A, Amador-Cubero S, Blanco-Jimenez E *et al.* (2017) Engineered LINE-1 retrotransposition in nondividing human neurons. *Genome Res* **27**, 335–348.
- 167 Cheng Y, Saville L, Gollen B, Veronesi AA, Mohajerani M, Joseph JT and Zovoilis A (2021) Increased Alu RNA processing in Alzheimer brains is linked to gene expression changes. *EMBO Rep* **22**, e52255.
- 168 Koks S, Pfaff AL, Bubb VJ and Quinn JP (2021) Expression quantitative trait loci (eQTLs) associated with retrotransposons demonstrate their modulatory effect on the transcriptome. *Int J Mol Sci* **22**, 6319.
- 169 Rodriguez-Terrones D and Torres-Padilla M-E (2018) Nimble and ready to mingle: transposon outbursts of early development. *Trends Genet* **34**, 806–820.
- 170 Garcia-Perez JL, Widmann TJ and Adams IR (2016) The impact of transposable elements on mammalian development. *Development* **143**, 4101–4114.
- 171 Hermant C and Torres-Padilla M-E (2021) TFs for TEs: the transcription factor repertoire of mammalian transposable elements. *Genes Dev* **35**, 22–39.
- 172 Ali A, Han K and Liang P (2021) Role of transposable elements in gene regulation in the human genome. *Life* **11**, 118.
- 173 Han JS, Szak ST and Boeke JD (2004) Transcriptional disruption by the L1 retrotransposon and implications for mammalian transcriptomes. *Nature* **429**, 268–274.
- 174 Attig J, Agostini F, Gooding C, Chakrabarti AM, Singh A, Haberman N, Zagalak JA, Emmett W, Smith CWJ, Luscombe NM *et al.* (2018) Heteromeric RNP assembly at LINEs controls lineage-specific RNA processing. *Cell* **174**, 1067–1081.e17.
- 175 Chuong EB, Elde NC and Feschotte C (2017) Regulatory activities of transposable elements: from conflicts to benefits. *Nat Rev Genet* **18**, 71–86.
- 176 Fuentes DR, Swigut T and Wysocka J (2018) Systematic perturbation of retroviral LTRs reveals widespread long-range effects on human gene regulation. *eLife* **7**, e35989.
- 177 Brocks D, Schmidt CR, Daskalakis M, Jang HS, Shah NM, Li D, Li J, Zhang B, Hou Y, Laudato S *et al.* (2017) DNMT and HDAC inhibitors induce cryptic transcription start sites encoded in long terminal repeats. *Nat Genet* **49**, 1052–1060.
- 178 Turelli P, Playfoot C, Grun D, Raclot C, Pontis J, Coudray A, Thorball C, Duc J, Pankevich EV, Deplancke B *et al.* (2020) Primate-restricted KRAB zinc finger proteins and target retrotransposons control gene expression in human neurons. *Sci Adv* **6**, eaba3200.
- 179 Faulkner GJ, Kimura Y, Daub CO, Wani S, Plessy C, Irvine KM, Schroder K, Cloonan N, Steptoe AL, Lassmann T *et al.* (2009) The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells. *Nat Genet* **41**, 563–571.
- 180 Cordaux R and Batzer MA (2009) The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat Rev Genet* **10**, 691–703.
- 181 Hanna R, Flamier A, Barabino A and Bernier G (2021) G-quadruplexes originating from evolutionary conserved L1 elements interfere with neuronal gene expression in Alzheimer's disease. *Nat Commun* **12**, 1828.
- 182 Herrup K and Yang Y (2007) Cell cycle regulation in the postmitotic neuron: oxymoron or new biology? *Nat Rev Neurosci* **8**, 368–378.
- 183 Hoglinger GU, Breunig JJ, Depboylu C, Rouaux C, Michel PP, Alvarez-Fischer D, Boutillier AL, DeGregori J, Oertel WH, Rakic P *et al.* (2007) The pRb/E2F cell-cycle pathway mediates cell death in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 3585–3590.
- 184 Dueva R, Akopyan K, Pederiva C, Trevisan D, Dhanjal S, Lindqvist A and Farnebo M (2019) Neutralization of the positive charges on histone tails by RNA promotes an open chromatin structure. *Cell Chem Biol* **26**, 1436–1449.e5.
- 185 Duda KJ, Ching RW, Jerabek L, Shukeir N, Erikson G, Engist B, Onishi-Seebacher M, Perrera V, Richter F, Mittler G *et al.* (2021) m6A RNA methylation of major satellite repeat transcripts facilitates chromatin association and RNA:DNA hybrid formation in mouse heterochromatin. *Nucleic Acids Res* **49**, 5568–5587.
- 186 Hwang S-Y, Jung H, Mun S, Lee S, Park K, Baek SC, Moon HC, Kim H, Kim B, Choi Y *et al.* (2021) L1 retrotransposons exploit RNA m6A modification as an evolutionary driving force. *Nat Commun* **12**, 880.
- 187 Bousios A, Nuetzmann H-W, Buck D and Michieletto D (2020) Integrating transposable elements in the 3D genome. *Mob DNA* **11**, 8.

- 188 Lu JY, Shao W, Chang L, Yin Y, Li T, Zhang H, Hong Y, Percharde M, Guo L, Wu Z *et al.* (2020) Genomic repeats categorize genes with distinct functions for orchestrated regulation. *Cell Rep* **30**, 3296–3311.e5.
- 189 Zhang D, Lam J and Blobel GA (2021) Engineering three-dimensional genome folding. *Nat Genet* **53**, 602–611.
- 190 Rowley MJ and Corces VG (2018) Organizational principles of 3D genome architecture. *Nat Rev Genet* **19**, 789–800.
- 191 Choudhary MN, Friedman RZ, Wang JT, Jang HS, Zhuo X and Wang T (2020) Co-opted transposons help perpetuate conserved higher-order chromosomal structures. *Genome Biol* **21**, 16.
- 192 Jachowicz JW, Bing X, Pontabry J, Bosković A, Rando OJ and Torres-Padilla M-E (2017) LINE-1 activation after fertilization regulates global chromatin accessibility in the early mouse embryo. *Nat Genet* **49**, 1502–1510.
- 193 Zhang Y, Li T, Preissl S, Amaral ML, Grinstein JD, Farah EN, Destici E, Qiu Y, Hu R, Lee AY *et al.* (2019) Transcriptionally active HERV-H retrotransposons demarcate topologically associating domains in human pluripotent stem cells. *Nat Genet* **51**, 1380–1388.
- 194 Guzman-Martinez L, Maccioni RB, Andrade V, Navarrete LP, Pastor MG and Ramos-Escobar N (2019) Neuroinflammation as a common feature of neurodegenerative disorders. *Front Pharmacol* **10**, 1008.
- 195 West AP and Shadel GS (2017) Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology. *Nat Rev Immunol* **17**, 363–375.
- 196 Sliter DA, Martinez J, Hao L, Chen X, Sun N, Fischer TD, Burman JL, Li Y, Zhang Z, Narendra DP *et al.* (2018) Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation. *Nature* **561**, 258–262.
- 197 Kumar M and Carmichael GG (1998) Antisense RNA: function and fate of duplex RNA in cells of higher eukaryotes. *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 1415–1434.
- 198 Gázquez-Gutiérrez A, Witteveldt J, Heras SR and Macias S (2021) Sensing of transposable elements by the antiviral innate immune system. *RNA* **27**, 735–752.
- 199 Elbarbary RA and Maquat LE (2017) Distinct mechanisms obviate the potentially toxic effects of inverted-repeat Alu elements on cellular RNA metabolism. *Nat Struct Mol Biol* **24**, 496–498.
- 200 Kerur N, Fukuda S, Banerjee D, Kim Y, Fu D, Apicella I, Varshney A, Yasuma R, Fowler BJ, Baghdasaryan E *et al.* (2018) cGAS drives noncanonical inflammasome activation in age-related macular degeneration. *Nat Med* **24**, 50–61.
- 201 Abrams JM, Arkhipova IR, Belfort M, Boeke JD, Joan Curcio M, Faulkner GJ, Goodier JL, Lehmann R and Levin HL (2018) Meeting report: mobile genetic elements and genome plasticity 2018. *Mob DNA* **9**, 21.
- 202 Ahmad S, Mu X, Yang F, Greenwald E, Park JW, Jacob E, Zhang C-Z and Hur S (2018) Breaching self-tolerance to alu duplex RNA underlies MDA5-mediated inflammation. *Cell* **172**, 797–810.e13.
- 203 Thomas CA, Tejwani L, Trujillo CA, Negraes PD, Herai RH, Mesci P, Macia A, Crow YJ and Muotri AR (2017) Modeling of TREX1-dependent autoimmune disease using human stem cells highlights L1 accumulation as a source of neuroinflammation. *Cell Stem Cell* **21**, 319–331.e8.
- 204 Simon M, Van Meter M, Ablaeva J, Ke Z, Gonzalez RS, Taguchi T, De Cecco M, Leonova KI, Kogan V, Helfand SL *et al.* (2019) LINE1 derepression in aged wildtype and SIRT6-deficient mice drives inflammation. *Cell Metab* **30**, 1–15.
- 205 Tunbak H, Enriquez-Gasca R, Tie CHC, Gould PA, Mlcochova P, Gupta RK, Fernandes L, Holt J, van der Veen AG, Giampazolias E *et al.* (2020) The HUSH complex is a gatekeeper of type I interferon through epigenetic regulation of LINE-1s. *Nat Commun* **11**, 5387.
- 206 De Cecco M, Ito T, Petrashen AP, Elias AE, Skvir NJ, Criscione SW, Caligiana A, Broccoli G, Adney EM, Boeke JD *et al.* (2019) L1 drives IFN in senescent cells and promotes age-associated inflammation. *Nature* **566**, 73–78.
- 207 Baker DJ and Petersen RC (2018) Cellular senescence in brain aging and neurodegenerative diseases: evidence and perspectives. *J Clin Invest* **128**, 1208–1216.
- 208 Fukuda S, Varshney A, Fowler BJ, Wang S, Narendran S, Ambati K, Yasuma T, Magagnoli J, Leung H, Hirahara S *et al.* (2021) Cytoplasmic synthesis of endogenous Alu complementary DNA via reverse transcription and implications in age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci, USA* **118**, e2022751118.
- 209 Jönsson ME, Garza R, Sharma Y, Petri R, Södersten E, Johansson JG, Johansson PA, Atacho DA, Pircs K, Madsen S *et al.* (2021) Activation of endogenous retroviruses during brain development causes an inflammatory response. *EMBO J* **40**, e106423.
- 210 Tarallo V, Hirano Y, Gelfand BD, Dridi S, Kerur N, Kim Y, Cho WG, Kaneko H, Fowler BJ, Bogdanovich S *et al.* (2012) DICER1 loss and Alu RNA induce age-related macular degeneration via the NLRP3 inflammasome and MyD88. *Cell* **149**, 847–859.
- 211 Bravo JI, Nozownik S, Danthi PS and Benayoun BA (2020) Transposable elements, circular RNAs and



- mitochondrial transcription in age-related genomic regulation. *Development* **147**, dev175786.
- 212 Larsen PA, Hunnicutt KE, Larsen RJ, Yoder AD and Saunders AM (2018) Warning SINES: Alu elements, evolution of the human brain, and the spectrum of neurological disease. *Chromosome Res* **26**, 93–111.
- 213 Gold J, Rowe DB, Kiernan MC, Vucic S, Mathers S, van Eijk RPA, Nath A, Garcia Montojo M, Norato G, Santamaria UA *et al.* (2019) Safety and tolerability of Triumeq in amyotrophic lateral sclerosis: the Lighthouse trial. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* **20**, 595–604.
- 214 Zhang L, Xu M, Ren Q, Liu G, Meng S, Xiahou K, Zhang Y, Jiang N and Zhou W (2020) Human induced pluripotent stem cell-derived neural cells from Alzheimer's disease patients exhibited different susceptibility to oxidative stress. *Stem Cells Dev* **29**, 1444–1456.
- 215 Balmus G, Larrieu D, Barros AC, Collins C, Abrudan M, Demir M, Geisler NJ, Lelliott CJ, White JK, Karp NA *et al.* (2018) Targeting of NAT10 enhances health span in a mouse model of human accelerated aging syndrome. *Nat Commun* **9**, 1700.



## DISCUSSION

### I. État de l'art sur les ET et les MN

Dans le cerveau, les ET peuvent avoir des rôles physiologiques en participant au mosaïcisme neuronal et à la diversité cellulaire mais ils peuvent également lorsqu'ils sont anormalement activés, être sources d'évènements pathologiques. En effet, l'activation des ET a émergé récemment comme un des moteurs du vieillissement cellulaire (Li et al., 2013) et de la neurodégénérescence (Jönsson et al., 2020; Ravel-Godreuil et al., 2021). Ils sont apparus comme des nouveaux acteurs causaux dans la pathogenèse des MN (Blaudin de Thé et al., 2018 ; Bollati et al. 2011 ; Douville et al., 2011 ; Li et al., 2015 ; Guo et al., 2018 ; Sun et al., 2018 ; Tam et al., 2019, Ravel Godreuil et al., 2020 ; Rekaik et al., 2015 ; Peze-Heidsieck et al., 2022) mais aussi de multiples troubles neurologiques (Muotri et al., 2010 ; Coufal et al., 2011 ; Douville et al., 2011 ; Li et al., 2015) (détaillés dans le **Tableau 1**).

Les travaux antérieurs de notre laboratoire ont montré l'augmentation de l'expression des LINE-1 dans les neurones dopaminergiques de souris modèles de la MP (Ravel Godreuil et al., 2020 ; Rekaik et al., 2015 ; Baludin de thé et al., 2018). En outre, il a également été rapporté que l'inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire des mitochondries à l'aide d'agents pharmacologiques couramment utilisés pour modéliser la MP conduit à l'augmentation de l'expression de la protéine ORF1p encodée par le LINE-1 chez des souris modèle de la MP *in vivo* et dans des neurones dopaminergiques humaines *in vitro* (Baeken et al., 2020). Dans une étude menée par (Guo et al., 2018), une analyse RNA-seq sur plus de 600 sujets atteints de MA, a mis en évidence une liste de 9 ET dont l'expression était corrélée de manière significative avec les niveaux pathologiques de la protéine Tau. Une étude sur des modèles de tauopathie chez la drosophile qui exprime une forme mutante de la protéine Tau humaine (Sun et al., 2018), a montré grâce à une méthode de séquençage d'ARN que des

drosophiles modèles de tauopathie présentaient des changements de niveaux d'expression des ET. Les ET qui étaient les plus exprimés de manière différentielle, faisaient partie de la famille de rétrotransposons LTR. De plus, l'analyse d'échantillons humains post-mortem de cerveaux de patients atteints par la MA ont montré que les transcrits d'autres ET comme les HERV augmentaient de manière significative chez les patients MA comparés aux témoins sains dans le cortex et le cervelet (Sun et al., 2018). Dans une étude sur l'implication des HERV dans la pathogenèse de la SLA, les résultats ont révélé que les HERV-K sont activés dans les neurones corticaux d'un groupe de patients atteints de la SLA sporadique comparés aux individus sains. La protéine de l'enveloppe (Env) encodée par le HERV-K pourrait contribuer à la neurodégénérescence du fait de sa neurotoxicité (Li et al., 2015; Mayer et al., 2018).

L'ensemble de ces données soutient l'idée que l'activation incontrôlée des ET est associée aux MN et que de tels événements puissent perturber le fonctionnement des neurones et participer à la progression et/ou l'initiation de la neurodégénérescence (Krug et al., 2017; Tan et al., 2012). Cependant, malgré l'importance et la pertinence de ces études, nos connaissances sur les mécanismes par lesquels les ET pourraient contribuer à la pathogenèse de ces maladies restent encore rudimentaires.

## **II. Discussion des résultats majeurs et travaux de thèse**

### **1. L'activation des éléments LINE-1 dans les neurones et ses conséquences**

Dans cette thèse, nous avons développé un modèle de cellules neuronales humaines qui quand elles sont soumises à un stress oxydatif aigu, présentent une augmentation de l'expression des rétrotransposons LINE-1. Le modèle nous a été utile pour tenter d'identifier les conséquences délétères de l'activation des éléments LINE-1 et les mécanismes par lesquels ils pourraient

agir. Nous avons ainsi choisi de travailler sur le modèle cellulaire LUHMES, qui est un modèle neuronal humain robuste pour étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires conduisant à la neurodégénérescence et/ou à la neurotoxicité (Harischandra et al., 2020; Harris et al., 2017; Tong et al., 2022; Zhang et al., 2014). Dans un premier temps, nous avons montré que les rétrotransposons LINE-1 sont exprimés à l'état basal dans les neurones post-mitotiques matures en culture (en absence de stress). L'analyse par immunofluorescence et Western blot, nous a permis de détecter la protéine ORF1p encodée par le LINE-1 dans les neurones post-mitotiques à 5 jours de différenciation. En raison du manque d'efficacité des anticorps dirigés contre la protéine ORF2p, l'analyse de son expression et sa localisation reste difficile. En conséquence, nous nous sommes concentrés sur l'analyse de la protéine ORF1p qui nous a servi de « proxy » témoin de l'activation des LINE-1, mais aussi de façon particulière et intéressante pour identifier et révéler son impact pathogénique.

Afin d'étudier l'activation incontrôlée des LINE-1, nous avons développé un modèle neuronal de stress oxydatif en utilisant l'arsenite, un inducteur de stress oxydatif bien caractérisé (Mishra et al., 2011). Le stress oxydatif se traduit par la formation abondante d'espèces réactives de l'oxygène et est considéré comme l'un des aspects causaux communs impliqué dans la perte des neurones dans la MP (Danielson and Andersen, 2008; Dorszewska et al., 2020), dans la MA (Bai et al., 2022; Muotri et al., 2010) et d'autres MN (Chen et al., 2012; Emerit et al., 2004; Fischer and Maier, 2015; Kim et al., 2015). C'est aussi l'un des facteurs contribuant au processus de vieillissement (Junqueira et al., 2004; Liguori et al., 2018; Romano et al., 2010) et le stress oxydatif a été récemment associé à l'activation des éléments LINE-1 (Giorgi et al., 2011; Whongsiri et al., 2019; Wongpaiboonwattana et al., 2013).

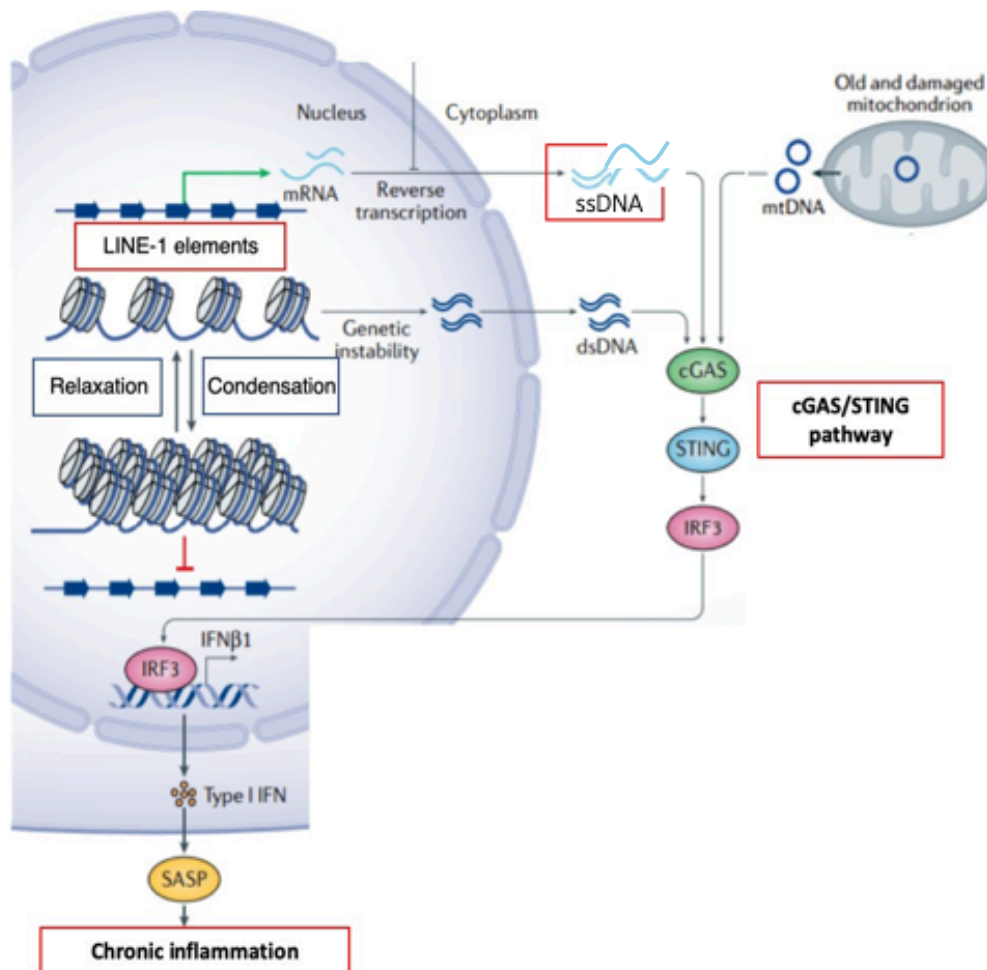
Dans notre modèle, les LINE-1 sont surexprimés sous l'effet de stress oxydatif dans les neurones post-mitotiques différenciés, au niveau de l'ARN ainsi qu'au niveau protéique.

L'activation des LINE-1 était accompagnée de dommages à l'ADN (révélés par le marqueur  $\gamma$ -H2AX). Les cassures d'ADN dues à l'activité de ORF2p ont été significativement diminués grâce à un traitement avec l'inhibiteur puissant de la RT, la Stavudine (Banuelos-Sanchez et al., 2019; Blaudin de Thé et al., 2018; Jones et al., 2008). En effet, les LINE-1 peuvent être à l'origine de dommages à l'ADN et une instabilité génomique (Peze-Heidsieck et al., 2022). L'activation incontrôlée de la protéine ORF2p est connue pour induire l'accumulation de dommages à l'ADN dus aux coupures d'ADN via son activité endonucléase (Belgnaoui et al., 2006; Gasior et al., 2006). Des travaux antérieurs de notre laboratoire (Blaudun de Thé et al., 2018) ont montré que l'activation des LINE-1 dans les neurones primaires de souris conduit à des cassures d'ADN entraînant une neurodégénérescence des neurones dopaminergiques *in vivo*. La mort des neurones observée chez les souris modèles de la MP ou chez des modèles toxicologiques murins de la MP (injection de 6-OHDA) a pu être prévenue grâce à des stratégies anti-LINE-1 telles que l'utilisation des siARN ciblant ORF2, ou la Stavudine. Par ailleurs, d'autres travaux ont révélé que la surexpression des LINE-1 dans des cellules souches embryonnaires humaines différenciées en neurones a conduit à l'accumulation de dommages à l'ADN qui ont été restaurés suite à l'induction de mutations au niveau les domaines endonucléase (EN) et transcriptase inverse (RT) de ORF2p (Erwin et al., 2016). Des cellules déficientes pour SIRT6, un répresseur des promoteurs LINE-1, présentaient une augmentation significative des LINE-1 et cette augmentation était associée à des lésions de l'ADN (Mostoslavsky et al., 2006). En plus des dommages à l'ADN qu'elle peut entraîner, l'activité RT de la protéine ORF2p peut aussi conduire à l'accumulation d'ADN simples brins (ssDNA) de LINE-1 cytosoliques (**Figure 11**). La détection de ssDNA dans le cytoplasme conduit au déclenchement de la voie de détection des ADN simples brins cytosoliques, la GMP-AMP synthase cyclique (cGAS). Suite à la détection des ssDNA cytosoliques, cGAS active le stimulateur des gènes de l'interféron (STING, Stimulator of Interferon Genes).

