

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

Introduction

Depuis la préhistoire, le cerveau du genre *Homo* a connu un développement significatif, acquérant des capacités telles que le langage et des fonctions cognitives complexes. Le néocortex, partie la plus récente du cortex cérébral, est associé à des fonctions dites supérieures, notamment le langage, la pensée abstraite et d'autres formes de traitement de l'information [4]. Son expansion au cours de l'évolution humaine est considérée comme une base importante pour nos capacités cognitives accrues [1],[4].

Cependant, bien que plusieurs gènes aient été identifiés comme jouant un rôle dans le développement du cortex cérébral, il reste incertain lesquels sont directement responsables des fonctions cognitives supérieures [2].

Des études récentes ont montré que le développement du cortex chez l'humain implique une accumulation importante d'un type particulier de cellules progénitrices basales (cellules progénitrices neuronales), appelées cellules gliales radiales basales. Ces cellules, situées dans la zone sous-ventriculaire externe [4], jouent un rôle clé en produisant une grande quantité de neurones pendant la corticogenèse fœtale, un processus essentiel du développement cérébral [3].

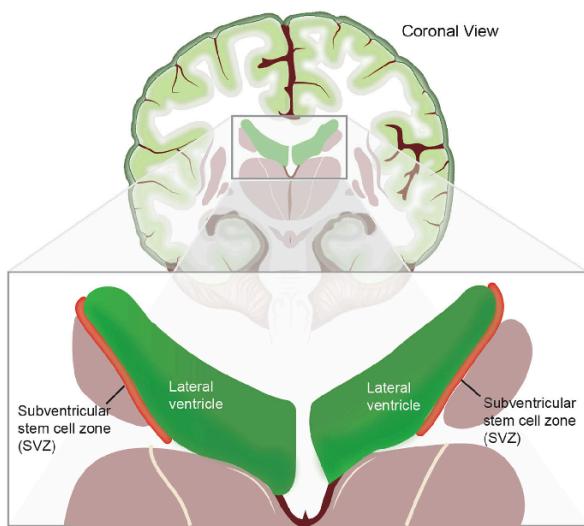


Figure 1: Schéma d'un cerveau humain;
Ventricule latéral en vert, zone sous-ventriculaire en rouge.

Schéma adapté de Smith et al., 2016 [9]

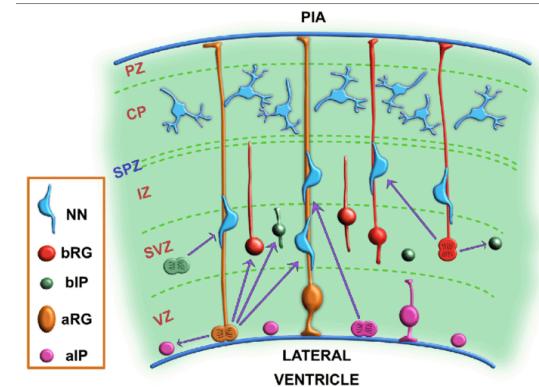


Figure 2 : Schéma des cellules souches/progénitrices dans le cortex cérébral humain en début de gestation;

Ventricule latéral (en bas), PIA – pie-mère, la plus interne des meninges (en haut).

VZ : zone ventriculaire, SVZ : zone sous-ventriculaire, IZ : zone intermédiaire, SPZ : zone sous-plate, CP : plaque corticale, PZ : zone piale.

aRG : glie radiaire apicale, aIP : progéniteur intermédiaire apical, bRG : glie radiaire basale, bIP : progéniteur intermédiaire basal, NN : neurone nouveau-né.

Schéma adapté de Vinci et al., 2016 [8]

Dans ce contexte, des chercheurs ont identifié un gène particulièrement intéressant : ARHGAP11B, une version humaine spécifique d'un gène ancestral ayant subi une duplication partielle [4]. Des mutations de ARHGAP11B ont été identifiées chez des patients atteints de troubles du spectre autistique, ce qui indique son implication possible dans le développement neurologique [5]. Ce gène a été exprimé dans le néocortex embryonnaire de modèles animaux tels que la souris, le furet et le marmouset. Son expression favorise la prolifération des cellules gliales radiales basales, augmente la production neuronale dans les couches supérieures du néocortex et conduit à l'expansion corticale au cours du développement fœtal [2]. L'introduction d'ARHGAP11B dans le cortex fœtal de furet

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

augmente significativement les cellules radiales basales prolifératives, prolonge la période neurogénique et accroît la production de neurones des couches supérieures [7]. Ces modifications sont potentiellement liées à l'émergence de capacités cognitives supérieures. Bien que les mécanismes précis de son impact global restent partiellement compris, ARHGAP11B est désormais reconnu pour favoriser la prolifération des gliales radiales basales en stimulant la glutaminolyse mitochondriale, un processus clé dans l'expansion du néocortex et, potentiellement, dans l'émergence des capacités cognitives humaines [6].

Ce projet vise à étudier cette gène *in silico* afin d'obtenir les informations essentielles pour répondre à la problématique suivante : Comment les variations génétiques du gène ARHGAP11B influencent-elles le développement du cortex cérébral humain, et quelles implications cela pourrait-il avoir sur la compréhension de l'évolution humaine et des troubles neurodéveloppementaux ?

Afin de répondre à