STING va alors initier l'activation de la réponse des interférons (Sun et al., 2013) suivie d'une réponse immunitaire innée entraînant l'inflammation. Nous avons démontré, dans le cadre de cette étude que l'augmentation des LINE-1 dans notre modèle neuronal de stress, était accompagnée de l'accumulation de ssDNA cytoplasmiques. Néanmoins, il est important de noter que nous ne disposons pas d'une compréhension complètement claire des mécanismes sous-jacents à la formation des ssDNA dans le cytoplasme. Il est possible que ces fragments d'ADN proviennent d'une part de l'activité RT de ORF2p dans le cytoplasme, ou que les fragments d'ADN du LINE-1 puissent s'échapper du noyau. Dans une étude sur des souris déficientes en SIRT6, les auteurs ont montré que la dé-répression des LINE-1 était accompagnée par l'accumulation de ssDNA cytoplasmiques induisant l'activation de la réponse immunitaire innée via la production d'interféron de type I, déclenchant l'inflammation (Van Meter et al., 2014). Le traitement avec un inhibiteur de la RT a permis de rétablir l'expression des LINE-1 et de restaurer la réponse aux interférons et l'inflammation consécutive chez les souris SIRT6<sup>-/-</sup> (Simon et al., 2019). Il est nécessaire de noter que les inhibiteurs de RT ne ciblent pas des enzymes RT spécifiques donc, il est possible que les effets observés proviennent également de l'activité RT d'autres éléments comme les HERVs qui peut également être source d'accumulation d'ADN cytosoliques (Lima-Junior et al., 2021; Russ and Iordanskiy, 2023). D'autres rétroéléments non autonomes comme les SINEs, peuvent aussi être une source de ssDNA, mais ceci nécessite l'activité RT du LINE-1 dans le cytoplasme, indépendamment de la rétrotransposition (Fukuda et al., 2021). Mais, il est fortement probable que les LINE-1 aient une contribution majeure à l'accumulation de ssDNA et l'activation de la réponse aux interférons de type I car c'est la classe la plus abondante des rétrotransposons. La perte de fonction des LINE-1 induite grâce à des shARN qui ciblent spécifiquement les LINE-1 chez les souris SIRT6<sup>-/-</sup> a permis de restaurer l'expression des interférons et de reproduire les mêmes résultats que ceux obtenus

avec des drogues qui ciblent la RT (Simon et al., 2019). Il a également été rapporté que l'accumulation de ssDNA cytosoliques issus des LINE-1 dans des neurones humains déficients en TREX1, un inhibiteur du LINE-1, entraîne la production d'interféron de type I conduisant à la mort des neurones par apoptose. De façon similaire aux autres études, le traitement avec des inhibiteurs de la RT, a permis de restaurer la réponse aux interférons de type I et prévenir la neurotoxicité (Thomas et al., 2017). L'expulsion d'ADN mitochondrial par les mitochondries endommagées ou l'expulsion de fragments de chromatine dans le cytosol suite à une instabilité génomique sont aussi d'autres sources potentielles d'accumulation de ssDNA cytosoliques (**Figure 11**). L'inflammation est l'une des caractéristiques pathologiques communes associées aux MN telles que la MA (Heppner et al., 2015; Wyss-Coray, 2016) et la MP (McGeer and McGeer, 2004; Tansey et al., 2022) pouvant conduire à la neurodégénérescence.





**Figure 11 : La dé-répression des rétrotransposons LINE-1 et le déclenchement de l'inflammation (Zhang et al., 2020).**

La destructuration de l'hétérochromatine entraîne la dé-répression des rétrotransposons, en particulier les LINE-1. L'ARNm des rétrotransposons LINE-1 et/ou d'autres ET (i.e SINE) est converti en ADNc grâce l'activité RT de ORF2p dans le cytoplasme. L'activité RT de la protéine ORF2p induit l'accumulation d'ADN simples brins LINE-1 cytosoliques (ssDNA). La détection des ssDNA cytosoliques conduit au déclenchement de la voie cGAS- STING qui active ensuite IRF3. L'activation de IRF3 induit sa translocation du cytoplasme vers le noyau, ce qui déclenche l'expression des gènes de la famille de l'interféron, provoquant une inflammation chronique. Par ailleurs, les mitochondries endommagées peuvent également libérer de l'ADN mitochondrial dans le cytoplasme, et l'expulsion de fragments de chromatine dans le cytosol peut être d'autres sources d'inflammation.

## 2. Altérations nucléaires associées à ORF1p

### 2.1. Translocation de la protéine ORF1p dans le noyau

Bien que le noyau soit hautement protégé, il est clairement admis que les conséquences délétères du LINE-1 sont dues à l'activité de ses protéines non seulement dans le cytoplasme mais aussi dans le noyau.

Une question intéressante est de savoir si ces protéines peuvent accéder au noyau pour participer au mécanisme de sa rétro-transposition seulement ou bien causer d'autres dégâts indépendamment de la rétro-transposition. Cette hypothèse restait controversée au moment où nous avons débuté nos travaux.

Bien qu'un signal de localisation nucléaire putatif ait été identifié dans la séquence de ORF2p (Goodier, 2004; Kubo et al., 2006), on ne sait toujours pas si la RNP du LINE-1 peut traverser une membrane nucléaire intacte ou bien si son entrée nécessite la division cellulaire, étape pendant laquelle la membrane devient très fragile et se décompose progressivement (Buendia et al., 2001; Ellenberg, 2013). En effet, il a été proposé que, comme pour certains rétrovirus exogènes (Suzuki and Craigie, 2007), les LINE-1 peuvent accéder au noyau de manière passive lors de la rupture de la membrane nucléaire pendant la division cellulaire (Mita et al., 2018). Dans ces travaux, Mita et al., proposent un modèle dans lequel, une fois la RNP LINE-1 transloquée dans le noyau, que ORF1p se sépare de la RNP et quitte le noyau grâce à une exportine, CRM1 (Chromosomal Maintenance 1, ou Exportin 1) tandis que ORF2p reste dans le noyau.

Par ailleurs, certaines études montrent que la rétrotransposition du LINE-1 peut se produire aussi dans des cellules qui ne se divisent pas (Kubo et al., 2006; Macia et al., 2017). Ces derniers auteurs soutiennent l'idée que les protéines encodées par le LINE-1 accèdent au noyau en dehors des étapes de division cellulaire et qu'il existe potentiellement un transport actif et/ou que leur import dans le noyau est médié par des partenaires protéiques. Cette

hypothèse est renforcée par le fait que ORF1p s'associe avec certains composants du CPN comme KPNB1 (importin-beta) (Idica et al., 2017), KPNA2 (importin-alpha) (Goodier et al., 2013). Il est possible que certaines protéines fonctionnelles du CPN facilitent et/ou participent à l'import de ORF1p dans le noyau (Idica et al., 2017 ; Freeman et al., 2019).

Les données actuelles décrivent un rôle pathogénique de ORF2p via son activité d'endonucléase et de réverse transcriptase lié ou non lié à son rôle dans la rétrotransposition, mais à ce jour aucun rôle pathogénique de ORF1p n'est connu. Nous nous sommes intéressés dans nos travaux aux effets de l'augmentation des LINE-1 et en particulier la protéine ORF1p, sa localisation subcellulaire et ses conséquences potentiellement pathologiques indépendamment du phénomène de rétrotransposition.

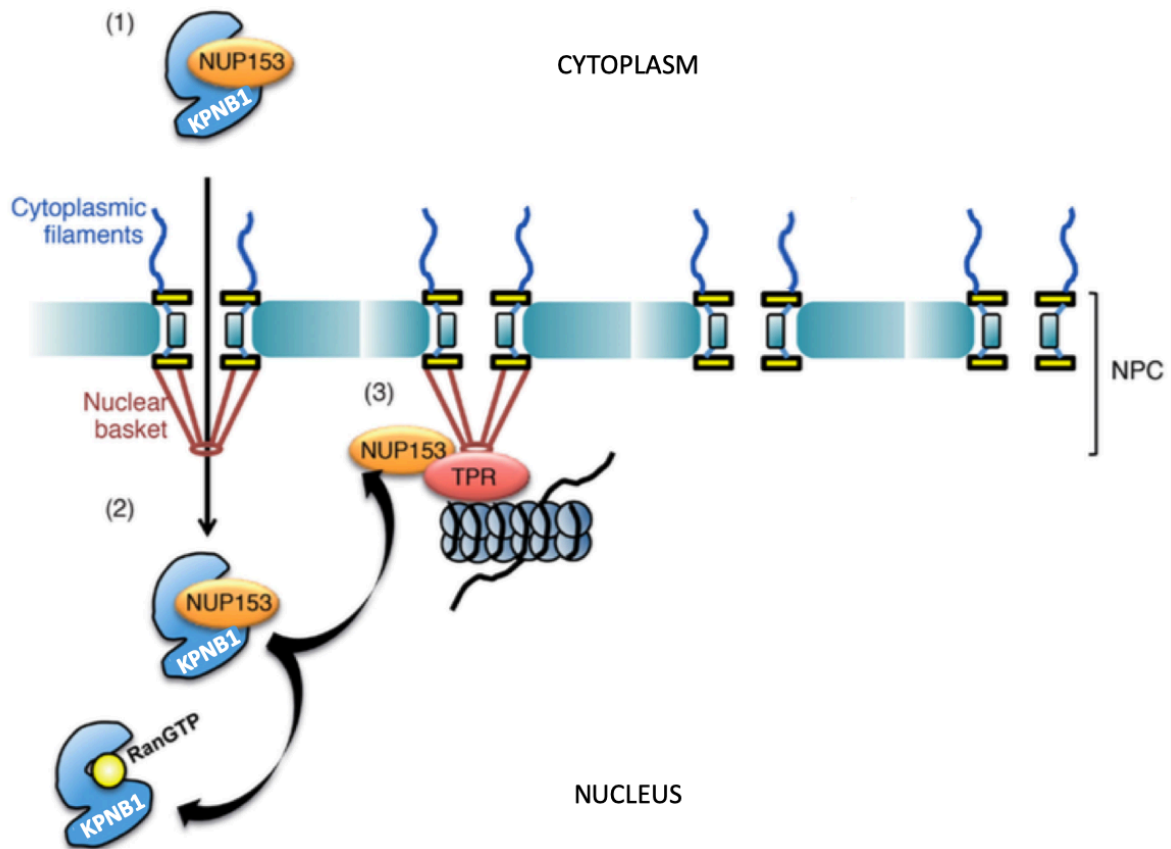
Nos résultats sur les neurones différenciés ont montré qu'en présence de stress oxydatif, il y a non seulement une augmentation de ORF1p dans le cytoplasme, mais aussi une translocation de cette protéine dans le noyau. L'augmentation de l'intensité de ORF1p dans le noyau est accompagnée par l'augmentation du nombre et du volume des foci ORF1p. Cela suggère qu'il y a potentiellement une condensation possible de ORF1p dans le compartiment nucléaire et cytoplasmique. Suite à ces observations, la question qui se posait était celle de comprendre comment ORF1p accède au noyau et quelles sont les conséquences de cette translocation.

Il a été rapporté que l'import nucléaire de la protéine ORF1p peut être médié par des transporteurs nucléaires, les importines telles que KPNB1 et KPNA2 qui sont des partenaires de liaison de ORF1p (Freeman et al., 2019), via le CPN. La régulation du transport nucléocytoplasmique (TNC) dans la cellule est assurée par des CPN ancrés dans l'enveloppe nucléaire. Ces CPN contiennent des nucléoporines ou NUPs qui interagissent avec les importines (**Figure 10**). Le bon fonctionnement du TNC permet l'import de protéines essentielles telles que les facteurs de transcription et d'autres facteurs et l'export des protéines

ainsi que les ARNm pour leur traduction dans le cytoplasme. Les importines telles que KPNB1 fonctionnent en interagissant avec des protéines cargos et facilitent leurs imports vers le noyau. Nous avons confirmé que ORF1p interagissait avec KPNB1 par des expériences de co-IP et que cette interaction est directe grâce à des expériences de PLA. Ceci suggère que l'entrée de ORF1p dans le noyau est potentiellement médiée par cette importine. D'ailleurs, ce mode d'accès au noyau médié par les importines est largement utilisé par plusieurs types de protéines virales (Kimura et al., 2013; Twyffels et al., 2014), certains rétrotransposons comme Ty1 (Manhas et al., 2018) mais aussi des protéines agrégées comme Tau (Candia et al., 2022). En effet, ce mode d'import est assisté par les importines comme TNPO3 (transportin-3) nécessaire à l'infection virale par le HIV-1. Il a été montré que TNPO3 interagit avec la capsid de HIV-1, facilite son entrée dans le noyau et que ce processus est important pour l'infection par le HIV (Valle-Casuso et al., 2012) et que la déplétion de TNPO3 empêche la translocation du HIV dans le noyau (Christ et al., 2008). Il est possible que certains ET aient adopté des stratégies identiques à celles employées par certains virus pour accéder au noyau.

Des données récentes (Idica et al., 2017) ont montré que le knock-down de KPNB1 (avec des shARN ciblant la séquence de KPNB1) sur des cellules humaines en culture qui se divisent (HeLa), affectait l'import de la protéine ORF1p dans le noyau. Une autre étude a montré que des mutations au niveau de la région C-terminale de ORF1p ont entraîné sa localisation principalement cytoplasmique et que son association avec les importines KPNB1 et KPNA2 était nécessaire pour permettre sa translocation dans le noyau. L'association de ORF1p à son ARN n'était pas nécessaire pour sa localisation nucléaire, ce qui suggère que la protéine ORF1p, qu'elle soit liée à son ARN ou isolée, peut interagir avec les protéines fonctionnelles du complexe CPN afin de faciliter son entrée dans le noyau (Freeman et al., 2019).

Les résultats que nous avons obtenus suggèrent que dans les neurones différenciés, ORF1p pourrait transloquer dans le noyau via un mécanisme médié par l'importine KPNB1. Cependant, ORF1p se lie à KPNB1 également en conditions normales, en l'absence de stress ce qui indique que l'augmentation de la translocation nucléaire de ORF1p en conditions de stress nécessite probablement l'intervention d'autres partenaires protéiques. En effet, en plus de son interaction avec KPNB1, nos résultats ont montré que ORF1p colocalise et interagit de manière directe grâce à des expériences de PLA avec la nucléoporine NUP153, composant majeur du complexe CPN au niveau du panier intérieur (**Figure 10**), impliquée dans le transport nucléocytoplasmique, et cette interaction augmente en conditions de stress. Ceci suggère que l'import de ORF1p dans le noyau est dépendant de l'intervention de NUP153. En effet, en se liant aux protéines cytoplasmiques, NUP153 peut médier leur import nucléaire (Ando et al., 2011). Cependant, les voies médiées d'une part par KPNB1 et d'autre part par NUP153 interagissent ensemble et sont liées (Walther et al., 2001) (**Figure 12**), ce qui suggère que le mécanisme par lequel ORF1p accède au noyau nécessite l'intervention de ces deux protéines. Pour mieux comprendre ce mécanisme, j'ai effectué des tests en tentant de bloquer KPNB1 par un traitement avec l'ivermectine, un bloqueur spécifique des importines  $\alpha$  et  $\beta$  mais les résultats n'étaient pas concluants. Il serait judicieux de tenter de bloquer KPNB1 avec d'autres inhibiteurs d'importines plus spécifiques ou à plus long terme, comme INI-43 (Van Der Watt et al., 2016) et l'importazole (Soderholm et al., 2011). Ce travail sera effectué dans le cadre de mon post-doc.



**Figure 12 : Fonctionnement du CPN et l'intervention de NUP153 et KPNB1. Adapté de (Larrieu et al., 2018)**

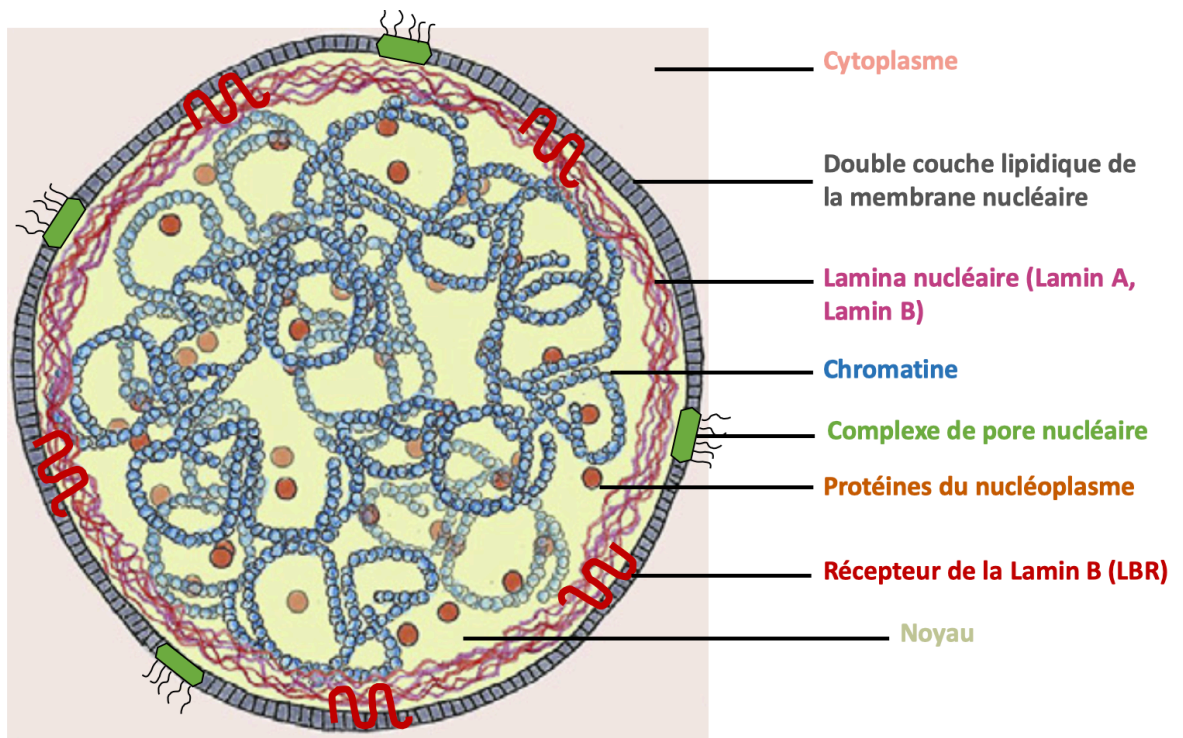
(1) KPNB1 se lie à des nucléoporines, telles que NUP153, dans le cytoplasme. (2) Le complexe KPNB1-NUP153 est transloqué dans le noyau à travers le CPN. (3) Une fois dans le noyau et après la liaison de RanGTP à KPNB1, la protéine cargo NUP153 se dissocie de KPNB1, s'incorpore dans le CPN et recrute la nucléoporine TPR (translocated promoter region). Les CPN fonctionnels assurent le transport nucléocytoplasmique et jouent d'autres rôles, comme l'ancrage de la chromatine à l'enveloppe nucléaire par l'intermédiaire de TPR.

## 2.2. Altération de la membrane nucléaire

En plus de sa translocation dans le noyau, une observation plus frappante a été la localisation et l'accumulation de ORF1p au niveau de la périphérie nucléaire, au niveau de la membrane interne et externe. Les foci de ORF1p observés au niveau des invaginations de la membrane nucléaire, augmentent en nombre et en volume en conditions de stress, ce qui pourrait

suggérer une possible condensation locale de ORF1p. Il est important de noter que la condensation de ORF1p a été décrite comme un processus nécessaire pour la mobilisation du LINE-1 et sa rétrotransposition (Sil, 2022). Il est donc probable que la condensation de ORF1p observée au niveau de périphérie nucléaire soit nécessaire pour permettre son mode d'action. Des études antérieures ont montré que l'accumulation nucléaire et péri-nucléaire de la protéine huntingtine polyglutamique (associée à la maladie de Huntington), entraîne une perturbation de l'architecture de l'enveloppe nucléaire (Gasset-Rosa et al., 2017). De manière similaire, la possible condensation et l'accumulation de ORF1p au niveau de la périphérie nucléaire pourrait conduire à l'altération de l'enveloppe nucléaire.

Nos résultats ont clairement montré une colocalisation entre ORF1p et la Lamine B1, un composant structurel majeur de la lamina nucléaire (**Figure 13**), nécessaire pour maintenir l'architecture nucléaire, l'intégrité génomique, la fonction et la survie des neurones adultes (Frost, 2016).



**Figure 13 : Structure du noyau et de l'enveloppe nucléaire.**

Le noyau est protégé par l'enveloppe nucléaire, qui est constituée d'une double couche lipidique divisée en une membrane nucléaire externe, en continuité avec le réticulum endoplasmique, et une membrane nucléaire interne, définissant ensemble l'espace péri-nucléaire. Les deux couches lipidiques fusionnent au niveau des complexes de pores nucléaires, un complexe protéique important qui contrôle de manière sélective l'import et l'export des protéines à travers l'enveloppe nucléaire. Sous la membrane nucléaire interne se trouve une fine couche (40 à 100 nm), la lamina nucléaire qui est composée de lamines nucléaires (telles que la Lamine B, Lamine A), essentielles pour le maintien de l'intégrité nucléaire. La membrane nucléaire interne est directement connectée d'un côté à la chromatine et de l'autre côté la membrane nucléaire externe est connectée au cytosquelette. Adapté de (Nader et al., 2021)

Nos expériences de co-IP ont permis de confirmer l'interaction entre ORF1p et la Lamine B1. Cette interaction est directe, comme démontrée par les expériences de PLA et augmente de manière significative avec le stress. Pour examiner les éventuelles altérations



causées par ORF1p au niveau de l'enveloppe nucléaire, nous nous sommes intéressés au marquage de la Lamine B1. En conditions de stress, l'accumulation de ORF1p au niveau de la membrane nucléaire était accompagnée par la formation d'invaginations de l'enveloppe nucléaire, la formation de bourgeons ou « Blebs » et la perte de la circularité nucléaire. L'altération de la morphologie nucléaire était significativement corrélée avec l'intensité de ORF1p, à la fois dans le noyau et au niveau de la membrane nucléaire interne. De manière intrigante, en plus de sa localisation autour du noyau, le signal de PLA d'interaction entre ORF1p et la Lamine B1 était également détecté dans le nucléoplasme. Cela suggère que ORF1p se lie à la Lamine B1, déstabilise potentiellement sa fonction et induit sa délocalisation vers l'intérieur du noyau et/ou pourrait entraîner sa séquestration en dehors de son emplacement physiologique. La quantification de la Lamine B1 à l'intérieur du noyau a montré son augmentation en condition de stress ce qui renforce cette hypothèse.

Nos expériences de gain de fonction en surexprimant la protéine ORF1p dans les neurones, en absence de stress oxydatif, montrent clairement que les cellules qui surexpriment ORF1p (et non pas ORF2p) (transfectées HA-ORF1) présentent une circularité nucléaire réduite comparée aux neurones transfectés avec la GFP. La perte de la circularité dans les cellules HA-ORF1 positives était significativement corrélée avec les niveaux nucléaires élevés de HA-ORF1p. Ces observations suggèrent que l'augmentation de ORF1p, en absence de stress, sa translocation dans le noyau et son association aux composants de l'enveloppe nucléaire suffit à entraîner des altérations de la lamina nucléaire indépendamment de la présence de la RNP entière ou de ORF2p. Considérant l'existence d'un niveau basal de ORF1p, on peut imaginer que la cellule neuronale tolère ORF1p jusqu'à un certain seuil au-delà duquel les mécanismes de compensation à découvrir soient débordés. Alors au-delà de ce seuil, on verrait apparaître les défauts que nous constatons.

Une explication possible est qu'en conditions normales, il y a une expression basale des LINE-1 et un certain niveau de ORF1p dans la cellule, et qu'une fois ce niveau d'expression de ORF1p est dépassé, en condition de stress oxydatif par exemple, ou en cas de surexpression, les niveaux protéiques de ORF1p augmentent, ces protéines vont s'accumuler au niveau du cytoplasme et autour du noyau, interagissent avec KPNB1 et NUP153 (interaction favorisée par le stress oxydatif) et transloquent dans le noyau. ORF1p s'associe aux composants de la membrane nucléaire et induit sa fragilisation, ce qui va favoriser davantage l'entrée massive de ORF1p dans le noyau. De plus, les altérations de la membrane nucléaire sont accompagnées du détachement et la déstructuration globale de l'hétérochromatine et son détachement de la lamina nucléaire ce qui peut favoriser la transcription des séquences LINE-1 qui sont normalement réprimées. L'accumulation et la possible condensation des protéines ORF1p dans le noyau va causer encore plus de dégâts. Donc, en prenant en compte que dans les cellules qui se divisent, la protéine ORF1p entre dans le noyau uniquement pendant la division cellulaire, quand la membrane nucléaire est fragilisée, il est possible que dans les cellules différenciées qui ne se divisent pas, ORF1p interagisse et perturbe les composants de l'enveloppe nucléaire fragilisant la membrane nucléaire et permettant son accès au noyau. Ceci pourrait être un autre moyen pour les LINE-1 d'accéder au noyau en plus de leur interaction avec des importines (i.e KPNB1) et/ou des nucléoporines (i.e Nup153). L'entrée des LINE-1 dans le noyau pourrait permettre leur activité de retro-transposition.

La toxicité de ORF1p semble dépendre de sa localisation nucléaire et péri-nucléaire. Ces données suggèrent un nouveau rôle pathogénique de ORF1p en agissant sur les composants de la membrane nucléaire, en séquestrant et/ou induisant la délocalisation de certains de ses composants entraînant ainsi la déstabilisation de l'intégrité membranaire.

Afin de démontrer que les effets pathogéniques observés au niveau de membrane nucléaire sont liés à la protéine ORF1p seule, sans l'intervention de ORF2p, nous avons prétraité les neurones avec l'inhibiteur de la RT de la protéine ORF2p, la Stavudine. Ce traitement a permis de restaurer les dommages à l'ADN induits par l'activité de ORF2p mais n'a pas permis de restaurer les altérations au niveau de la membrane nucléaire ni de normaliser les niveaux de ORF1p augmentés en conditions de stress. Cela montre que ORF1p agit sans l'intervention de ORF2p, en tout cas sans l'intervention de son activité enzymatique de RT, au niveau de l'enveloppe nucléaire et que les effets observés sont principalement dus au mode d'action de ORF1p. Il nous paraissait également important de vérifier si l'action de ORF1p au niveau de la membrane nucléaire requiert son association avec son ARN, celui de LINE-1. Afin de répondre à cette question, nous projetons d'utiliser des plasmides (reçus de la part du Dr. Nicolas Gilbert) permettant une détection (par immunofluorescence) concomitante ou indépendante de l'ARN LINE-1 et des protéines encodées par le LINE-1 (Doucet et al., 2016). Ce système permet également de surmonter les difficultés de détection de la protéine ORF2p. Ceci nous permettra donc de suivre la localisation de ORF1p, ORF2p et l'ARN LINE-1 simultanément dans les cellules transfectées en conditions normales et en conditions de stress.

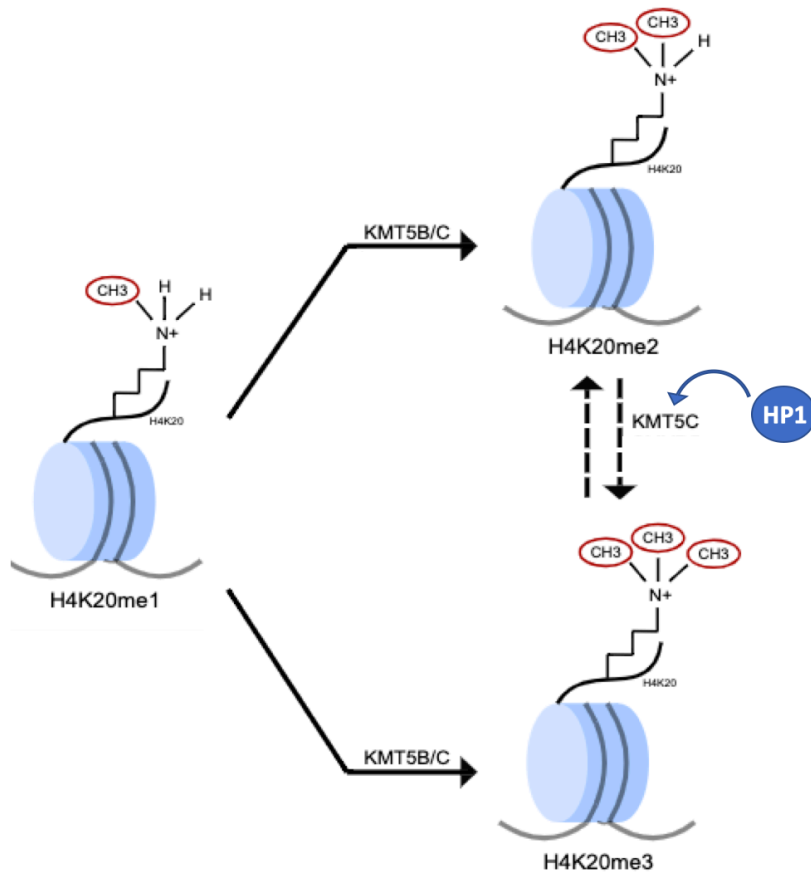
Les altérations de la membrane nucléaire et la perte de la morphologie nucléaire sont récemment apparues comme des caractéristiques du vieillissement normal ou prématuré (Mattout et al., 2006; Scaffidi and Misteli, 2006) mais aussi de certaines MN. Malgré l'importance fondamentale de la membrane nucléaire, les facteurs affectant sa morphologie et l'intégrité nucléaire ne sont pas encore bien caractérisés. L'altération de l'enveloppe nucléaire a été observée dans les tissus post-mortem de patients atteints de la MP (Liu et al., 2012), la MA (Sheffield et al., 2006), de tauopathies (Frost et al., 2016), de SLA (Kinoshita et al., 2009) et la maladie de Huntington (Gasset-Rosa et al., 2017). En effet, Gasset-Rosa et al.

(2017) a démontré que dans des progéniteurs neuronaux dérivés d'iPSCs d'individus atteints ou de la maladie de Huntington, 50 % des cellules présentaient des invaginations de l'enveloppe nucléaire. De même, l'analyse de la forme de l'enveloppe nucléaire dans le cortex moteur de patients atteints de la maladie de Huntington a montré que plus de 50 % des noyaux présentaient des morphologies nucléaires anormales par rapport à ce qui était observé chez les témoins sains (uniquement 13%). Les mêmes observations ont été relevées chez des souris modèles de la maladie de Huntington (Gasset-Rosa et al., 2017).

D'autre part, chez des souris modèles de SLA, les cellules de la corne antérieure de la moelle présentaient des morphologies nucléaires anormales et des irrégularités de l'enveloppe nucléaire et qui devenaient plus prononcées avec la progression de la maladie (Kinoshita et al., 2009).

L'une des conséquences de l'altération de la membrane nucléaire pourrait être la déstructuration de l'hétérochromatine ancrée à la lamina nucléaire. En effet, dans le noyau, l'hétérochromatine est ancrée à la périphérie nucléaire et l'euchromatine dans le nucléoplasme (Misteli, 2007). Les protéines associées à l'enveloppe nucléaire, telles que les lamines et les protéines de la membrane nucléaire interne, sont importantes pour l'ancrage de l'hétérochromatine à la périphérie nucléaire soit par liaison directe, ou indirecte par l'intermédiaire de protéines, telles que la protéine de l'hétérochromatine (HP1). La déplétion de ces protéines de la membrane nucléaire interne perturbe la localisation périphérique de l'hétérochromatine et peut conduire à son détachement (Chang et al., 2022). Nos résultats ont montré que l'altération de la lamina nucléaire était accompagnée de la délocalisation de HP1 de la périphérie nucléaire vers le nucléoplasme. En cohérence avec ce résultat, il a été rapporté dans une étude récente (Kaneshiro et al., 2023) que la perturbation de la Lamine B1 entraîne la redistribution de l'hétérochromatine périphérique en des foyers hétérochromatiniens situés à l'intérieur du nucléoplasme, témoin d'un défaut d'ancrage de

l'hétérochromatine au niveau de la périphérie nucléaire. La délocalisation de HP1 observée en conditions de stress était accompagnée par une baisse des niveaux de H4K20me3, une marque de répression de l'hétérochromatine. L'une des explications possibles est que HP1 délocalisée ne peut plus se lier à H4K20 et ne peut plus recruter la méthyltransférase KMT5C responsable de l'étape de méthylation de H4K20. En effet, la triméthylation de H4K20 est régulée par une interaction entre KMT5C et HP1 (**Figure 14**) (Schotta et al., 2004). Ceci aura pour conséquence une déplétion en H4K20me3 qui est considérée comme l'une des marques majeures de l'hétérochromatine silencieuse et fait partie des mécanismes de la répression des ET en particulier les rétrotransposons LINE-1 (Ren et al., 2021). La délocalisation de HP1 et la déplétion en H4K20me3 conduit à une déstructuration globale de l'hétérochromatine (probablement aussi autour des loci LINE-1) ce qui pourrait conduire à l'amplification de la dé-répression des LINE-1 et potentiellement à une dérégulation globale de l'expression d'autres gènes.



**Figure 14 : Modèle proposé pour la méthylation de H4K20 et l'implication de HP1.**  
**Adapté de Corvalan et al. (2021).**

La méthylation de H4K20 peut être régulée par l'interaction entre KMT5C et HP1. KMT5C est recruté dans les régions d'hétérochromatine par le biais de ses interactions avec HP1 afin de permettre la tri-méthylation de H4K20 (di-méthylé).

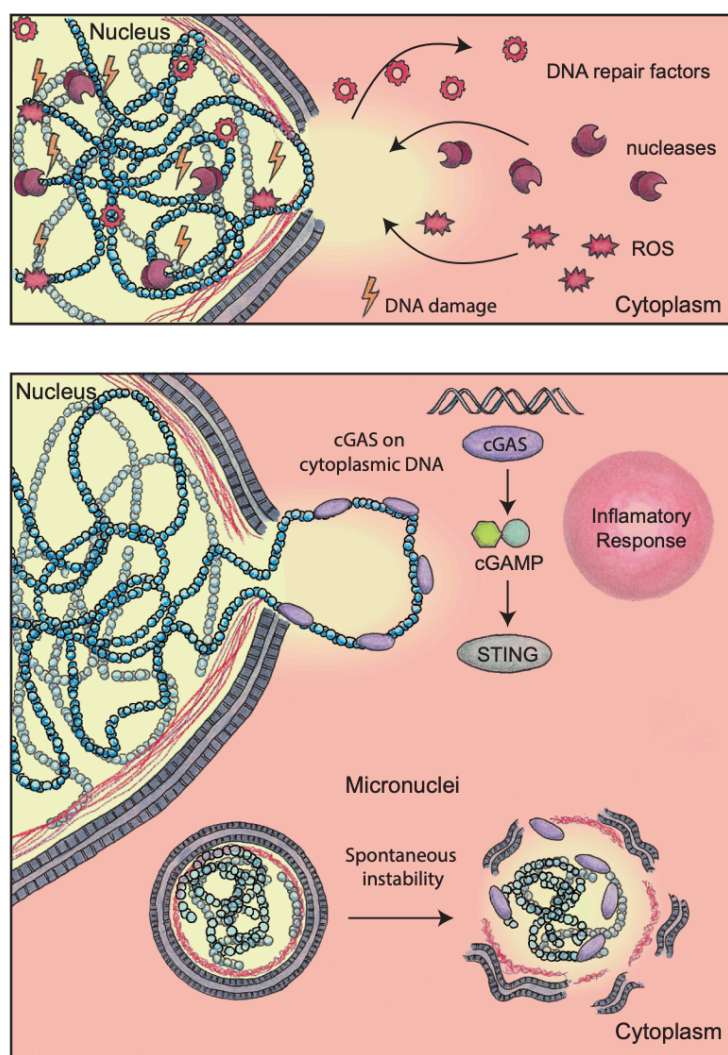
En outre, la perturbation de la Lamine B1 peut également altérer l'expression des gènes. En effet, Kaneshiro et al. (2023) ont montré que la perturbation des niveaux de la Lamine B1 entraîne la dé-répression de certains gènes qui étaient réprimés en conditions normales. Ceci suggère que l'altération des protéines de la lamina nucléaire telle qu'observée pour la Lamine B1, dans cette étude, pourrait induire une dérégulation de l'expression génique. Cette dérégulation pourrait concerner des gènes comme les gènes impliqués dans l'identité cellulaire ou dans la différenciation ce qui pourrait affecter la fonction des neurones. Il serait

intéressant de vérifier l'expression de gènes spécifiques du placenta qui pourraient être activés lors de la désorganisation globale de l'hétérochromatine (Liu et al., 2022) ou encore ceux liés au cycle cellulaire ou ceux exprimés dans le cerveau fœtal (Frost et al., 2014) par exemple par RT-qPCR. En effet, le maintien sous contrôle de certains gènes spécifiques aux différents types cellulaires contribue au maintien de l'identité et la fonction neuronale. La réexpression de gènes impliqués dans l'entrée dans le cycle cellulaire pourrait conduire les neurones à des tentatives de réentrée en division cellulaire, et par conséquent à une dédifférenciation des neurones entraînant potentiellement la sénescence. La dédifférenciation et la perte de l'identité neuronale sont deux caractéristiques associées à la neurodégénérescence dans la MA (Caldwell et al., 2020). De ce point de vue, identifier les gènes potentiellement dérégulés dans ces conditions ainsi que lorsque la fonction de ORF1p est perdue serait d'un grand intérêt. Cela pourrait se faire en séquençant l'ARN de neurones en conditions de stress.

Par ailleurs, il a été montré que la membrane nucléaire représente une barrière pour les rétrotransposons dans les cellules HeLa (Taylor et al., 2013). Donc, il est probable que la déstabilisation de l'enveloppe nucléaire par les produits des gènes de LINE-1 soit un moyen alternatif pour favoriser davantage leur dé-répression massive voire celle d'autres ET, tels que les HERV dont l'activation incontrôlée est toxique pour la cellule hôte.

Selon le niveau de détérioration de l'enveloppe nucléaire et de ses composants, d'autres événements qui affectent le fonctionnement et la survie des cellules peuvent en découler. En effet, l'apparition d'invaginations au niveau de l'enveloppe nucléaire peut être une source d'instabilité génomique. Si l'altération de l'enveloppe nucléaire est aggravée, ceci peut entraîner un échange entre le compartiment nucléaire et cytosolique à cause des événements de rupture. L'ADN devient donc exposé aux attaques par les nucléases cytosoliques et les espèces réactives de l'oxygène, ce qui provoque des dommages à l'ADN. De même l'efficacité de la réparation de l'ADN pourrait être réduite en raison de la perte des

protéines de réparation de l'ADN qui sont normalement nucléaires et qui peuvent fuir dans le cytoplasme. L'altération de la lamina nucléaire entraîne une fragilisation du noyau. Dans des situations extrêmes, il pourrait y avoir des événements de rupture spontanée de l'enveloppe nucléaire et le relargage de l'ADN génomique dans le cytosol. La fuite de l'ADN dans le cytosol peut être, en plus de l'activité RT de ORF2p (comme mentionné ci-dessus), une seconde source d'inflammation via l'activation de la voie cGAS/STING (**Figure 15**).



**Figure 15 : Conséquences de l'altération de la membrane nucléaire (Nader et al., 2021).**

La déformation nucléaire s'accompagne d'irrégularités et d'invaginations au niveau de l'enveloppe nucléaire et affecte la forme et la taille du noyau. L'altération de l'enveloppe nucléaire peut avoir plusieurs conséquences délétères pour la cellule. En effet, sa détérioration



pourrait entraîner un échange entre le noyau et le cytoplasme. L'ADN n'est plus protégé et devient donc exposé aux nucléases et aux espèces réactives de l'oxygène qui se trouvent dans le cytosol, ce qui provoque des lésions de l'ADN. Les facteurs de réparation de l'ADN qui sont normalement à l'intérieur du noyau vont fuir dans le cytoplasme ce qui va réduire l'efficacité de la réparation de l'ADN. Dans des situations extrêmes, l'altération de la lamina nucléaire peut entraîner des événements de rupture spontanée de l'enveloppe nucléaire et le relargage d'ADN génomique dans le cytosol ce qui va provoquer l'activation de la voie cGAS/STING qui détecte les ADN cytosoliques et l'activation de la voie des interférons ce qui provoque l'inflammation.

### **2.3. L'altération du complexe de pore nucléaire et du transport nucléocytoplasmique**

Nos résultats ont montré qu'en plus de son interaction avec l'importine KPNB1, ORF1p interagit également avec la nucléoporine NUP153, et que cette interaction augmentait en présence de stress. De plus, le nombre de points d'interaction révélés par la méthode PLA entre ORF1p et NUP153 augmente dans le nucléoplasme en conditions de stress. Comme mentionné ci-dessus, l'intervention de NUP153 pourrait être nécessaire pour faciliter l'accès de ORF1p au noyau. En plus de l'interaction directe, la quantification du signal PLA a montré une accumulation intranucléaire et cytoplasmique anormale. Ceci pourrait refléter un scénario dans lequel ORF1p, en s'associant à NUP153 et potentiellement d'autres NUPs, altère leur fonction et/ou les séquestre dans le noyau et/ou empêche leur assemblage au niveau du CPN entraînant une perturbation du transport nucléocytoplasmique. L'accumulation intranucléaire anormale des nucléoporines (telles que NUP62, NUP88) a été décrite dans le contexte des MN (i.e., HD) (Grima et al., 2017).

Les nucléoporines sont impliquées dans la régulation de l'expression des gènes (Buchwalter et al., 2014; Capelson et al., 2010; Strambio-De-Castillia et al., 2010) où elles interagissent directement avec l'ADN mais elles sont aussi impliquées dans le transport de l'ARN vers le cytoplasme. De plus, les nucléoporines peuvent interagir avec la chromatine et

contribuent à l'organisation de l'hétérochromatine (Iglesias et al., 2020) en contribuant à la formation de « loop » génomiques (Pascual-Garcia and Capelson, 2019). La séquestration et/ou la délocalisation des nucléoporines telle que NUP153 peut donc entraîner une perturbation du trafic nucléocytoplasmique et indirectement une dérégulation de l'expression des gènes ce qui pourrait affecter la fonction et la survie de la cellule. D'autre part, il a été rapporté (dans un modèle de drosophile) que les nucléoporines comme NUP54 et NUP58, sont essentielles pour la répression des transposons par la voie des piARN (Munafò et al., 2021). Ceci pourrait suggérer que la déstabilisation des NUPs par les éléments LINE-1 pourrait favoriser en retour davantage leur dé-répression.

L'altération des nucléoporines ou la perturbation générale du CPN entraînent un déséquilibre moléculaire entre le noyau et le cytoplasme qui peut affecter la fonction et la survie des neurones. Les perturbations du CPN et du trafic nucléocytoplasmique ont été identifiées comme des caractéristiques des neurones âgés (Mertens et al., 2015) et sont apparues récemment comme des facteurs émergents qui initient et/ou contribuent à la pathogenèse de certaines MN (Bitetto and Di Fonzo, 2020; Fallini et al., 2020; Ferreira et al., 2020; Hachiya et al., 2021; Kim and Taylor, 2017; Li and Lagier-Tourenne, 2018; Loureiro et al., 2016; Patel and Chu, 2011) dont : la maladie de Huntington (Bañez-Coronel et al., 2015; Grima et al., 2017), la SLA/FTD (Aizawa et al., 2019; Chou et al., 2018; Coyne et al., 2020; Gasset-Rosa et al., 2017; Kinoshita et al., 2009; F. Zhang et al., 2015), la MA (Eftekharzadeh et al., 2018; Sheffield et al., 2006), les tauopathies (Eftekharzadeh et al., 2018) mais aussi dans les cellules qui expriment des protéines qui ont tendance à former des agrégats (Woerner et al., 2016). La composition du CPN diffère d'un type cellulaire à un autre, et les composants du CPN affectés ne sont pas toujours les mêmes. Cela expliquerait les différences de vulnérabilité cellulaire observées dans certaines MN. La perturbation du TNC est associée à une délocalisation de certaines protéines fonctionnelles du CPN (telles que des nucléoporines

et/ou des importines/exportines) ou encore d'autres protéines dont la localisation est strictement nucléaire ou cytoplasmique selon leurs fonctions dans la cellule.

Nos résultats ont montré que le ciblage de l'enveloppe nucléaire par ORF1p dans notre modèle neuronal de stress était accompagné d'une perturbation du trafic nucléocytoplasmique, comme en témoignait la délocalisation et l'accumulation anormale dans le cytoplasme de protéines du CPN telle que RANgap1 qui est une protéine clé impliquée dans le TNC (**Figure 10**) et dont la délocalisation est associée à un défaut du TNC (**Figure 16**). Le transport actif est maintenu par la RAN GTPase et un gradient de RAN. La protéine RANgap1 hydrolyse le RAN-GTP en RAN-GDP. Ce processus augmente les niveaux de RAN-GDP et fournit une source d'énergie pour le fonctionnement du TNC (Klebe et al., 1995). Plusieurs études indiquent que la délocalisation des protéines du CPN telles que les récepteurs de transport nucléaire, la protéine activatrice RANgap1 et la perturbation des gradients de RAN GTPase entraînent une perturbation du TNC (Zhang et al., 2015). Dans la SLA associée à C9orf72, des études ont rapporté la délocalisation des récepteurs de transport nucléaire (Hutten and Dormann, 2020), ainsi que la délocalisation des NUPs dans des tissus de cerveaux post-mortem de patients SLA (Vanneste and Van Den Bosch, 2021). Des études réalisées sur des tissus humains post-mortem de la SLA et SLA-FTD associée à C9orf72, ainsi que sur des modèles murins de la SLA, suggèrent que la délocalisation et l'accumulation cytoplasmique de la protéine RANgap1 et de certaines nucléoporines telles que NUP107, NUP205, sont associées aux altérations du TNC (Giampetruzzi et al., 2019; W. Zhang et al., 2015). Par ailleurs, une autre analyse sur des tissus post-mortem issus de cerveaux de patients atteints de la maladie de Huntington, a rapporté une délocalisation et une agrégation cytoplasmique de RANgap1 dans les cellules du cortex frontal et de NUP62 dans les cellules du striatum (Grima et al., 2017). En outre, une délocalisation de RANgap1 associée à une perturbation du TNC a été observée dans les cellules de cerveaux de souris modèles de la maladie de

Huntington ainsi qu'au niveau du cortex de patients atteints de Huntington (Gasset-Rosa et al., 2017).

Nos résultats ont révélé une augmentation de l'intensité de la protéine RANgap1 ainsi que le nombre et le volume des foci RANgap1 dans le cytoplasme en conditions de stress. Cette accumulation cytoplasmique anormale de RANgap1 témoigne d'une altération du TNC. Une étude réalisée sur la SLA associée à la mutation C9orf72, ont montré que le dipeptide C9orf72 séquestre la protéine RANgap1, entraînant une altération du gradient de la RAN GTPase et une altération du TNC dans des neurones dérivés de cellules souches pluripotentes induites (Zhang et al., 2015). De même, la protéine mutante huntingtin séquestre RANgap1 et Gle1 (un composant clé du CPN impliqué dans l'export de l'ARNm), et perturbe le TNC (Gasset-Rosa et al., 2017). De même, il a été observé que les agrégats de Tau cytoplasmiques interagissent avec des nucléoporines telles que NUP98 et les séquestrent entraînant ainsi une perturbation du TNC (Eftekharzadeh et al., 2018).

De manière similaire au mode d'action de ces protéines agrégées, ORF1p pourrait avoir un effet toxique semblable au niveau de la périphérie nucléaire. Les foci de ORF1p observés au niveau des invaginations de l'enveloppe nucléaire pourraient témoigner d'une possible condensation entraînant la séquestration des composants du CPN, la déstabilisation générale du CPN et l'obstruction des pores nucléaires.

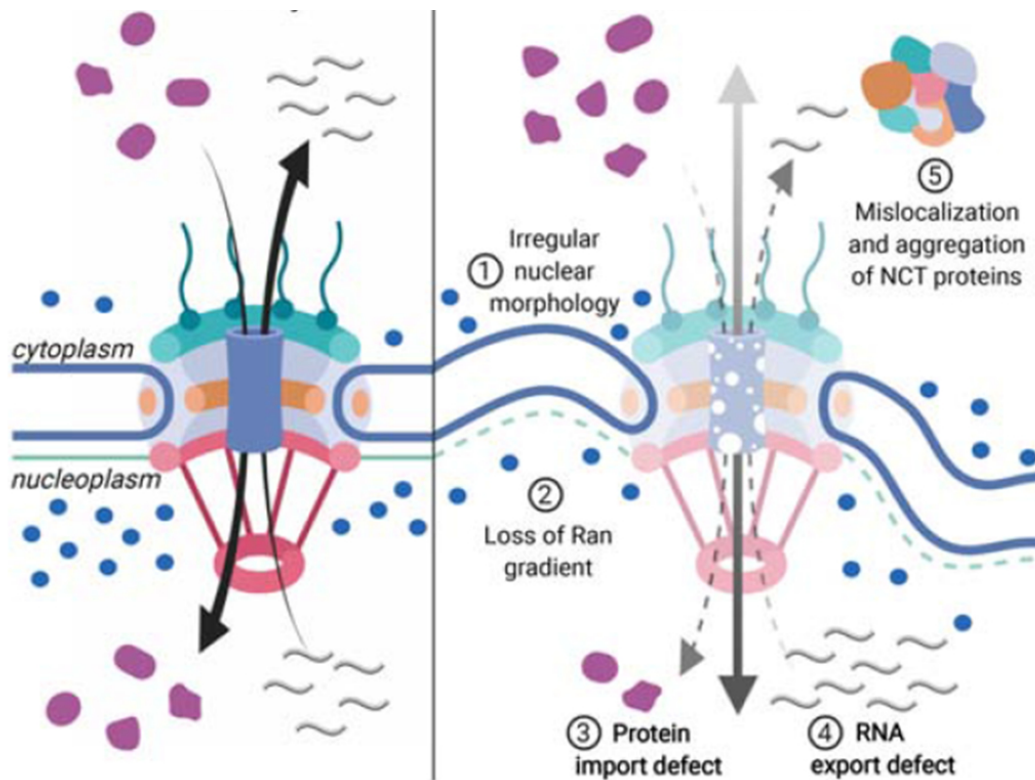
La délocalisation de protéines physiologiquement strictement nucléaires, dans le cytoplasme ou la réciproque est associée à un défaut du trafic nucléocytoplasmique et une toxicité (**Figure 16**). Les résultats de nos travaux ont également démontré qu'en plus de la délocalisation anormale de protéines du CPN, l'altération du TNC se manifestait par la délocalisation et l'accumulation cytoplasmique anormale de TDP-43, une protéine strictement nucléaire. TDP-43 est une protéine de liaison à l'ARN et est impliquée dans les MN. Dans la plupart des cas de SLA (>90% des patients), TDP-43 est expulsée du noyau vers le

cytoplasme et s'accumule et forme des agrégats cytoplasmiques toxiques (Aizawa et al., 2019; Neumann et al., 2006). D'après Zhang et al. (2015), la délocalisation cytoplasmique de TDP-43 dans la SLA/FTD pourrait être une conséquence d'un défaut d'import nucléaire. Sa localisation cytoplasmique anormale observée dans notre modèle neuronal reflète plutôt une claire altération du TNC. Le trafic des protéines essentielles entre le compartiment cytoplasmique et nucléaire, assuré par les CPN, est un processus important dans la transduction des signaux au sein de la cellule. Ce processus est particulièrement complexe dans les neurones en raison de leur organisation cellulaire hautement polarisée. Les neurones pourraient donc être particulièrement sensibles aux perturbations du TNC. De nombreuses protéines de signalisation et facteurs de transcription se déplacent entre le noyau et le cytoplasme, et leur localisation change en réponse à différents stimuli. Par ailleurs, dans le cas de défauts du CPN, ces facteurs pourraient changer de localisation entraînant une dérégulation de l'expression des gènes.

La détérioration des pores nucléaires va induire une perte de la compartimentation et la fuite de protéines cytoplasmiques dans le nucléoplasme et inversement. Dans ce contexte, les protéines sujettes à l'agrégation, normalement prises en charge dans le cytoplasme, peuvent se retrouver accumulées de manière anormale à l'intérieur du noyau ou inversement induisant une neurotoxicité (Shibata and Morimoto, 2014). Donc, la perturbation des CPN pourrait également contribuer à l'accumulation toxique des protéines agrégées dans les neurones et affecter la protéostase cellulaire. Il faut noter que les CPN ne se renouvellent pas dans les cellules post-mitotiques et ont une durée de vie extrêmement longue (D'Angelo et al., 2009; Hetzer, 2010). Par exemple, les nucléoporines structurelles restent incorporées dans la membrane nucléaire pendant toute la durée de vie d'une cellule (D'Angelo et al., 2009). L'altération des composants du CPN et l'absence de mécanismes de remplacement dans les

neurones peut donc entraîner une détérioration progressive de leur fonction et affecter leur survie.

Pour établir de manière ferme et définitive la causalité entre la translocation de ORF1p dans le noyau et les altérations de l'enveloppe nucléaire, j'ai tenté des expériences de perte de fonction des éléments LINE-1 en utilisant des siARN par transfection ou des oligonucléotides anti-sens ASOs par gymnose qui ciblent spécifiquement les séquences ORF1 et ORF2 du LINE-1. Malheureusement, les expériences n'ont pas été concluantes. D'autres expériences sont envisagées pour valider ce lien de causalité notamment en utilisant des drogues pour bloquer l'import de ORF1p dans le noyau comme INI-43, Importazole (Stelma et Leaner., 2017 ; Kosyna et Depping., 2018) bloqueurs de KPNB1.



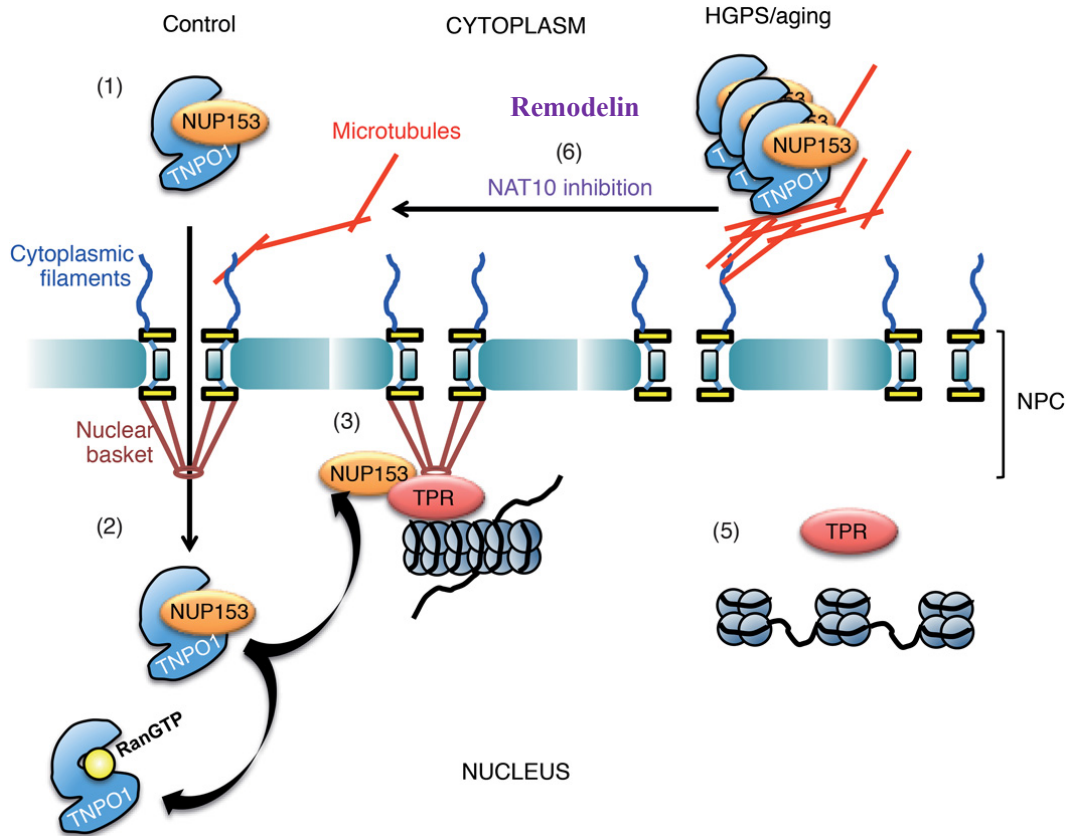
**Figure 16 : Altération du complexe de pore nucléaire et ses conséquences possibles D'après (Fallini et al., 2020).**

L'altération du CPN peut être à l'origine de la perturbation du gradient Ran, de la délocalisation et/ou de l'agrégation des protéines impliquées dans le transport nucléocytoplasmique (comme les nucléoporines, les importines/exportines) et d'autres protéines cellulaires fonctionnelles qui sont normalement strictement soit nucléaires ou cytoplasmiques et qui peuvent se retrouver accumulées de manière anormale dans un compartiment ou dans l'autre. L'accumulation de protéines mal repliées et agrégées dans le cytoplasme et/ou le noyau étant un mécanisme pathologique commun à de nombreux troubles neurodégénératifs. L'export des ARN est également perturbé ce qui peut potentiellement affecter l'expression des gènes. Tous ces facteurs peuvent conduire à la perte de la protéostase dans le noyau.

### 3. Stratégie thérapeutique ciblant l'intégrité de la membrane nucléaire

La perte de l'intégrité nucléaire a été largement décrite dans le contexte du vieillissement (Martins et al., 2020; Scaffidi and Misteli, 2006). La progérine, une forme mutante et toxique de la Lamine A, est à l'origine du syndrome de vieillissement prématuré Hutchinson-Gilford progeria (HGPS). La progérine s'accumule au niveau de l'enveloppe nucléaire interne et conduit (i) à l'altération de la morphologie nucléaire, (ii) à la perturbation du CPN et par conséquent du TNC, (iii) à la destructuration globale de la chromatine due à la perte de l'ancrage de l'hétérochromatine au niveau de la périphérie nucléaire et (iv) à une dérégulation de l'expression des gènes (Booth et al., 2015; McCord et al., 2013; Wilson, 2018). Ces altérations peuvent être restaurées grâce à un traitement par la Remodelin dans des modèles cellulaires et murins de vieillissement accéléré (Larrieu et al., 2018, 2014). La Remodelin agit en inhibant l'acétyltransférase NAT10 et a permis de restaurer les phénotypes décrits plus haut, notamment la réorganisation de la chromatine, la normalisation de localisation des protéines du CPN (KPNB1, NUP153, RAN) et la restauration de la morphologie nucléaire via un mécanisme agissant sur la stabilité des microtubules (Larrieu et al., 2018). En effet, il a été rapporté, qu'en inhibant NAT10, la Remodelin permet de déstabiliser le réseau de microtubules qui séquestre KPNB1 dans le cytoplasme, permettant sa libération. Cela favorise alors sa translocation dans le noyau ainsi que l'import nucléaire de ses cargos tels que NUP153 (**Figure 17**), permettant ainsi la restauration de l'organisation de la chromatine et le TNC médié par RanGTP (Larrieu et al., 2018).

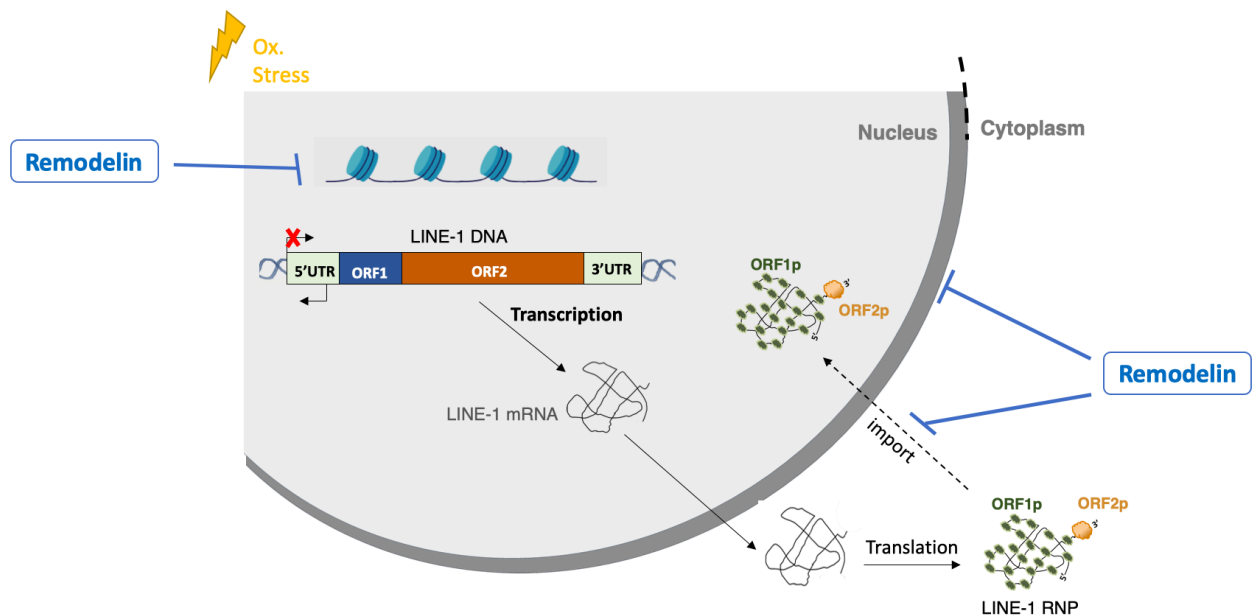




**Figure 17 : Modèle du mécanisme d'action de la Remodelin sur NAT10 (Larrieu et al., 2018).**

Le modèle présenté dans cette figure a été proposé dans le contexte de HGPS dans une étude menée par Larrieu et al., (2018). Dans les cellules normales, (1) KPNB1 (TNPO1) se lie à ses protéines cargo, telles que NUP153, dans le cytoplasme. (2) Le complexe KPNB1-cargo est transloqué dans le noyau à travers le pore nucléaire. Dans le cas des HGPS, la stabilité accrue du réseau de microtubules séquestre KPNB1 dans le cytoplasme. (4) Les cargos de KPNB1 tels que NUP153 ne sont plus correctement importés dans le noyau. L'absence de NUP153 entraîne une diminution de l'abondance des protéines Ran nucléaires et des défauts d'ancrage du TPR dans le complexe de pore nucléaire. Il en résulte une perturbation du transport nucléocytoplasmique et une désorganisation de la chromatine. (5) En inhibant NAT10, la Remodelin permet de déstabiliser le réseau de microtubules qui séquestre KPNB1 et permet de le libérer du cytoplasme, ce qui lui permet d'exercer sa fonction d'import nucléaire. Le transport nucléocytoplasmique et l'organisation de la chromatine sont alors normalisés.

Dans notre modèle de stress oxydatif, le prétraitement des neurones avec la Remodelin 24 h avant l'application de stress avec l'arsenite a permis de restaurer la morphologie nucléaire et la localisation anormale de la Lamine B1 dans le nucléoplasme. De même, la Remodelin a permis de baisser les niveaux d'ORF1p nucléaire sans affecter ses niveaux cytoplasmiques. Une des marques de l'hétérochromatine silencieuse associée aux LAD est H4K20me3 (Black et al., 2012; Richards and Elgin, 2002), impliquée dans la répression des éléments LINE-1 (Ren et al., 2021). En présence de stress, la perturbation de l'enveloppe nucléaire était accompagnée par la déstructuration de l'hétérochromatine montrée par la perte de H4K20me3. Le prétraitement avec la Remodelin a également permis de restaurer l'organisation de l'hétérochromatine réprimée, probablement via la restauration de l'intégrité de l'enveloppe nucléaire, ou via son action sur l'acétyltransférase NAT10. La réorganisation de l'hétérochromatine a probablement empêché la dé-répression des LINE-1. Par ailleurs, un autre scénario possible est celui de l'inhibition transcriptionnelle des LINE-1 par la Remodelin. Cette drogue pourrait aussi bloquer la translocation de ORF1p dans le noyau, via la restauration de l'intégrité nucléaire et par conséquent, de protéger contre son entrée massive dans le noyau et son action délétère sur les composants de la membrane nucléaire. Les deux scénarios sont schématisés dans la **Figure 18**.



**Figure 18 : Modes d'action possibles de la Remodelin.**

La Remodelin permet de restaurer l'organisation de l'hétérochromatine, probablement via la restauration de l'intégrité de l'enveloppe nucléaire, ou via son action sur l'acétyltransférase NAT10. La réorganisation de l'hétérochromatine empêche la dé-répression des LINE-1. Cette drogue pourrait aussi bloquer la translocation de ORF1p dans le noyau, via la restauration de l'intégrité nucléaire et par conséquent, de protéger contre son entrée massive dans le noyau et son action délétère sur les composants de la membrane nucléaire.

### III. Conclusion et perspectives

Nos travaux ont pu montrer que les éléments LINE-1 pourraient être source d'un ensemble d'effets délétères dans des conditions où leur activation incontrôlée, par exemple en conditions de stress oxydatif.

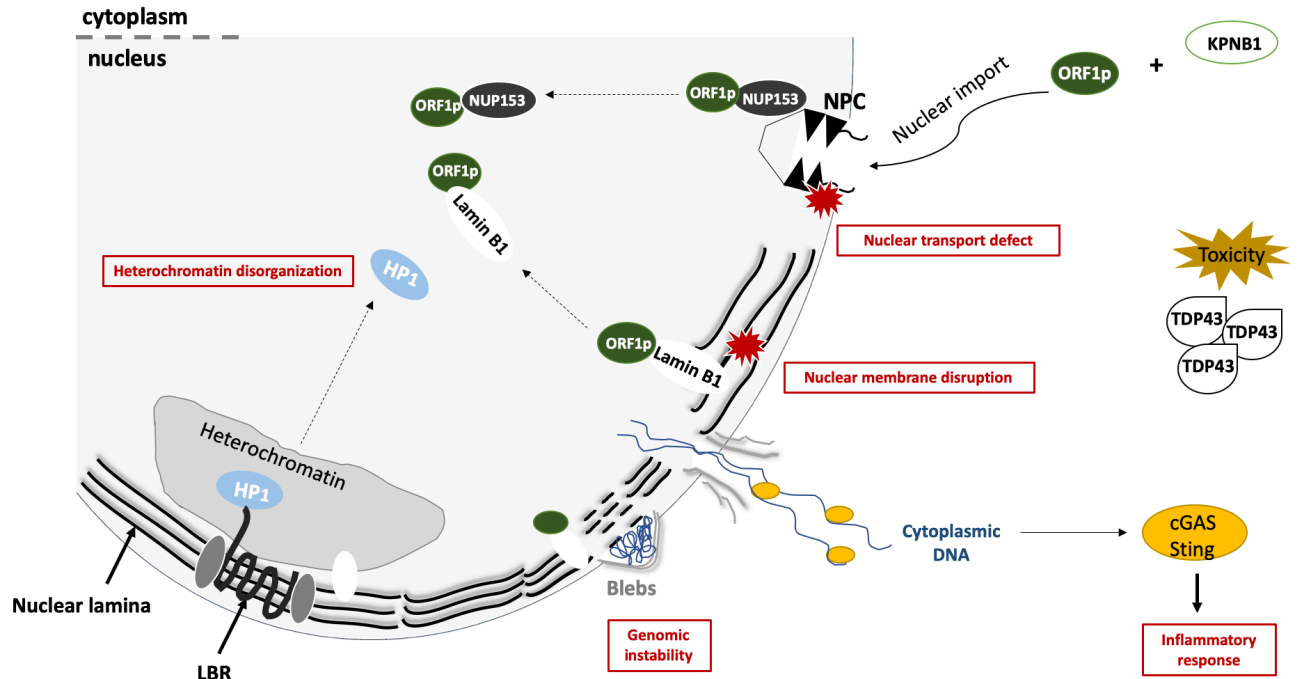
Les conséquences d'une telle activation comprennent : (i) l'altération de l'enveloppe nucléaire, (ii) la perturbation des composants du CPN et (iii) du trafic nucléocytoplasmique, (iv) l'instabilité génomique et (v) l'inflammation. Tous ces phénotypes sont retrouvés dans le vieillissement cellulaire et sont des caractéristiques communes des MN. Il est donc possible qu'avec le vieillissement, la dé-répression des éléments LINE-1 déclenche l'apparition de tout ou partie de ces phénotypes, causés par l'action pathogénique des protéines ORF1p et ORF2p. L'accumulation de ces dégâts est délétère dans la cellule et pourrait conduire ou participer à la neurodégénérescence. Ainsi, l'activation des ET et en particulier les éléments LINE-1, pourrait jouer un rôle causal dans la neurodégénérescence et fournir un lien moléculaire entre le vieillissement et la survenue des MN.

L'enveloppe nucléaire est apparue récemment comme une cible émergente pour les protéines agrégées dans les maladies neurodégénératives. Dans le cadre de nos travaux, nous avons apporté des éléments de preuve signifiant que la protéine ORF1p du LINE-1 pourrait agir via un mécanisme similaire à celui des protéines agrégées (telles que la protéine Tau dans la MA ou le dipeptide C9orf72 dans la SLA) en ciblant des composants de la membrane nucléaire et des protéines du CPN. Nous avons donc mis en lumière un nouveau rôle pathogénique de la protéine ORF1p ciblant des protéines de l'enveloppe nucléaire et du CPN indépendamment de la protéine ORF2p. L'axe pathogénique proposé ici (**Figure 19**), décrit la translocation de la protéine ORF1p dans le noyau en conditions de stress, grâce à son association avec l'importine KPNB1 et, potentiellement d'une manière stress-dépendante,

grâce à l'interaction avec NUP153. Au niveau de la périphérie nucléaire, ORF1p va s'associer aux protéines de la lamina nucléaire telle que la Lamine B1 et va potentiellement les séquestrer et/ou les délocaliser induisant une perturbation générale de la structure de l'enveloppe nucléaire et de ses fonctions associées. La fragilisation de la membrane nucléaire par ORF1p pourrait favoriser davantage son entrée massive dans le noyau, potentiellement de manière passive. Il est important de noter que jusqu'à aujourd'hui, il a été décrit que seule ORF2p peut être à l'origine de l'insatabilité génomique (via son activité endonucléase) et l'inflammation (via son activité RT). A travers l'altération de l'enveloppe nucléaire et au ciblage de ses composants, ORF1p pourrait aussi conduire indirectement à l'inflammation et l'instabilité génomique. De plus, il est possible que d'autres protéines agrégées qui ciblent l'enveloppe nucléaire dans le cadre de certaines MN (telles que Tau et C9orf72, citées plus haut) puissent conduire aux mêmes conséquences indirectes en ciblant la membrane nucléaire. L'altération de la membrane nucléaire était accompagnée de la délocalisation de HP1, de la périphérie vers le nucléoplasme et la perte de H4K20me3, reflétant une déstructuration de l'hétérochromatine, ce qui pourrait être non seulement un autre moyen pour dé-réprimer davantage les éléments LINE-1 mais aussi une source de dérégulation de l'expression des gènes. De même, ORF1p en interagissant avec certaines protéines fonctionnelles du CPN (RANgap1, NUP153, KPNB1), peut causer la perturbation du CPN et du TNC, conduisant ainsi à l'accumulation de certaines protéines sujettes à l'agrégation (telle que TDP-43) dans le cytoplasme source en soit de neurotoxicité. La perturbation du CPN pourrait aussi affecter l'expression des gènes. Toutes ces conséquences délétères font partie des caractéristiques communes des MN et peuvent conduire à la neurodégénérescence. Ce mécanisme pathogénique à travers lequel ORF1p agit sur les composants de la membrane nucléaire et du CPN pourrait être commun à plusieurs MN. Compte tenu de ces données, l'enveloppe nucléaire émerge comme une cible potentielle pour les stratégies thérapeutiques visant à

traiter les MN d'une manière « disease-modifying ». Des approches visant à rétablir l'intégrité de l'enveloppe nucléaire et à prévenir l'accumulation de protéines agrégées dans le cytoplasme et/ou dans le noyau pourraient avoir un impact bénéfique sur la progression de ces maladies. Dans le cadre de cette étude, nous avons démontré que la drogue Remodeline a le potentiel de restaurer la membrane nucléaire, à restructurer l'hétérochromatine et à normaliser des niveaux toxiques de ORF1p. D'autres stratégies thérapeutiques ciblant l'import de ORF1p dans le noyau par des traitements avec des inhibiteurs de l'importine KPNB1 (INI-43, Importazole) pourraient aussi être contre l'action des éléments LINE-1 dans le noyau.

ORF1p pourrait également représenter un biomarqueur intéressant à détecter dans le sang périphérique (méthode non invasive) ou dans le liquide céphalo-rachidien (méthode invasive) pour un diagnostic précoce chez des sujets qui pourraient développer des maladies neurodégénératives.



**Figure 19 : Nouveau rôle pathogénique de ORF1p ciblant la membrane nucléaire.**

Suite à son association avec des protéines du CPN, l'importine KPNB1 et la nucléoporeine NUP153, ORF1p pourrait accéder au noyau. Une fois dans le noyau, ORF1p pourrait altérer la membrane nucléaire en se liant et en déstabilisant et/ou en séquestrant des protéines de la lamina nucléaire (Lamine B1). La détérioration de la membrane nucléaire présentant des invaginations et parfois des ruptures pourraient être à l'origine d'une instabilité génomique, une inflammation et potentiellement une dérégulation de l'expression des gènes. ORF1p, en se liant aux protéines du CPN (KPNB1, Nup153), pourrait affecter la fonction de ces protéines et induire une perturbation du TNC. La perturbation du TNC se manifeste par l'accumulation de certaines protéines du CPN dans le cytoplasme ainsi que d'autres protéines dont la fonction physiologique est strictement liée à leur localisation nucléaire ou cytoplasmique.

## REFERENCES

1. Abel, T., Zukin, R.S., 2008. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Current Opinion in Pharmacology, Neurosciences* 8, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2007.12.002>
2. Abou-Sleiman, P.M., Muqit, M.M.K., Wood, N.W., 2006. Expanding insights of mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 7, 207–219. <https://doi.org/10.1038/nrn1868>
3. Ahmadi, A., De Toma, I., Vilor-Tejedor, N., Eftekhariyan Ghamsari, M.R., Sadeghi, I., 2020. Transposable elements in brain health and disease. *Ageing Research Reviews* 64, 101153. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101153>
4. Aizawa, H., Yamashita, T., Kato, H., Kimura, T., Kwak, S., 2019. Impaired Nucleoporins Are Present in Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Motor Neurons that Exhibit Mislocalization of the 43-kDa TAR DNA-Binding Protein. *J Clin Neurol* 15, 62. <https://doi.org/10.3988/jcn.2019.15.1.62>
5. Alisch, R.S., Garcia-Perez, J.L., Muotri, A.R., Gage, F.H., Moran, J.V., 2006. Unconventional translation of mammalian LINE-1 retrotransposons. *Genes Dev.* 20, 210–224. <https://doi.org/10.1101/gad.1380406>
6. Aneichyk, T., Hendriks, W.T., Yadav, R., Shin, D., Gao, D., et al., 2018. Dissecting the Causal Mechanism of X-Linked Dystonia-Parkinsonism by Integrating Genome and Transcriptome Assembly. *Cell* 172, 897-909.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.011>
7. Aravin, A.A., Sachidanandam, R., Bourc'his, D., Schaefer, C., Pezic, D., Toth, K.F., Bestor, T., Hannon, G.J., 2008. A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice. *Mol Cell* 31, 785–799. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.09.003>
8. Armstrong, R.A., 2009. The molecular biology of senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Folia Neuropathologica*.
9. Baeken, M.W., Moosmann, B., Hajieva, P., 2020. Retrotransposon activation by distressed mitochondria in neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 525, 570–575. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.106>
10. Bai, R., Guo, J., Ye, X.-Y., Xie, Y., Xie, T., 2022. Oxidative stress: The core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews* 77,



101619. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101619>

11. Baillie, J.K., Barnett, M.W., Upton, K.R., Gerhardt, D.J., Richmond, T.A., De Sapio, F., Brennan, P.M., Rizzu, P., Smith, S., Fell, M., Talbot, R.T., Gustincich, S., Freeman, T.C., Mattick, J.S., Hume, D.A., Heutink, P., Carninci, P., Jeddeloh, J.A., Faulkner, G.J., 2011. Somatic retrotransposition alters the genetic landscape of the human brain. *Nature* 479, 534–537. <https://doi.org/10.1038/nature10531>
12. Brion, J. P., Anderton, B. H., Authelet, M., Dayanandan, R., Leroy, K., Lovestone, S., ... & Tremp, G. (2001, February). Neurofibrillary tangles and tau phosphorylation. In *Biochemical Society Symposia* (Vol. 67, pp. 81-88). Portland Press Limited.
13. Balestrieri, E., Arpino, C., Matteucci, C., Sorrentino, R., Pica, F., Alessandrelli, R., Coniglio, A., Curatolo, P., Rezza, G., Macciardi, F., Garaci, E., Gaudi, S., Sinibaldi-Vallebona, P., 2012. HERVs Expression in Autism Spectrum Disorders. *PLoS ONE* 7, e48831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048831>
14. Bañez-Coronel, M., Ayhan, F., Tarabochia, A.D., Zu, T., Perez, B.A., Tusi, S.K., Pletnikova, O., Borchelt, D.R., Ross, C.A., Margolis, R.L., Yachnis, A.T., Troncoso, J.C., Ranum, L.P.W., 2015. RAN Translation in Huntington Disease. *Neuron* 88, 667–677. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.038>
15. Banuelos-Sanchez, G., Sanchez, L., Benitez-Guijarro, M., Sanchez-Carnerero, V., Salvador-Palomeque, C., Tristan-Ramos, P., Benkaddour-Boumzaouad, M., Morell, S., Garcia-Puche, J.L., Heras, S.R., Franco-Montalban, F., Tamayo, J.A., Garcia-Perez, J.L., 2019. Synthesis and Characterization of Specific Reverse Transcriptase Inhibitors for Mammalian LINE-1 Retrotransposons. *Cell Chemical Biology* 26, 1095-1109.e14. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2019.04.010>
16. Basame, S., Wai-lun Li, P., Howard, G., Branciforte, D., Keller, D., Martin, S.L., 2006. Spatial Assembly and RNA Binding Stoichiometry of a LINE-1 Protein Essential for Retrotransposition. *Journal of Molecular Biology* 357, 351–357. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.12.063>
17. Beck, C.R., Garcia-Perez, J.L., Badge, R.M., Moran, J.V., 2011. LINE-1 Elements in Structural Variation and Disease. *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.* 12, 187–215. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-082509-141802>
18. Belancio, V.P., Hedges, D.J., Deininger, P., 2006. LINE-1 RNA splicing and influences on mammalian gene expression. *Nucleic Acids Research* 34, 1512–1521. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl027>
19. Belgnaoui, S.M., Gosden, R.G., Semmes, O.J., Haoudi, A., 2006. Human LINE-1

- retrotransposon induces DNA damage and apoptosis in cancer cells. *Cancer Cell International* 6, 13. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-6-13>
20. Berson, A., Nativio, R., Berger, S.L., Bonini, N.M., 2018. Epigenetic Regulation in Neurodegenerative Diseases. *Trends in Neurosciences* 41, 587–598. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.05.005>
  21. Billingsley, K.J., Lätttekivi, F., Planken, A., Reimann, E., Kurvits, L., Kadastik-Eerme, L., Kasterpalu, K.M., Bubb, V.J., Quinn, J.P., Kõks, S., Taba, P., 2019. Analysis of repetitive element expression in the blood and skin of patients with Parkinson’s disease identifies differential expression of satellite elements. *Sci Rep* 9, 4369. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40869-z>
  22. Binder, L.I., Frankfurter, A., Rebhun, L.I., 1985. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *The Journal of cell biology* 101, 1371–1378. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.4.1371>
  23. Bitetto, G., Di Fonzo, A., 2020. Nucleo–cytoplasmic transport defects and protein aggregates in neurodegeneration. *Transl Neurodegener* 9, 25. <https://doi.org/10.1186/s40035-020-00205-2>
  24. Black, J.C., Van Rechem, C., Whetstine, J.R., 2012. Histone Lysine Methylation Dynamics: Establishment, Regulation, and Biological Impact. *Molecular Cell* 48, 491–507. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.11.006>
  25. Blaudin de Thé, F., Rekaik, H., Peze-Heidsieck, E., Massiani-Beaudoin, O., Joshi, R.L., Fuchs, J., Prochiantz, A., 2018. Engrailed homeoprotein blocks degeneration in adult dopaminergic neurons through LINE-1 repression. *EMBO J* 37. <https://doi.org/10.15252/emj.201797374>
  26. Boeke, J.D., Corces, V.G., 1989. Transcription and Reverse Transcription of Retrotransposons. *Annual Review of Microbiology* 43, 403–434. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.43.100189.002155>
  27. Bollati, V., Galimberti, D., Pergoli, L., Dalla Valle, E., Barretta, F., Cortini, F., Scarpini, E., Bertazzi, P.A., Baccarelli, A., 2011. DNA methylation in repetitive elements and Alzheimer disease. *Brain, Behavior, and Immunity* 25, 1078–1083. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.01.017>
  28. Booth, E.A., Spagnol, S.T., Alcoser, T.A., Dahl, K.N., 2015. Nuclear stiffening and chromatin softening with progerin expression leads to an attenuated nuclear response to force. *Soft Matter* 11, 6412–6418. <https://doi.org/10.1039/C5SM00521C>
  29. Bourque, G., Burns, K.H., Gehring, M., Gorbunova, V., Seluanov, A., Hammell, M.,

- Imbeault, M., Izsvák, Z., Levin, H.L., Macfarlan, T.S., Mager, D.L., Feschotte, C., 2018. Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol* 19, 199. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1577-z>
30. Braak, H., Braak, E., 1995. Staging of alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiology of Aging, The Schmitt Symposium: The Cytoskeleton and Alzheimer's Disease* 16, 271–278. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(95\)00021-6](https://doi.org/10.1016/0197-4580(95)00021-6)
  31. Brasnjevic, I., Hof, P.R., Steinbusch, H.W.M., Schmitz, C., 2008. Accumulation of nuclear DNA damage or neuron loss: Molecular basis for a new approach to understanding selective neuronal vulnerability in neurodegenerative diseases. *DNA Repair, DNA Damage Responses and Neurological Disease* 7, 1087–1097. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2008.03.010>
  32. Brouha, B., Schustak, J., Badge, R.M., Lutz-Prigge, S., Farley, A.H., Moran, J.V., Kazazian, H.H., 2003. Hot L1s account for the bulk of retrotransposition in the human population. *PNAS* 100, 5280–5285.
  33. Bruno, M., Mahgoub, M., Macfarlan, T.S., 2019. The Arms Race Between KRAB–Zinc Finger Proteins and Endogenous Retroelements and Its Impact on Mammals. *Annual Review of Genetics* 53, 393–416. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043717>
  34. Buchwalter, A.L., Liang, Y., Hetzer, M.W., 2014. Nup50 is required for cell differentiation and exhibits transcription-dependent dynamics. *MBoC* 25, 2472–2484. <https://doi.org/10.1091/mbc.e14-04-0865>
  35. Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P.R., 2000. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders<sup>11</sup>These authors contributed equally to this work. *Brain Research Reviews* 33, 95–130. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00019-9)
  36. Buendia, B., Courvalin, J.C., Collas, P., 2001. Dynamics of the nuclear envelope at mitosis and during apoptosis. *Cell Mol Life Sci* 58, 1781–1789. <https://doi.org/10.1007/PL00000818>
  37. Bundo, M., Toyoshima, M., Okada, Y., Akamatsu, W., Ueda, J., Nemoto-Miyauchi, T., Sunaga, F., Toritsuka, M., Ikawa, D., Kakita, A., Kato, M., Kasai, K., Kishimoto, T., Nawa, H., Okano, H., Yoshikawa, T., Kato, T., Iwamoto, K., 2014. Increased L1 Retrotransposition in the Neuronal Genome in Schizophrenia. *Neuron* 81, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.053>
  38. Caldwell, A.B., Liu, Q., Schroth, G.P., Galasko, D.R., Yuan, S.H., Wagner, S.L., Subramaniam, S., 2020. Dedifferentiation and neuronal repression define familial

- Alzheimer's disease. *Science Advances* 6, eaba5933. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba5933>
39. Calos, M.P., Miller, J.H., 1980. Transposable elements. *Cell* 20, 579–595. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(80\)90305-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(80)90305-0)
  40. Candia, R.F., Cohen, L.S., Morozova, V., Corbo, C., Alonso, A.D., 2022. Importin-Mediated Pathological Tau Nuclear Translocation Causes Disruption of the Nuclear Lamina, TDP-43 Mislocalization and Cell Death. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 15.
  41. Capelson, M., Liang, Y., Schulte, R., Mair, W., Wagner, U., Hetzer, M.W., 2010. Chromatin-Bound Nuclear Pore Components Regulate Gene Expression in Higher Eukaryotes. *Cell* 140, 372–383. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.12.054>
  42. Casale, A.M., Liguori, F., Ansaloni, F., Cappucci, U., Finaurini, S., Spirito, G., Persichetti, F., Sanges, R., Gustincich, S., Piacentini, L., 2021. Transposable element activation promotes neurodegeneration in a *Drosophila* model of Huntington's disease. *iScience* 25, 103702. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103702>
  43. Castañeda, J., Genzor, P., Bortvin, A., 2011. piRNAs, transposon silencing, and germline genome integrity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 714, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.05.002>
  44. Castro-Diaz, N., Ecco, G., Coluccio, A., Kapopoulou, A., Yazdanpanah, B., Friedli, M., Duc, J., Jang, S.M., Turelli, P., Trono, D., 2014. Evolutionally dynamic L1 regulation in embryonic stem cells. *Genes Dev.* 28, 1397–1409. <https://doi.org/10.1101/gad.241661.114>
  45. Chang, L., Li, M., Shao, S., Li, Chen, Ai, S., Xue, B., Hou, Y., Zhang, Y., Li, R., Fan, X., He, A., Li, Cheng, Sun, Y., 2022. Nuclear peripheral chromatin-lamin B1 interaction is required for global integrity of chromatin architecture and dynamics in human cells. *Protein & Cell* 13, 258–280. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00794-8>
  46. Chen, X., Guo, C., Kong, J., 2012. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res* 7, 376–385. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.05.009>
  47. Chou, C.-C., Zhang, Y., Umoh, M.E., Vaughan, S.W., Lorenzini, I., Liu, F., Sayegh, M., Donlin-Asp, P.G., Chen, Y.H., Duong, D.M., Seyfried, N.T., Powers, M.A., Kukar, T., Hales, C.M., Gearing, M., Cairns, N.J., Boylan, K.B., Dickson, D.W., Rademakers, R., Zhang, Y.-J., Petrucelli, L., Sattler, R., Zarnescu, D.C., Glass, J.D., Rossoll, W., 2018. TDP-43 pathology disrupts nuclear pore complexes and nucleocytoplasmic transport in ALS/FTD. *Nat Neurosci* 21, 228–239. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0047-3>
  48. Christ, F., Thys, W., De Rijck, J., Gijsbers, R., Albanese, A., Arosio, D., Emiliani, S.,

- Rain, J.-C., Benarous, R., Cereseto, A., Debysier, Z., 2008. Transportin-SR2 Imports HIV into the Nucleus. *Current Biology* 18, 1192–1202. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.07.079>
49. Chui, H.C., Tierney, M., Zarow, C., Lewis, A., Sobel, E., Perlmutter, L.S., 1993. Neuropathologic Diagnosis of Alzheimer Disease: Interrater Reliability in the Assessment of Senile Plaques and Neurofibrillary Tangles. *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 7, 48.
50. Clavaguera, F., Bolmont, T., Crowther, R.A., Abramowski, D., Frank, S., Probst, A., Fraser, G., Stalder, A.K., Beibel, M., Staufenbiel, M., Jucker, M., Goedert, M., Tolnay, M., 2009. Transmission and spreading of tauopathy in transgenic mouse brain. *Nat Cell Biol* 11, 909–913. <https://doi.org/10.1038/ncb1901>
51. Cleveland, D.W., Hwo, S.-Y., Kirschner, M.W., 1977. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology* 116, 207–225. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(77\)90213-3](https://doi.org/10.1016/0022-2836(77)90213-3)
52. Corvalan, A.Z., Collier, H.A., 2021. Methylation of histone 4's lysine 20: a critical analysis of the state of the field. *Physiological Genomics* 53, 22–32. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00128.2020>
53. Cosby, R.L., Chang, N.-C., Feschotte, C., 2019. Host–transposon interactions: conflict, cooperation, and cooption. *Genes Dev.* 33, 1098–1116. <https://doi.org/10.1101/gad.327312.119>
54. Coufal, N.G., Garcia-Perez, J.L., Peng, G.E., Marchetto, M.C.N., Muotri, A.R., Mu, Y., Carson, C.T., Macia, A., Moran, J.V., Gage, F.H., 2011. Ataxia telangiectasia mutated (ATM) modulates long interspersed element-1 (L1) retrotransposition in human neural stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 20382–20387. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100273108>
55. Coufal, N.G., Garcia-Perez, J.L., Peng, G.E., Yeo, G.W., Mu, Y., Lovci, M.T., Morell, M., O'Shea, K.S., Moran, J.V., Gage, F.H., 2009. L1 retrotransposition in human neural progenitor cells. *Nature* 460, 1127–1131. <https://doi.org/10.1038/nature08248>
56. Coyne, A.N., Rothstein, J.D., 2022. Nuclear pore complexes - a doorway to neural injury in neurodegeneration. *Nat Rev Neurol* 18, 348–362. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00653-6>
57. Coyne, A.N., Zaepfel, B.L., Hayes, L., Fitchman, B., Salzberg, Y., Luo, E.-C., Bowen, K., Trost, H., Aigner, S., Rigo, F., Yeo, G.W., Harel, A., Svendsen, C.N., Sareen, D.,

- Rothstein, J.D., 2020. G4C2 Repeat RNA Initiates a POM121-Mediated Reduction in Specific Nucleoporins in C9orf72 ALS/FTD. *Neuron* 107, 1124-1140.e11. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.027>
58. Dai, L., LaCava, J., Taylor, M.S., Boeke, J.D., 2014. Expression and detection of LINE-1 ORF-encoded proteins. *Mobile Genetic Elements*. <https://doi.org/10.4161/mge.29319>
  59. D'Angelo, M.A., Raices, M., Panowski, S.H., Hetzer, M.W., 2009. Age-Dependent Deterioration of Nuclear Pore Complexes Causes a Loss of Nuclear Integrity in Postmitotic Cells. *Cell* 136, 284–295. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.11.037>
  60. Danielson, S.R., Andersen, J.K., 2008. Oxidative and nitrative protein modifications in Parkinson's disease. *Free Radical Biology and Medicine* 44, 1787–1794. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.005>
  61. De Cecco, M., Criscione, S.W., Peckham, E.J., Hillenmeyer, S., Hamm, E.A., Manivannan, J., Peterson, A.L., Kreiling, J.A., Neretti, N., Sedivy, J.M., 2013. Genomes of replicatively senescent cells undergo global epigenetic changes leading to gene silencing and activation of transposable elements. *Aging Cell* 12, 247–256. <https://doi.org/10.1111/accel.12047>
  62. de Calignon, A., Polydoro, M., Suárez-Calvet, M., William, C., Adamowicz, D.H., Kopeikina, K.J., Pitstick, R., Sahara, N., Ashe, K.H., Carlson, G.A., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2012. Propagation of Tau Pathology in a Model of Early Alzheimer's Disease. *Neuron* 73, 685–697. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.033>
  63. Deniz, Ö., Frost, J.M., Branco, M.R., 2019. Regulation of transposable elements by DNA modifications. *Nat Rev Genet* 20, 417–431. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0106-6>
  64. Denli, A.M., Narvaiza, I., Kerman, B.E., Pena, M., Benner, C., Marchetto, M.C.N., Diedrich, J.K., Aslanian, A., Ma, J., Moresco, J.J., Moore, L., Hunter, T., Saghatelian, A., Gage, F.H., 2015. Primate-Specific ORF0 Contributes to Retrotransposon-Mediated Diversity. *Cell* 163, 583–593. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.025>
  65. Dewannieux, M., Esnault, C., Heidmann, T., 2003. LINE-mediated retrotransposition of marked Alu sequences. *Nat Genet* 35, 41–48. <https://doi.org/10.1038/ng1223>
  66. Dickson, D.W., Fujishiro, H., Orr, C., DelleDonne, A., Josephs, K.A., Frigerio, R., Burnett, M., Parisi, J.E., Klos, K.J., Ahlskog, J.E., 2009. Neuropathology of non-motor features of Parkinson disease. *Parkinsonism & Related Disorders, Proceedings of WFN XVIII World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders* 15, S1–S5.

[https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(09\)70769-2](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(09)70769-2)

67. Dorszewska, J., Kowalska, M., Prendecki, M., Piekut, T., Kozłowska, J., Kozubski, W., 2020. Oxidative stress factors in Parkinson's disease. *Neural Regen Res* 16, 1383–1391. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.300980>
68. Doucet, A.J., Basyuk, E., Gilbert, N., 2016. Cellular Localization of Engineered Human LINE-1 RNA and Proteins. *Methods Mol Biol* 1400, 281–297. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3372-3\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3372-3_18)
69. Douville, R., Liu, J., Rothstein, J., Nath, A., 2011. Identification of active loci of a human endogenous retrovirus in neurons of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 69, 141–151. <https://doi.org/10.1002/ana.22149>
70. Doyle, G.A., Crist, R.C., Karatas, E.T., Hammond, M.J., Ewing, A.D., Ferraro, T.N., Hahn, C.-G., Berrettini, W.H., 2017. Analysis of LINE-1 Elements in DNA from Postmortem Brains of Individuals with Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol.* 42, 2602–2611. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.115>
71. Drachman, D.A., 2006. Aging of the brain, entropy, and Alzheimer disease. *Neurology* 67, 1340–1352. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000240127.89601.83>
72. Driver, J.A., Logroscino, G., Gaziano, J.M., Kurth, T., 2009. Incidence and remaining lifetime risk of Parkinson disease in advanced age. *Neurology* 72, 432–438. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000341769.50075.bb>
73. Dujardin, S., Hyman, B.T., 2019. Tau Prion-Like Propagation: State of the Art and Current Challenges, in: Takashima, A., Wolozin, B., Buee, L. (Eds.), *Tau Biology, Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer, Singapore, pp. 305–325. [https://doi.org/10.1007/978-981-32-9358-8\\_23](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9358-8_23)
74. Eftekharzadeh, B., Daigle, J.G., Kapinos, L.E., Coyne, A., Schiantarelli, J., Carlomagno, Y., Cook, C., Miller, S.J., Dujardin, S., Amaral, A.S., Grima, J.C., Bennett, R.E., Tepper, K., DeTure, M., Vanderburg, C.R., Corjuc, B.T., DeVos, S.L., Gonzalez, J.A., Chew, J., Vidensky, S., Gage, F.H., Mertens, J., Troncoso, J., Mandelkow, E., Salvatella, X., Lim, R.Y.H., Petrucelli, L., Wegmann, S., Rothstein, J.D., Hyman, B.T., 2018. Tau Protein Disrupts Nucleocytoplasmic Transport in Alzheimer's Disease. *Neuron* 99, 925-940.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.039>
75. Eitan, E., Hutchison, E.R., Mattson, M.P., 2014. Telomere shortening in neurological disorders: an abundance of unanswered questions. *Trends in Neurosciences* 37, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.02.010>
76. Ellenberg, J., 2013. Dynamics of Nuclear Envelope Proteins During the Cell Cycle in

- Mammalian Cells, in: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Landes Bioscience.
77. Emerit, J., Edeas, M., Bricaire, F., 2004. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 58, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2003.11.004>
  78. Ergün, S., Buschmann, C., Heukeshoven, J., Dammann, K., Schnieders, F., Lauke, H., Chalajour, F., Kilic, N., Strätling, W.H., Schumann, G.G., 2004. Cell Type-specific Expression of LINE-1 Open Reading Frames 1 and 2 in Fetal and Adult Human Tissues. *Journal of Biological Chemistry* 279, 27753–27763. <https://doi.org/10.1074/jbc.M312985200>
  79. Erwin, J.A., Paquola, A.C.M., Singer, T., Gallina, I., Novotny, M., Quayle, C., Bedrosian, T.A., Alves, F.I.A., Butcher, C.R., Herdy, J.R., Sarkar, A., Lasken, R.S., Muotri, A.R., Gage, F.H., 2016. L1-associated genomic regions are deleted in somatic cells of the healthy human brain. *Nat Neurosci* 19, 1583–1591. <https://doi.org/10.1038/nn.4388>
  80. Esnault, C., Maestre, J., Heidmann, T., 2000. Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nat Genet* 24, 363–367. <https://doi.org/10.1038/74184>
  81. Evrony, G.D., Cai, X., Lee, E., Hills, L.B., Elhosary, P.C., Lehmann, H.S., Parker, J.J., Atabay, K.D., Gilmore, E.C., Poduri, A., Park, P.J., Walsh, C.A., 2012. Single-Neuron Sequencing Analysis of L1 Retrotransposition and Somatic Mutation in the Human Brain. *Cell* 151, 483–496. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.09.035>
  82. Fallini, C., Khalil, B., Smith, C.L., Rossoll, W., 2020. Traffic jam at the nuclear pore: All roads lead to nucleocytoplasmic transport defects in ALS/FTD. *Neurobiology of Disease* 140, 104835. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104835>
  83. Faulkner, G.J., Kimura, Y., Daub, C.O., Wani, S., Plessy, C., Irvine, K.M., Schroder, K., Cloonan, N., Steptoe, A.L., Lassmann, T., Waki, K., Hornig, N., Arakawa, T., Takahashi, H., Kawai, J., Forrest, A.R.R., Suzuki, H., Hayashizaki, Y., Hume, D.A., Orlando, V., Grimmond, S.M., Carninci, P., 2009. The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells. *Nat Genet* 41, 563–571. <https://doi.org/10.1038/ng.368>
  84. Fedoroff, N.V., 2012. Transposable Elements, Epigenetics, and Genome Evolution. *Science* 338, 758–767. <https://doi.org/10.1126/science.338.6108.758>
  85. Feng, Q., Moran, J.V., Kazazian, H.H., Boeke, J.D., 1996. Human L1 Retrotransposon Encodes a Conserved Endonuclease Required for Retrotransposition. *Cell* 87, 905–916. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81997-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81997-2)
  86. Ferreira, B.I., Cautain, B., Grenho, I., Link, W., 2020. Small Molecule Inhibitors of



CRM1. *Frontiers in Pharmacology* 11.

87. Fifková, E., Tonks, M., Cullen-Dockstader, K., 1987. Changes in the nuclear pore complexes of the dentate granule cells in aged rats. *Experimental Neurology* 95, 755–762. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(87\)90314-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(87)90314-1)
88. Finnegan, D.J., 1989. Eukaryotic transposable elements and genome evolution. *Trends in Genetics* 5, 103–107. [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(89\)90039-5](https://doi.org/10.1016/0168-9525(89)90039-5)
89. Fischer, R., Maier, O., 2015. Interrelation of Oxidative Stress and Inflammation in Neurodegenerative Disease: Role of TNF. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015, e610813. <https://doi.org/10.1155/2015/610813>
90. Freeman, B.T., Sokolowski, M., Roy-Engel, A.M., Smither, M.E., Belancio, V.P., 2019. Identification of charged amino acids required for nuclear localization of human L1 ORF1 protein. *Mobile DNA* 10, 20. <https://doi.org/10.1186/s13100-019-0159-2>
91. Frost, B., 2016. Alzheimer's disease: An acquired neurodegenerative laminopathy. *Nucleus* 7, 275–283. <https://doi.org/10.1080/19491034.2016.1183859>
92. Frost, B., Hemberg, M., Lewis, J., Feany, M.B., 2014. Tau promotes neurodegeneration through global chromatin relaxation. *Nat Neurosci* 17, 357–366. <https://doi.org/10.1038/nn.3639>
93. Fu, H., Hardy, J., Duff, K.E., 2018. Selective vulnerability in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci* 21, 1350–1358. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0221-2>
94. Fukuda, K., Makino, Y., Kaneko, S., Shimura, C., Okada, Y., Ichiyanagi, K., Shinkai, Y., 2022. Potential role of KRAB-ZFP binding and transcriptional states on DNA methylation of retroelements in human male germ cells. *eLife* 11, e76822. <https://doi.org/10.7554/eLife.76822>
95. Fukuda, S., Varshney, A., Fowler, B.J., Wang, S., Narendran, S., et al., 2021. Cytoplasmic synthesis of endogenous Alu complementary DNA via reverse transcription and implications in age-related macular degeneration. *PNAS* 118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022751118>
96. Gan, L., Cookson, M.R., Petrucelli, L., La Spada, A.R., 2018. Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. *Nat Neurosci* 21, 1300–1309. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0237-7>
97. Gao, G., Jiang, Y.-W., Yang, J., Wu, F.-G., 2017. Mitochondria-targetable carbon quantum dots for differentiating cancerous cells from normal cells. *Nanoscale* 9, 18368–18378. <https://doi.org/10.1039/C7NR06764J>
98. Gasior, S.L., Wakeman, T.P., Xu, B., Deininger, P.L., 2006. The Human LINE-1

- Retrotransposon Creates DNA Double-strand Breaks. *Journal of Molecular Biology* 357, 1383–1393. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.01.089>
99. Gasset-Rosa, F., Chillon-Marinas, C., Goginashvili, A., Atwal, R.S., Artates, J.W., Tabet, R., Wheeler, V.C., Bang, A.G., Cleveland, D.W., Lagier-Tourenne, C., 2017. Polyglutamine-Expanded Huntingtin Exacerbates Age-Related Disruption of Nuclear Integrity and Nucleocytoplasmic Transport. *Neuron* 94, 48-57.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.027>
100. Gems, D., Partridge, L., 2013. Genetics of Longevity in Model Organisms: Debates and Paradigm Shifts. *Annual Review of Physiology* 75, 621–644. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183712>
101. Giampetruzzi, A., Danielson, E.W., Gumina, V., Jeon, M., Boopathy, S., Brown, R.H., Ratti, A., Landers, J.E., Fallini, C., 2019. Modulation of actin polymerization affects nucleocytoplasmic transport in multiple forms of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Commun* 10, 3827. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11837-y>
102. Gibbons, G.S., Lee, V.M.Y., Trojanowski, J.Q., 2019. Mechanisms of Cell-to-Cell Transmission of Pathological Tau: A Review. *JAMA Neurol* 76, 101. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.2505>
103. Giorgi, G., Marcantonio, P., Del Re, B., 2011. LINE-1 retrotransposition in human neuroblastoma cells is affected by oxidative stress. *Cell Tissue Res* 346, 383–391. <https://doi.org/10.1007/s00441-011-1289-0>
104. Gjoneska, E., Pfenning, A.R., Mathys, H., Quon, G., Kundaje, A., Tsai, L.-H., Kellis, M., 2015. Conserved epigenomic signals in mice and humans reveal immune basis of Alzheimer's disease. *Nature* 518, 365–369. <https://doi.org/10.1038/nature14252>
105. Goodier, J.L., 2004. A potential role for the nucleolus in L1 retrotransposition. *Human Molecular Genetics* 13, 1041–1048. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh118>
106. Goodier, J.L., Cheung, L.E., Kazazian, H.H., 2013. Mapping the LINE1 ORF1 protein interactome reveals associated inhibitors of human retrotransposition. *Nucleic Acids Res* 41, 7401–7419. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt512>
107. Goodier, J.L., Kazazian, H.H., 2008. Retrotransposons Revisited: The Restraint and Rehabilitation of Parasites. *Cell* 135, 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.022>
108. Gräff, J., Tsai, L.-H., 2013. Histone acetylation: molecular mnemonics on the chromatin. *Nat Rev Neurosci* 14, 97–111. <https://doi.org/10.1038/nrn3427>
109. Grima, J.C., Daigle, J.G., Arbez, N., Cunningham, K.C., Zhang, K., Ochaba, J., Geater, C., Morozko, E., Stocksdales, J., Glatzer, J.C., Pham, J.T., Ahmed, I., Peng, Q.,

- Wadhwa, H., Pletnikova, O., Troncoso, J.C., Duan, W., Snyder, S.H., Ranum, L.P.W., Thompson, L.M., Lloyd, T.E., Ross, C.A., Rothstein, J.D., 2017. Mutant Huntingtin Disrupts the Nuclear Pore Complex. *Neuron* 94, 93-107.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.023>
110. Guichard, E., Peona, V., Malagoli Tagliazucchi, G., Abitante, L., Jagoda, E., Musella, M., Ricci, M., Rubio-Roldán, A., Sarno, S., Luiselli, D., Pettener, D., Taccioli, C., Pagani, L., Garcia-Perez, J.L., Boattini, A., 2018. Impact of non-LTR retrotransposons in the differentiation and evolution of anatomically modern humans. *Mobile DNA* 9, 28. <https://doi.org/10.1186/s13100-018-0133-4>
111. Guo, C., Jeong, H.-H., Hsieh, Y.-C., Klein, H.-U., Bennett, D.A., De Jager, P.L., Liu, Z., Shulman, J.M., 2018. Tau Activates Transposable Elements in Alzheimer's Disease. *Cell Reports* 23, 2874–2880. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.004>
112. Hachiya, N., Sochocka, M., Brzecka, A., Shimizu, T., Gąsiorowski, K., Szczechowiak, K., Leszek, J., 2021. Nuclear Envelope and Nuclear Pore Complexes in Neurodegenerative Diseases—New Perspectives for Therapeutic Interventions. *Mol Neurobiol* 58, 983–995. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02168-x>
113. Han, J.S., Szak, S.T., Boeke, J.D., 2004. Transcriptional disruption by the L1 retrotransposon and implications for mammalian transcriptomes. *Nature* 429, 268–274. <https://doi.org/10.1038/nature02536>
114. Hancks, D.C., Goodier, J.L., Mandal, P.K., Cheung, L.E., Kazazian, H.H., 2011. Retrotransposition of marked SVA elements by human L1s in cultured cells. *Human Molecular Genetics* 20, 3386–3400. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr245>
115. Hancks, D.C., Kazazian, H.H., 2016. Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mobile DNA* 7, 9. <https://doi.org/10.1186/s13100-016-0065-9>
116. Hancks, D.C., Kazazian, H.H., 2012. Active human retrotransposons: variation and disease. *Current Opinion in Genetics & Development* 22, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.02.006>
117. Harischandra, D.S., Rokad, D., Ghaisas, S., Verma, S., Robertson, A., Jin, H., Anantharam, V., Kanthasamy, A., Kanthasamy, A.G., 2020. Enhanced differentiation of human dopaminergic neuronal cell model for preclinical translational research in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Stem Cells and Their Applications to Human Diseases* 1866, 165533. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.165533>
118. Harris, G., Hogberg, H., Hartung, T., Smirnova, L., 2017. 3D Differentiation of

- LUHMES Cell Line to Study Recovery and Delayed Neurotoxic Effects. *Current Protocols in Toxicology* 73, 11.23.1-11.23.28. <https://doi.org/10.1002/cptx.29>
119. Hebert, L.E., Beckett, L.A., Scherr, P.A., Evans, D.A., 2001. Annual Incidence of Alzheimer Disease in the United States Projected to the Years 2000 Through 2050: Alzheimer Disease and Associated Disorders 15, 169–173. <https://doi.org/10.1097/00002093-200110000-00002>
120. Heppner, F.L., Ransohoff, R.M., Becher, B., 2015. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci* 16, 358–372. <https://doi.org/10.1038/nrn3880>
121. Hetzer, M.W., 2010. The Nuclear Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2, a000539–a000539. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000539>
122. Honda, T., Nishikawa, Y., Nishimura, K., Teng, D., Takemoto, K., Ueda, K., 2020. Effects of activation of the LINE-1 antisense promoter on the growth of cultured cells. *Sci Rep* 10, 22136. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79197-y>
123. Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S.G., Croteau, D.L., Bohr, V.A., 2019. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 15, 565–581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
124. Hutten, S., Dormann, D., 2020. Nucleocytoplasmic transport defects in neurodegeneration — Cause or consequence? *Seminars in Cell & Developmental Biology*, SI: Protein-protein interactions in health and disease 99, 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.020>
125. Hyun, S., 2017. Small RNA Pathways That Protect the Somatic Genome. *IJMS* 18, 912. <https://doi.org/10.3390/ijms18050912>
126. Idica, A., Sevrioukov, E.A., Zisoulis, D.G., Hamdorf, M., Daugaard, I., Kadandale, P., Pedersen, I.M., 2017. MicroRNA miR-128 represses LINE-1 (L1) retrotransposition by down-regulating the nuclear import factor TNPO1. *Journal of Biological Chemistry* 292, 20494–20508. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.807677>
127. Iglesias, N., Paulo, J.A., Tatarakis, A., Wang, X., Edwards, A.L., Bhanu, N.V., Garcia, B.A., Haas, W., Gygi, S.P., Moazed, D., 2020. Native Chromatin Proteomics Reveals a Role for Specific Nucleoporins in Heterochromatin Organization and Maintenance. *Molecular Cell* 77, 51-66.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.10.018>
128. Igolkina, A.A., Zinkevich, A., Karandasheva, K.O., Popov, A.A., Selifanova, M.V., Nikolaeva, D., Tkachev, V., Penzar, D., Nikitin, D.M., Buzdin, A., 2019. H3K4me3, H3K9ac, H3K27ac, H3K27me3 and H3K9me3 Histone Tags Suggest Distinct Regulatory

- Evolution of Open and Condensed Chromatin Landmarks. *Cells* 8, 1034. <https://doi.org/10.3390/cells8091034>
129. Iturria-Medina, Y., Evans, A.C., 2015. On the central role of brain connectivity in neurodegenerative disease progression. *Front. Aging Neurosci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00090>
130. Iwasaki, Y.W., Siomi, M.C., Siomi, H., 2015. PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. *Annu. Rev. Biochem.* 84, 405–433. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034258>
131. Janczura, K.J., Volmar, C.-H., Sartor, G.C., Rao, S.J., Ricciardi, N.R., Lambert, G., Brothers, S.P., Wahlestedt, C., 2018. Inhibition of HDAC3 reverses Alzheimer’s disease-related pathologies in vitro and in the 3xTg-AD mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115, E11148–E11157. <https://doi.org/10.1073/pnas.1805436115>
132. Jansz, N., 2019. DNA methylation dynamics at transposable elements in mammals. *Essays in Biochemistry* 63, 677–689. <https://doi.org/10.1042/EBC20190039>
133. Jia, H., Wang, Y., Morris, C.D., Jacques, V., Gottesfeld, J.M., Rusche, J.R., Thomas, E.A., 2016. The Effects of Pharmacological Inhibition of Histone Deacetylase 3 (HDAC3) in Huntington’s Disease Mice. *PLOS ONE* 11, e0152498. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152498>
134. Jones, R.B., Garrison, K.E., Wong, J.C., Duan, E.H., Nixon, D.F., Ostrowski, M.A., 2008. Nucleoside Analogue Reverse Transcriptase Inhibitors Differentially Inhibit Human LINE-1 Retrotransposition. *PLoS ONE* 3, e1547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001547>
135. Jönsson, M.E., Garza, R., Johansson, P.A., Jakobsson, J., 2020. Transposable Elements: A Common Feature of Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. *Trends in Genetics* S0168952520301025. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.05.004>
136. Junqueira, V.B.C., Barros, S.B.M., Chan, S.S., Rodrigues, L., Giavarotti, L., Abud, R.L., Deucher, G.P., 2004. Aging and oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine, Oxidative Stress in Aging and Disease - Mitochondrial Aging, Neuronal Function and Neurodegeneration, and Oxidative Metabolic Disorders and Diseases* 25, 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2004.02.003>
137. Kaneshiro, J.M., Capitanio, J.S., Hetzer, M.W., 2023. Lamin B1 overexpression alters chromatin organization and gene expression. *Nucleus* 14, 2202548. <https://doi.org/10.1080/19491034.2023.2202548>

138. Kapasi, A., DeCarli, C., Schneider, J.A., 2017. Impact of multiple pathologies on the threshold for clinically overt dementia. *Acta Neuropathol* 134, 171–186. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1717-7>
139. Kazazian, H.H., 2004. Mobile Elements: Drivers of Genome Evolution. *Science* 303, 1626–1632. <https://doi.org/10.1126/science.1089670>
140. Khazina, E., Truffault, V., Büttner, R., Schmidt, S., Coles, M., Weichenrieder, O., 2011. Trimeric structure and flexibility of the L1ORF1 protein in human L1 retrotransposition. *Nat Struct Mol Biol* 18, 1006–1014. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2097>
141. Kim, G.H., Kim, J.E., Rhie, S.J., Yoon, S., 2015. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol* 24, 325–340. <https://doi.org/10.5607/en.2015.24.4.325>
142. Kim, H.J., Taylor, J.P., 2017. Lost in Transportation: Nucleocytoplasmic Transport Defects in ALS and Other Neurodegenerative Diseases. *Neuron* 96, 285–297. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.029>
143. Kim, J., Zhao, B., Huang, A.Y., Miller, M.B., Lodato, M.A., Walsh, C.A., Lee, E.A., 2020. APP gene copy number changes reflect exogenous contamination. *Nature* 584, E20–E28. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2522-3>
144. Kimura, M., Okumura, N., Kose, S., Takao, T., Imamoto, N., 2013. Identification of Cargo Proteins Specific for Importin- $\beta$  with Importin- $\alpha$  Applying a Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture (SILAC)-based in Vitro Transport System \*. *Journal of Biological Chemistry* 288, 24540–24549. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.489286>
145. Kinoshita, Y., Ito, H., Hirano, A., Fujita, K., Wate, R., Nakamura, M., Kaneko, S., Nakano, S., Kusaka, H., 2009. Nuclear Contour Irregularity and Abnormal Transporter Protein Distribution in Anterior Horn Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 68, 1184–1192. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181bc3bec>
146. Klebe, C., Prinz, H., Wittinghofer, A., Goody, R.S., 1995. The Kinetic Mechanism of Ran-Nucleotide Exchange Catalyzed by RCC1. *Biochemistry* 34, 12543–12552. <https://doi.org/10.1021/bi00039a008>
147. Koller, W., Vetere-Overfield, B., Gray, C., Alexander, C., Chin, T., Dolezal, J., Hassanein, R., Tanner, C., 1990. Environmental risk factors in Parkinson's disease. *Neurology* 40, 1218–1218. <https://doi.org/10.1212/WNL.40.8.1218>
148. Kontopoulos, E., Parvin, J.D., Feany, M.B., 2006.  $\alpha$ -synuclein acts in the nucleus to

- inhibit histone acetylation and promote neurotoxicity. *Human Molecular Genetics* 15, 3012–3023. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl243>
149. Kosyna, F., Depping, R., 2018. Controlling the Gatekeeper: Therapeutic Targeting of Nuclear Transport. *Cells* 7, 221. <https://doi.org/10.3390/cells7110221>
150. Kouzarides, T., 2007. Chromatin Modifications and Their Function. *Cell* 128, 693–705. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005>
151. Kovacs, G., Budka, H., 2010. Current concepts of neuropathological diagnostics in practice: Neurodegenerative diseases. *Clinical neuropathology* 29, 271–88. <https://doi.org/10.5414/NPP29271>
152. Kritsilis, M., V. Rizou, S., Koutsoudaki, P., Evangelou, K., Gorgoulis, V., Papadopoulos, D., 2018. Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *IJMS* 19, 2937. <https://doi.org/10.3390/ijms19102937>
153. Krug, L., Chatterjee, N., Borges-Monroy, R., Hearn, S., Liao, W.-W., Morrill, K., Prazak, L., Rozhkov, N., Theodorou, D., Hammell, M., Dubnau, J., 2017. Retrotransposon activation contributes to neurodegeneration in a *Drosophila* TDP-43 model of ALS. *PLoS Genet* 13, e1006635. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006635>
154. Kubo, S., Seleme, M.D.C., Soifer, H.S., Perez, J.L.G., Moran, J.V., Kazazian, H.H., Kasahara, N., 2006. L1 retrotransposition in nondividing and primary human somatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 8036–8041. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601954103>
155. Lanciano, S., Cristofari, G., 2020. Measuring and interpreting transposable element expression. *Nat Rev Genet* 21, 721–736. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0251-y>
156. Lander, E.S., Birren, B., Zody, M.C., Devon, K., Dewar, K., et al., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409, 860–921. <https://doi.org/10.1038/35057062>
157. Larrieu, D., Britton, S., Demir, M., Rodriguez, R., Jackson, S.P., 2014. Chemical Inhibition of NAT10 Corrects Defects of Laminopathic Cells. *Science* 344, 527–532. <https://doi.org/10.1126/science.1252651>
158. Larrieu, D., Viré, E., Robson, S., Breusegem, S.Y., Kouzarides, T., Jackson, S.P., 2018. Inhibition of the acetyltransferase NAT10 normalizes progeric and aging cells by rebalancing the Transportin-1 nuclear import pathway. *Science Signaling* 11, eaar5401. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aar5401>
159. Larsen, P.A., Lutz, M.W., Hunnicutt, K.E., Mihovilovic, M., Saunders, A.M., Yoder, A.D., Roses, A.D., 2017. The Alu neurodegeneration hypothesis: A primate-specific

- mechanism for neuronal transcription noise, mitochondrial dysfunction, and manifestation of neurodegenerative disease. *Alzheimer's & Dementia* 13, 828–838. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.01.017>
160. Lavie, L., Kitova, M., Maldener, E., Meese, E., Mayer, J., 2005. CpG Methylation Directly Regulates Transcriptional Activity of the Human Endogenous Retrovirus Family HERV-K(HML-2). *J Virol* 79, 876–883. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.2.876-883.2005>
161. Levin, H.L., Moran, J.V., 2011. Dynamic interactions between transposable elements and their hosts. *Nat Rev Genet* 12, 615–627. <https://doi.org/10.1038/nrg3030>
162. Li, N., Lagier-Tourenne, C., 2018. Nuclear pores: the gate to neurodegeneration. *Nat Neurosci* 21, 156–158. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0066-0>
163. Li, W., Jin, Y., Prazak, L., Hammell, M., Dubnau, J., 2012a. Transposable elements in TDP-43-mediated neurodegenerative disorders. *PLoS One* 7, e44099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044099>
164. Li, W., Jin, Y., Prazak, L., Hammell, M., Dubnau, J., 2012b. Transposable Elements in TDP-43-Mediated Neurodegenerative Disorders. *PLoS ONE* 7, e44099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044099>
165. Li, W., Lee, M.-H., Henderson, L., Tyagi, R., Bachani, M., Steiner, J., Campanac, E., Hoffman, D.A., von Geldern, G., Johnson, K., Maric, D., Morris, H.D., Lentz, M., Pak, K., Mammen, A., Ostrow, L., Rothstein, J., Nath, A., 2015. Human endogenous retrovirus-K contributes to motor neuron disease. *Sci. Transl. Med.* 7, 307ra153-307ra153. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aac8201>
166. Li, W., Prazak, L., Chatterjee, N., Grüninger, S., Krug, L., Theodorou, D., Dubnau, J., 2013. Activation of transposable elements during aging and neuronal decline in *Drosophila*. *Nat Neurosci* 16, 529–531. <https://doi.org/10.1038/nn.3368>
167. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P., 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. *CIA Volume* 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
168. Lima-Junior, D.S., Krishnamurthy, S.R., Bouladoux, N., Collins, N., Han, S.-J., Chen, E.Y., Constantinides, M.G., Link, V.M., Lim, A.I., Enamorado, M., Cataisson, C., Gil, L., Rao, I., Farley, T.K., Koroleva, G., Attig, J., Yuspa, S.H., Fischbach, M.A., Kassiotis, G., Belkaid, Y., 2021. Endogenous retroviruses promote homeostatic and inflammatory responses to the microbiota. *Cell* 184, 3794-3811.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.020>
169. Liu, E.Y., Russ, J., Cali, C.P., Phan, J.M., Amlie-Wolf, A., Lee, E.B., 2019. Loss of



- Nuclear TDP-43 Is Associated with Decondensation of LINE Retrotransposons. *Cell Reports* 27, 1409-1421.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.003>
170. Liu, S., Du, T., Liu, Z., Shen, Y., Xiu, J., Xu, Q., 2016. Inverse changes in L1 retrotransposons between blood and brain in major depressive disorder. *Sci Rep* 6, 37530. <https://doi.org/10.1038/srep37530>
171. Liu, S., Sawada, T., Lee, S., Yu, W., Silverio, G., Alapatt, P., Millan, I., Shen, A., Saxton, W., Kanao, T., Takahashi, R., Hattori, N., Imai, Y., Lu, B., 2012. Parkinson's Disease-Associated Kinase PINK1 Regulates Miro Protein Level and Axonal Transport of Mitochondria. *PLoS Genet* 8, e1002537. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002537>
172. Liu, Z., Ji, Q., Ren, J., Yan, P., Wu, Z., Wang, S., Sun, L., Wang, Z., Li, J., Sun, G., Liang, C., Sun, R., Jiang, X., Hu, J., Ding, Y., Wang, Q., Bi, S., Wei, G., Cao, G., Zhao, G., Wang, H., Zhou, Q., Belmonte, J.C.I., Qu, J., Zhang, W., Liu, G.-H., 2022. Large-scale chromatin reorganization reactivates placenta-specific genes that drive cellular aging. *Developmental Cell* 57, 1347-1368.e12. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.05.004>
173. López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2013. The Hallmarks of Aging. *Cell* 153, 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
174. Loureiro, J.R., Oliveira, C.L., Silveira, I., 2016. Unstable repeat expansions in neurodegenerative diseases: nucleocytoplasmic transport emerges on the scene. *Neurobiology of Aging* 39, 174–183. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.12.007>
175. Luger, K., Hansen, J.C., 2005. Nucleosome and chromatin fiber dynamics. *Current Opinion in Structural Biology, Theory and simulation/Macromolecular assemblages* 15, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2005.03.006>
176. Macia, A., Widmann, T.J., Heras, S.R., Ayllon, V., Sanchez, L., Benkaddour-Boumzaouad, M., Muñoz-Lopez, M., Rubio, A., Amador-Cubero, S., Blanco-Jimenez, E., Garcia-Castro, J., Menendez, P., Ng, P., Muotri, A.R., Goodier, J.L., Garcia-Perez, J.L., 2017. Engineered LINE-1 retrotransposition in nondividing human neurons. *Genome Res.* 27, 335–348. <https://doi.org/10.1101/gr.206805.116>
177. Madabhushi, R., Pan, L., Tsai, L.-H., 2014. DNA Damage and Its Links to Neurodegeneration. *Neuron* 83, 266–282. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.06.034>
178. Maker, H.S., Weiss, C., Silides, D.J., Cohen, G., 1981. Coupling of Dopamine Oxidation (Monoamine Oxidase Activity) to Glutathione Oxidation Via the Generation of Hydrogen Peroxide in Rat Brain Homogenates. *J Neurochem* 36, 589–593. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1981.tb01631.x>

179. Manhas, S., Ma, L., Measday, V., 2018. The yeast Ty1 retrotransposon requires components of the nuclear pore complex for transcription and genomic integration. *Nucleic Acids Research* 46, 3552–3578. <https://doi.org/10.1093/nar/gky109>
180. Martin, S.L., 2006. The ORF1 Protein Encoded by LINE-1: Structure and Function During L1 Retrotransposition. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2006, 1–6. <https://doi.org/10.1155/JBB/2006/45621>
181. Martin, S.L., Bushman, F.D., 2001. Nucleic Acid Chaperone Activity of the ORF1 Protein from the Mouse LINE-1 Retrotransposon. *Molecular and Cellular Biology* 21, 467–475. <https://doi.org/10.1128/MCB.21.2.467-475.2001>
182. Martins, F., Sousa, J., Pereira, C.D., da Cruz e Silva, O.A.B., Rebelo, S., 2020. Nuclear envelope dysfunction and its contribution to the aging process. *Aging Cell* 19, e13143. <https://doi.org/10.1111/accel.13143>
183. Mathias, S.L., Scott, A.F., Kazazian, H.H., Boeke, J.D., Gabriel, A., 1991. Reverse Transcriptase Encoded by a Human Transposable Element. *Science* 254, 1808–1810. <https://doi.org/10.1126/science.1722352>
184. Matsui, T., Leung, D., Miyashita, H., Maksakova, I.A., Miyachi, H., Kimura, H., Tachibana, M., Lorincz, M.C., Shinkai, Y., 2010. Proviral silencing in embryonic stem cells requires the histone methyltransferase ESET. *Nature* 464, 927–931. <https://doi.org/10.1038/nature08858>
185. Mattout, A., Dechat, T., Adam, S.A., Goldman, R.D., Gruenbaum, Y., 2006. Nuclear lamins, diseases and aging. *Current Opinion in Cell Biology, Nucleus and gene expression* 18, 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2006.03.007>
186. Maxwell, M., 2023. Single-cell RNA-seq mapping of chicken leukocytes: An investigation into single-cell transcriptomics as an alternative to traditional immunological methods within non-traditional model organisms.
187. Mayer, J., Harz, C., Sanchez, L., Pereira, G.C., Maldener, E., Heras, S.R., Ostrow, L.W., Ravits, J., Batra, R., Meese, E., García-Pérez, J.L., Goodier, J.L., 2018. Transcriptional profiling of HERV-K(HML-2) in amyotrophic lateral sclerosis and potential implications for expression of HML-2 proteins. *Mol Neurodegener* 13, 39. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0275-3>
188. McClintock, B., 1950. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 36, 344–355. <https://doi.org/10.1073/pnas.36.6.344>
189. McCord, R.P., Nazario-Toole, A., Zhang, H., Chines, P.S., Zhan, Y., Erdos, M.R., Collins, F.S., Dekker, J., Cao, K., 2013. Correlated alterations in genome organization,

- histone methylation, and DNA-lamin A/C interactions in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Genome Res* 23, 260–269. <https://doi.org/10.1101/gr.138032.112>
190. McGeer, P.L., McGeer, E.G., 2004. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders, Proceeding of the 8th International Symposium on the Treatment of Parkinson's Disease* 10, S3–S7. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2004.01.005>
191. Mertens, J., Paquola, A.C.M., Ku, M., Hatch, E., Böhnke, L., Ladjevardi, S., McGrath, S., Campbell, B., Lee, H., Herdy, J.R., Gonçalves, J.T., Toda, T., Kim, Y., Winkler, J., Yao, J., Hetzer, M.W., Gage, F.H., 2015. Directly Reprogrammed Human Neurons Retain Aging-Associated Transcriptomic Signatures and Reveal Age-Related Nucleocytoplasmic Defects. *Cell Stem Cell* 17, 705–718. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.09.001>
192. Mishra, S., Jha, A.B., Dubey, R.S., 2011. Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings. *Protoplasma* 248, 565–577. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0210-0>
193. Misteli, T., 2007. Beyond the Sequence: Cellular Organization of Genome Function. *Cell* 128, 787–800. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.028>
194. Mita, P., Wudzinska, A., Sun, X., Andrade, J., Nayak, S., Kahler, D.J., Badri, S., LaCava, J., Ueberheide, B., Yun, C.Y., Fenyö, D., Boeke, J.D., 2018. LINE-1 protein localization and functional dynamics during the cell cycle. *eLife* 7, e30058. <https://doi.org/10.7554/eLife.30058>
195. Morais, S., Bastos-Ferreira, R., Sequeiros, J., Alonso, I., 2016. Genomic mechanisms underlying PARK2 large deletions identified in a cohort of patients with PD. *Neurology Genetics* 2. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000073>
196. Morandi, E., Tanasescu, R., Tarlinton, R.E., Constantinescu, C.S., Zhang, W., Tench, C., Gran, B., 2017. The association between human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 12, e0172415. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172415>
197. Moreira, P.I., Nunomura, A., Nakamura, M., Takeda, A., Shenk, J.C., Aliev, G., Smith, M.A., Perry, G., 2008. Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine* 44, 1493–1505. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.01.002>
198. Mostoslavsky, R., Chua, K.F., Lombard, D.B., Pang, W.W., Fischer, M.R., Gellon, L., Liu, P., Mostoslavsky, G., Franco, S., Murphy, M.M., Mills, et al., 2006. Genomic Instability and Aging-like Phenotype in the Absence of Mammalian SIRT6. *Cell* 124, 315–329. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.11.044>

199. Munafò, M., Lawless, V.R., Passera, A., MacMillan, S., Bornelöv, S., Haussmann, I.U., Soller, M., Hannon, G.J., Czech, B., 2021. Channel nuclear pore complex subunits are required for transposon silencing in *Drosophila*. *eLife* 10, e66321. <https://doi.org/10.7554/eLife.66321>
200. Muotri, A.R., Chu, V.T., Marchetto, M.C.N., Deng, W., Moran, J.V., Gage, F.H., 2005. Somatic mosaicism in neuronal precursor cells mediated by L1 retrotransposition. *Nature* 435, 903–910. <https://doi.org/10.1038/nature03663>
201. Muotri, A.R., Marchetto, M.C.N., Coufal, N.G., Oefner, R., Yeo, G., Nakashima, K., Gage, F.H., 2010. L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2. *Nature* 468, 443–446. <https://doi.org/10.1038/nature09544>
202. Nader, G.P. de F., Williard, A., Piel, M., 2021. Nuclear deformations, from signaling to perturbation and damage. *Current Opinion in Cell Biology, Cell Dynamics* 72, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2021.07.008>
203. Nativio, R., Donahue, G., Berson, A., Lan, Y., Amlie-Wolf, A., Tuzer, F., Toledo, J.B., Gosai, S.J., Gregory, B.D., Torres, C., Trojanowski, J.Q., Wang, L.-S., Johnson, F.B., Bonini, N.M., Berger, S.L., 2018. Dysregulation of the epigenetic landscape of normal aging in Alzheimer’s disease. *Nat Neurosci* 21, 497–505. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0101-9>
204. Nelson, P.T., Alafuzoff, I., Bigio, E.H., Bouras, C., Braak, H., et al., 2012. Correlation of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes With Cognitive Status: A Review of the Literature. *J Neuropathol Exp Neurol* 71, 362–381. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31825018f7>
205. Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C.M., McCluskey, L.F., Miller, B.L., Masliah, E., Mackenzie, I.R., Feldman, H., Feiden, W., Kretschmar, H.A., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2006. Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* 314, 130–133. <https://doi.org/10.1126/science.1134108>
206. Ohms, S., Rangasamy, D., 2014. Silencing of LINE-1 retrotransposons contributes to variation in small noncoding RNA expression in human cancer cells. *Oncotarget* 5, 4103–4117.
207. O’Sullivan, R.J., Karlseder, J., 2012. The great unravelling: chromatin as a modulator of the aging process. *Trends in Biochemical Sciences* 37, 466–476. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2012.08.001>

208. Ozata, D.M., Gainetdinov, I., Zoch, A., O'Carroll, D., Zamore, P.D., 2019. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions. *Nat Rev Genet* 20, 89–108. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0073-3>
209. Pacelli, C., Giguère, N., Bourque, M.-J., Lévesque, M., Slack, R.S., Trudeau, L.-É., 2015. Elevated Mitochondrial Bioenergetics and Axonal Arborization Size Are Key Contributors to the Vulnerability of Dopamine Neurons. *Current Biology* 25, 2349–2360. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.050>
210. Paonessa, F., Evans, L.D., Solanki, R., Larrieu, D., Wray, S., Hardy, J., Jackson, S.P., Livesey, F.J., 2019. Microtubules Deform the Nuclear Membrane and Disrupt Nucleocytoplasmic Transport in Tau-Mediated Frontotemporal Dementia. *Cell Reports* 26, 582-593.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.085>
211. Pascual-Garcia, P., Capelson, M., 2019. Nuclear pores in genome architecture and enhancer function. *Current Opinion in Cell Biology, Cell Nucleus* 58, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2019.04.001>
212. Patel, V.P., Chu, C.T., 2011. Nuclear transport, oxidative stress, and neurodegeneration. *Int J Clin Exp Pathol* 4, 215–229.
213. Pauler, F.M., Sloane, M.A., Huang, R., Regha, K., Koerner, M.V., Tamir, I., Sommer, A., Aszodi, A., Jenuwein, T., Barlow, D.P., 2009. H3K27me3 forms BLOCs over silent genes and intergenic regions and specifies a histone banding pattern on a mouse autosomal chromosome. *Genome Res* 19, 221–233. <https://doi.org/10.1101/gr.080861.108>
214. Penzkofer, T., Jäger, M., Figlerowicz, M., Badge, R., Mundlos, S., Robinson, P.N., Zemojtel, T., 2017. L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes. *Nucleic Acids Res* 45, D68–D73. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw925>
215. Peze-Heidsieck, E., Bonnifet, T., Znaidi, R., Ravel-Godreuil, C., Massiani-Beaudoin, O., Joshi, R.L., Fuchs, J., 2022. Retrotransposons as a Source of DNA Damage in Neurodegeneration. *Frontiers in Aging Neuroscience* 13.
216. Pezic, D., Manakov, S.A., Sachidanandam, R., Aravin, A.A., 2014. piRNA pathway targets active LINE1 elements to establish the repressive H3K9me3 mark in germ cells. *Genes Dev* 28, 1410–1428. <https://doi.org/10.1101/gad.240895.114>
217. Pissadaki, E., Bolam, J.P., 2013. The energy cost of action potential propagation in dopamine neurons: clues to susceptibility in Parkinson's disease. *Frontiers in Computational Neuroscience* 7.
218. Pizarro, J.G., Cristofari, G., 2016. Post-Transcriptional Control of LINE-1 Retrotransposition by Cellular Host Factors in Somatic Cells. *Front. Cell Dev. Biol.* 4.

<https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00014>

219. Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C.M., Halliday, G.M., Brundin, P., Volkman, J., Schrag, A.-E., Lang, A.E., 2017. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers* 3, 17013. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>
220. Prudencio, M., Gonzales, P.K., Cook, C.N., Gendron, T.F., Daugherty, L.M., Song, Y., Ebbert, M.T.W., van Blitterswijk, M., Zhang, Y.-J., Jansen-West, K., Baker, M.C., DeTure, M., Rademakers, R., Boylan, K.B., Dickson, D.W., Petrucelli, L., Link, C.D., 2017. Repetitive element transcripts are elevated in the brain of C9orf72 ALS/FTLD patients. *Human Molecular Genetics* 26, 3421–3431. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx233>
221. Rangasamy, D., 2013. Distinctive patterns of epigenetic marks are associated with promoter regions of mouse LINE-1 and LTR retrotransposons. *Mobile DNA* 4, 27. <https://doi.org/10.1186/1759-8753-4-27>
222. Ravel-Godreuil, C., Massiani-Beaudoin, O., Mailly, P., Prochiantz, A., Joshi, R.L., Fuchs, J., 2021. Perturbed DNA methylation by Gadd45b induces chromatin disorganization, DNA strand breaks and dopaminergic neuron death. *iScience* 24, 102756. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102756>
223. Ravel-Godreuil, C., Massiani-Beaudoin, O., Mailly, P., Prochiantz, A., Joshi, R.L., Fuchs, J., 2020. Perturbed DNA methylation by sustained overexpression of Gadd45b induces chromatin disorganization, DNA strand breaks and dopaminergic neuron death in mice (preprint). *Neuroscience*.
224. Reeve, A., Simcox, E., Turnbull, D., 2014. Ageing and Parkinson's disease: Why is advancing age the biggest risk factor? *Ageing Research Reviews* 14, 19–30. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.01.004>
225. Reilly, M.T., Faulkner, G.J., Dubnau, J., Ponomarev, I., Gage, F.H., 2013. The Role of Transposable Elements in Health and Diseases of the Central Nervous System. *Journal of Neuroscience* 33, 17577–17586. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3369-13.2013>
226. Rekaik, H., Blaudin de Thé, F.-X., Prochiantz, A., Fuchs, J., Joshi, R.L., 2015. Dissecting the role of Engrailed in adult dopaminergic neurons - Insights into Parkinson disease pathogenesis. *FEBS Letters* 589, 3786–3794. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.10.002>
227. Ren, W., Fan, H., Grimm, S.A., Kim, J.J., Li, L., Guo, Y., Petell, C.J., Tan, X.-F., Zhang, Z.-M., Coan, J.P., Yin, J., Kim, D.I., Gao, L., Cai, L., Khudaverdyan, N., Çetin, B., Patel, D.J., Wang, Y., Cui, Q., Strahl, B.D., Gozani, O., Miller, K.M., O'Leary, S.E., Wade, P.A., Wang, G.G., Song, J., 2021. DNMT1 reads heterochromatic H4K20me3 to

- reinforce LINE-1 DNA methylation. *Nat Commun* 12, 2490. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22665-4>
228. Richards, E.J., Elgin, S.C.R., 2002. Epigenetic Codes for Heterochromatin Formation and Silencing. *Cell* 108, 489–500. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00644-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00644-X)
229. Richardson, S.R., Doucet, A.J., Kopera, H.C., Moldovan, J.B., Garcia-Perez, J.L., Moran, J.V., 2015. The Influence of LINE-1 and SINE Retrotransposons on Mammalian Genomes, in: Craig, N.L., Chandler, M., Gellert, M., Lambowitz, A.M., Rice, P.A., Sandmeyer, S.B. (Eds.), *Mobile DNA III*. ASM Press, Washington, DC, USA, pp. 1165–1208. <https://doi.org/10.1128/9781555819217.ch51>
230. Rocca, W.A., Hofman, A., Brayne, C., Breteler, M.M.B., Clarke, M., Copeland, J.R.M., Dartigues, J.-F., Engedal, K., Hagnell, O., Heeren, T.J., Jonker, C., Lindesay, J., Lobo, A., Mann, A.H., Mölsä, P.K., Morgan, K., O'Connor, D.W., Droux, A.D.S., Sulkava, R., Kay, D.W.K., Amaducci, L., 1991. Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: A collaborative study of 1980-1990 prevalence findings: Prevalence of Alzheimer's Disease in Europe. *Ann Neurol* 30, 381–390. <https://doi.org/10.1002/ana.410300310>
231. Romano, A.D., Serviddio, G., de Matthaëis, A., Bellanti, F., Vendemiale, G., 2010. Oxidative stress and aging. *J Nephrol* 23 Suppl 15, S29-36.
232. Rosser, J.M., An, W., 2012. L1 expression and regulation in humans and rodents. *Front Biosci (Elite Ed)* 4, 2203–2225.
233. Rout, M.P., Aitchison, J.D., Suprpto, A., Hjertaas, K., Zhao, Y., Chait, B.T., 2000. The Yeast Nuclear Pore Complex: Composition, Architecture, and Transport Mechanism. *Journal of Cell Biology* 148, 635–652. <https://doi.org/10.1083/jcb.148.4.635>
234. Rowe, H.M., Friedli, M., Offner, S., Verp, S., Mesnard, D., Marquis, J., Aktas, T., Trono, D., 2013. *De novo* DNA methylation of endogenous retroviruses is shaped by KRAB-ZFPs/KAP1 and ESET. *Development* 140, 519–529. <https://doi.org/10.1242/dev.087585>
235. Russ, E., Iordanskiy, S., 2023. Endogenous Retroviruses as Modulators of Innate Immunity. *Pathogens* 12, 162. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020162>
236. Ryan, B.J., Hoek, S., Fon, E.A., Wade-Martins, R., 2015. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's: from familial to sporadic disease. *Trends in Biochemical Sciences* 40, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.02.003>
237. Sanchez-Luque, F.J., Kempen, M.-J.H.C., Gerdes, P., Vargas-Landin, D.B., Richardson, S.R., Troskie, R.-L., Jesuadian, J.S., Cheetham, S.W., Carreira, P.E.,

- Salvador-Palomeque, C., García-Cañadas, M., Muñoz-Lopez, M., Sanchez, L., Lundberg, M., Macia, A., Heras, S.R., Brennan, P.M., Lister, R., Garcia-Perez, J.L., Ewing, A.D., Faulkner, G.J., 2019. LINE-1 Evasion of Epigenetic Repression in Humans. *Molecular Cell* 75, 590-604.e12. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.05.024>
238. Scaffidi, P., Misteli, T., 2006. Lamin A-Dependent Nuclear Defects in Human Aging. *Science* 312, 1059–1063. <https://doi.org/10.1126/science.1127168>
239. Schapira, A.H.V., Cooper, J.M., Dexter, D., Clark, J.B., Jenner, P., Marsden, C.D., 1990. Mitochondrial Complex I Deficiency in Parkinson's Disease. *Journal of Neurochemistry* 54, 823–827. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1990.tb02325.x>
240. Schooley, A., Vollmer, B., Antonin, W., 2012. Building a nuclear envelope at the end of mitosis: coordinating membrane reorganization, nuclear pore complex assembly, and chromatin de-condensation. *Chromosoma* 121, 539–554. <https://doi.org/10.1007/s00412-012-0388-3>
241. Schotta, G., Lachner, M., Sarma, K., Ebert, A., Sengupta, R., Reuter, G., Reinberg, D., Jenuwein, T., 2004. A silencing pathway to induce H3-K9 and H4-K20 trimethylation at constitutive heterochromatin. *Genes Dev.* 18, 1251–1262. <https://doi.org/10.1101/gad.300704>
242. Sheffield, L.G., Miskiewicz, H.B., Tannenbaum, L.B., Mirra, S.S., 2006. Nuclear Pore Complex Proteins in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 65, 45–54. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000195939.40410.08>
243. Shibata, Y., Morimoto, R.I., 2014. How the Nucleus Copes with Proteotoxic Stress. *Current Biology* 24, R463–R474. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.033>
244. Shpyleva, S., Melnyk, S., Pavliv, O., Pogribny, I., Jill James, S., 2018. Overexpression of LINE-1 Retrotransposons in Autism Brain. *Mol Neurobiol* 55, 1740–1749. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0421-x>
245. Sil, S., 2022. Condensation of LINE-1 Is Required for Retrotransposition (Ph.D.). New York University, United States -- New York.
246. Simon, M., Van Meter, M., Ablueva, J., Ke, Z., Gonzalez, R.S., Taguchi, T., De Cecco, M., Leonova, K.I., Kogan, V., Helfand, S.L., Neretti, N., Roichman, A., Cohen, H.Y., Meer, M.V., Gladyshev, V.N., Antoch, M.P., Gudkov, A.V., Sedivy, J.M., Seluanov, A., Gorbunova, V., 2019. LINE1 Derepression in Aged Wild-Type and SIRT6-Deficient Mice Drives Inflammation. *Cell Metabolism* 29, 871-885.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.02.014>
247. Sin, O., Nollen, E.A.A., 2015. Regulation of protein homeostasis in neurodegenerative



- diseases: the role of coding and non-coding genes. *Cell. Mol. Life Sci.* 72, 4027–4047. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-1985-0>
248. Siomi, M.C., Sato, K., Pezic, D., Aravin, A.A., 2011. PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defence. *Nat Rev Mol Cell Biol* 12, 246–258. <https://doi.org/10.1038/nrm3089>
249. Slotkin, R.K., Martienssen, R., 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat Rev Genet* 8, 272–285. <https://doi.org/10.1038/nrg2072>
250. Soderholm, J.F., Bird, S.L., Kalab, P., Sampathkumar, Y., Hasegawa, K., Uehara-Bingen, M., Weis, K., Heald, R., 2011. Importazole, a Small Molecule Inhibitor of the Transport Receptor Importin- $\beta$ . *ACS Chem. Biol.* 6, 700–708. <https://doi.org/10.1021/cb2000296>
251. St. Laurent, G., Hammell, N., McCaffrey, T.A., 2010. A LINE-1 component to human aging: Do LINE elements exact a longevity cost for evolutionary advantage? *Mechanisms of Ageing and Development* 131, 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.03.008>
252. Steele, A.J., Al-Chalabi, A., Ferrante, K., Cudkovicz, M.E., Brown, R.H., Garson, J.A., 2005. Detection of serum reverse transcriptase activity in patients with ALS and unaffected blood relatives. *Neurology* 64, 454–458. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000150899.76130.71>
253. Stetson, D.B., Ko, J.S., Heidmann, T., Medzhitov, R., 2008. Trex1 Prevents Cell-Intrinsic Initiation of Autoimmunity. *Cell* 134, 587–598. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.06.032>
254. Stelma, T., Leaner, V.D., 2017. KPNB1-mediated nuclear import is required for motility and inflammatory transcription factor activity in cervical cancer cells. *Oncotarget* 8, 32833–32847. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15834>
255. Strambio-De-Castillia, C., Niepel, M., Rout, M.P., 2010. The nuclear pore complex: bridging nuclear transport and gene regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11, 490–501. <https://doi.org/10.1038/nrm2928>
256. Suarez, N.A., Macia, A., Muotri, A.R., 2018. LINE-1 retrotransposons in healthy and diseased human brain: L1 Activity in the Human Brain. *Devel Neurobio* 78, 434–455. <https://doi.org/10.1002/dneu.22567>
257. Suberbielle, E., Sanchez, P.E., Kravitz, A.V., Wang, X., Ho, K., Eilertson, K., Devidze, N., Kreitzer, A.C., Mucke, L., 2013. Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid- $\beta$ . *Nat Neurosci* 16, 613–621. <https://doi.org/10.1038/nn.3356>

258. Sun, L., Wu, J., Du, F., Chen, X., Chen, Z.J., 2013. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science* 339, 786–791. <https://doi.org/10.1126/science.1232458>
259. Sun, X., Wang, X., Tang, Z., Grivainis, M., Kahler, D., Yun, C., Mita, P., Fenyö, D., Boeke, J.D., 2018. Transcription factor profiling reveals molecular choreography and key regulators of human retrotransposon expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 115, E5526–E5535. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722565115>
260. Suzuki, Y., Craigie, R., 2007. The road to chromatin — nuclear entry of retroviruses. *Nat Rev Microbiol* 5, 187–196. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1579>
261. Tam, O.H., Rozhkov, N.V., Shaw, R., Kim, D., Hubbard, et al., 2019. Postmortem Cortex Samples Identify Distinct Molecular Subtypes of ALS: Retrotransposon Activation, Oxidative Stress, and Activated Glia. *Cell Reports* 29, 1164-1177.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.066>
262. Tan, H., Qurashi, A., Poidevin, M., Nelson, D.L., Li, H., Jin, P., 2012. Retrotransposon activation contributes to fragile X premutation rCGG-mediated neurodegeneration. *Human Molecular Genetics* 21, 57–65. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr437>
263. Tansey, M.G., Wallings, R.L., Houser, M.C., Herrick, M.K., Keating, C.E., Joers, V., 2022. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Immunol* 22, 657–673. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00684-6>
264. Taylor, M.S., LaCava, J., Mita, P., Molloy, K.R., Huang, C.R.L., Li, D., Adney, E.M., Jiang, H., Burns, K.H., Chait, B.T., Rout, M.P., Boeke, J.D., Dai, L., 2013. Affinity Proteomics Reveals Human Host Factors Implicated in Discrete Stages of LINE-1 Retrotransposition. *Cell* 155, 1034–1048. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.021>
265. Thomas, C.A., Paquola, A.C.M., Muotri, A.R., 2012. LINE-1 Retrotransposition in the Nervous System. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 28, 555–573. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101011-155822>
266. Thomas, C.A., Tejwani, L., Trujillo, C.A., Negraes, P.D., Herai, R.H., Mesci, P., Macia, A., Crow, Y.J., Muotri, A.R., 2017. Modeling of TREX1-Dependent Autoimmune Disease using Human Stem Cells Highlights L1 Accumulation as a Source of Neuroinflammation. *Cell stem cell* 21, 319-331.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.07.009>
267. Tong, Z.-B., Kim, H., El Touny, L., Simeonov, A., Gerhold, D., 2022. LUHMES Dopaminergic Neurons Are Uniquely Susceptible to Ferroptosis. *Neurotox Res* 40, 1526–1536. <https://doi.org/10.1007/s12640-022-00538-y>

268. Twyffels, L., Gueydan, C., Kruys, V., 2014. Transportin-1 and Transportin-2: Protein nuclear import and beyond. *FEBS Letters* 588, 1857–1868. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.04.023>
269. Ullah, I., Zhao, L., Hai, Y., Fahim, M., Alwayli, D., Wang, X., Li, H., 2021. Metal elements and pesticides as risk factors for Parkinson's disease - A review. *Toxicology Reports* 8, 607–616. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.03.009>
270. Valle-Casuso, J.C., Di Nunzio, F., Yang, Y., Reszka, N., Lienlaf, M., Arhel, N., Perez, P., Brass, A.L., Diaz-Griffero, F., 2012. TNPO3 Is Required for HIV-1 Replication after Nuclear Import but prior to Integration and Binds the HIV-1 Core. *J Virol* 86, 5931–5936. <https://doi.org/10.1128/JVI.00451-12>
271. Van Bulck, M., Sierra-Magro, A., Alarcon-Gil, J., Perez-Castillo, A., Morales-Garcia, J.A., 2019. Novel Approaches for the Treatment of Alzheimer's and Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 20, 719. <https://doi.org/10.3390/ijms20030719>
272. Van Der Watt, P.J., Chi, A., Stelma, T., Stowell, C., Strydom, E., Carden, S., Angus, L., Hadley, K., Lang, D., Wei, W., Birrer, M.J., Trent, J.O., Leaner, V.D., 2016. Targeting the Nuclear Import Receptor Kpn $\beta$ 1 as an Anticancer Therapeutic. *Molecular Cancer Therapeutics* 15, 560–573. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0052>
273. Van Meter, M., Kashyap, M., Rezazadeh, S., Geneva, A.J., Morello, T.D., Seluanov, A., Gorbunova, V., 2014. SIRT6 represses LINE1 retrotransposons by ribosylating KAP1 but this repression fails with stress and age. *Nat Commun* 5, 5011. <https://doi.org/10.1038/ncomms6011>
274. Vanneste, J., Van Den Bosch, L., 2021. The Role of Nucleocytoplasmic Transport Defects in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 12175. <https://doi.org/10.3390/ijms222212175>
275. Vazquez, B.N., Thackray, J.K., Simonet, N.G., Chahar, S., Kane-Goldsmith, N., Newkirk, S.J., Lee, S., Xing, J., Verzi, M.P., An, W., Vaquero, A., Tischfield, J.A., Serrano, L., 2019. SIRT7 mediates L1 elements transcriptional repression and their association with the nuclear lamina. *Nucleic Acids Research* 47, 7870–7885. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz519>
276. Walter, M., Teissandier, A., Pérez-Palacios, R., Bourc'his, D., 2016. An epigenetic switch ensures transposon repression upon dynamic loss of DNA methylation in embryonic stem cells. *eLife* 5, e11418. <https://doi.org/10.7554/eLife.11418>
277. Walther, T.C., Fornerod, M., Pickersgill, H., Goldberg, M., Allen, T.D., Mattaj, I.W.,

2001. The nucleoporin Nup153 is required for nuclear pore basket formation, nuclear pore complex anchoring and import of a subset of nuclear proteins. *The EMBO Journal* 20, 5703–5714. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.20.5703>
278. Waterston, R.H., Lander, E.S., Sulston, J.E., 2002. On the sequencing of the human genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 3712–3716. <https://doi.org/10.1073/pnas.042692499>
279. Weingarten, M.D., Lockwood, A.H., Hwo, S.Y., Kirschner, M.W., 1975. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 1858–1862. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>
280. Whongsiri, P., Pimratana, C., Wijitsettakul, U., Sanpavat, A., Jindatip, D., Hoffmann, M.J., Goering, W., Schulz, W.A., Boonla, C., 2019. Oxidative stress and LINE-1 reactivation in bladder cancer are epigenetically linked through active chromatin formation. *Free Radical Biology and Medicine* 134, 419–428. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.031>
281. Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J.L., Capy, P., Chalhoub, B., Flavell, A., Leroy, P., Morgante, M., Panaud, O., Paux, E., SanMiguel, P., Schulman, A.H., 2007. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat Rev Genet* 8, 973–982. <https://doi.org/10.1038/nrg2165>
282. Wilson, C.A., Doms, R.W., Lee, V.M.-Y., 1999. Intracellular APP Processing and A $\beta$  Production in Alzheimer Disease: *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 58, 787–794. <https://doi.org/10.1097/00005072-199908000-00001>
283. Wilson, K.L., 2018. Nuclear import pathway key to rescuing dominant progerin phenotypes. *Science Signaling* 11, eaat9448. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aat9448>
284. Woerner, A.C., Frottin, F., Hornburg, D., Feng, L.R., Meissner, F., Patra, M., Tatzelt, J., Mann, M., Winklhofer, K.F., Hartl, F.U., Hipp, M.S., 2016. Cytoplasmic protein aggregates interfere with nucleocytoplasmic transport of protein and RNA. *Science* 351, 173–176. <https://doi.org/10.1126/science.aad2033>
285. Wongpaiboonwattana, W., Tosukhowong, P., Dissayabutra, T., Mutirangura, A., Boonla, C., 2013. Oxidative Stress Induces Hypomethylation of LINE-1 and Hypermethylation of the RUNX3 Promoter in a Bladder Cancer Cell Line. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 14, 3773–3778. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.6.3773>
286. Wyss-Coray, T., 2016. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature* 539, 180–186. <https://doi.org/10.1038/nature20411>

287. Yang, P., Wang, Y., Macfarlan, T.S., 2017. The Role of KRAB-ZFPs in Transposable Element Repression and Mammalian Evolution. *Trends in Genetics* 33, 871–881. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.08.006>
288. Yoder, J.A., Walsh, C.P., Bestor, T.H., 1997. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends in Genetics* 13, 335–340. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(97\)01181-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(97)01181-5)
289. Zecca, L., Stroppolo, A., Gatti, A., Tampellini, D., Toscani, M., Gallorini, M., Giaveri, G., Arosio, P., Santambrogio, P., Fariello, R.G., Karatekin, E., Kleinman, M.H., Turro, N., Hornykiewicz, O., Zucca, F.A., 2004. The role of iron and copper molecules in the neuronal vulnerability of locus coeruleus and substantia nigra during aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101, 9843–9848. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403495101>
290. Zhang, F., Wang, W., Siedlak, S.L., Liu, Y., Liu, J., Jiang, K., Perry, G., Zhu, X., Wang, X., 2015. Miro1 deficiency in amyotrophic lateral sclerosis. *Frontiers in Aging Neuroscience* 7.
291. Zhang, L., Xu, M., Ren, Q., Liu, G., Meng, S., Xiahou, K., Zhang, Y., Jiang, N., Zhou, W., 2020. Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Cells from Alzheimer's Disease Patients Exhibited Different Susceptibility to Oxidative Stress. *Stem Cells and Development* 29, 1444–1456. <https://doi.org/10.1089/scd.2020.0103>
292. Zhang, W., Li, J., Suzuki, K., Qu, J., Wang, P., Zhou, J., Liu, X., Ren, R., Xu, X., Ocampo, A., Yuan, T., Yang, J., Li, Y., Shi, L., Guan, D., Pan, H., Duan, S., Ding, Z., Li, M., Yi, F., Bai, R., Wang, Y., Chen, C., Yang, F., Li, X., Wang, Z., Aizawa, E., Goebel, A., Soligalla, R.D., Reddy, P., Esteban, C.R., Tang, F., Liu, G.-H., Belmonte, J.C.I., 2015. A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging. *Science* 348, 1160–1163. <https://doi.org/10.1126/science.aaa1356>
293. Zhang, X., Yin, M., Zhang, M., 2014. Cell-based assays for Parkinson's disease using differentiated human LUHMES cells. *Acta Pharmacol Sin* 35, 945–956. <https://doi.org/10.1038/aps.2014.36>
294. Zhao, B., Wu, Q., Ye, A.Y., Guo, J., Zheng, X., Yang, X., Yan, L., Liu, Q.-R., Hyde, T.M., Wei, L., Huang, A.Y., 2019. Somatic LINE-1 retrotransposition in cortical neurons and non-brain tissues of Rett patients and healthy individuals. *PLOS Genetics* 15, e1008043. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008043>

## Résumé

Les éléments transposables (ET) ont émergé récemment comme un des moteurs du vieillissement cellulaire et de la neurodégénérescence. En effet, ils sont apparus comme des nouveaux acteurs causaux dans la pathogenèse des maladies neurodégénératives (MN). Cependant, les mécanismes par lesquels les ET contribuent à la pathogenèse des MN restent encore peu connus. Parmi les ET, l'un des rétrotransposons les plus actifs est le LINE-1 (Long Interspersed Nuclear Element-1), qui code pour deux protéines ORF1p et ORF2p. L'action pathogénique de ORF2p est due à ses activités d'endonuclease et transcriptase inverse qui peuvent être sources de dommages à l'ADN, et d'accumulation d'ADN cytosolique conduisant à une inflammation. Néanmoins, aucune fonction pathogénique de ORF1p n'a encore été décrite en dehors de sa fonction de protéine de liaison à l'ARN. Dans cette étude, nous avons développé un modèle neuronal humain de cellules en culture soumises à un stress oxydatif aigu présentant une augmentation de l'expression des éléments LINE-1 afin d'explorer les conséquences délétères de leur activation et les mécanismes par lesquels ils agissent. Nos résultats ont montré qu'en conditions de stress, ORF1p transloque dans le noyau, se localise au niveau de l'enveloppe nucléaire et se lie directement aux composants de la membrane nucléaire notamment des protéines de la lamina nucléaire (Lamin B1), aux composants du complexe de pore nucléaire (NUP153) et aux protéines impliquées dans l'import nucléaire (KPNB1). Le ciblage des composants de l'enveloppe nucléaire par ORF1p en conditions de stress conduit à l'altération de l'enveloppe nucléaire, la perturbation du transport nucléocytoplasmique et la déstructuration de l'hétérochromatine. Tous ces effets délétères font partie des caractéristiques communes des MN et pourraient conduire à la neurodégénérescence. Le traitement avec la drogue « Remodelin » a permis de restaurer non seulement l'intégrité de la membrane nucléaire, la structuration de l'hétérochromatine, mais aussi les niveaux toxiques de ORF1p dans le noyau. Cette étude a révélé un nouveau rôle pathogénique de ORF1p agissant sur les composants de la membrane nucléaire et ceux du complexe de pore nucléaire. Ce mécanisme pathogénique pourrait être commun à plusieurs MN. Ceci renforce l'idée que les LINE-1 pourraient représenter une nouvelle cible thérapeutique pour la neuroprotection.

Mots clés : Rétrotransposons ; LINE-1 ; ORF1p ; enveloppe nucléaire ; complexe de pores nucléaires ; transport nucléocytoplasmique ; neurodégénérescence.

---

## Abstract

The activation of transposable elements (TEs) has recently emerged as one of the drivers of cellular aging and neurodegeneration. Indeed, they have appeared as new causal actors in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. However, the mechanisms through TEs could contribute to the pathogenesis of these diseases remains poorly understood. Among TEs, one of the most active retrotransposons is LINE-1 (Long Interspersed Nuclear Element-1), which encodes two proteins, ORF1p and ORF2p. The pathogenic action of ORF2p is associated with its endonuclease and reverse transcriptase activities which can be sources of DNA damage, along with the accumulation of cytosolic DNA inducing innate immune activation and inflammation. However, no pathogenic function of ORF1p has been described apart from its RNA-binding protein function. In this study, we developed a human neuronal model of cells in culture subjected to acute oxidative stress, displaying an increase in LINE-1 retrotransposons expression, to examine the deleterious consequences of their activation and the mechanisms through which LINE-1 could act. Our results showed that under stress conditions, ORF1p translocates into the nucleus, localizes at the nuclear envelope, and directly binds to components of the nuclear membrane, including proteins such as nuclear lamina (Lamin B1), nuclear pore complex components (NUP153), and proteins involved in nuclear import (KPNB1). Targeting nuclear envelope components by ORF1p under stress conditions leads to nuclear envelope alteration, disruption of nucleocytoplasmic transport, and heterochromatin disorganization. All these deleterious consequences are common features of neurodegenerative diseases and can lead to neurodegeneration. Treatment with a drug called "Remodelin" not only restored the integrity of the nuclear membrane and the structure of heterochromatin but also normalized the toxic levels of ORF1p in the nucleus. This study revealed a new pathogenic role of ORF1p independent of retrotransposition, whereby ORF1p acts on nuclear membrane and nuclear pore complex components. This pathogenic mechanism could be common to several neurodegenerative diseases. This reinforces the idea that LINE-1 could represent a new therapeutic target for neuroprotection.

Keywords: Retrotransposons ; LINE-1 ; ORF1p ; nuclear envelope ; nuclear pore complex ; nucleocytoplasmic transport ; neurodegeneration.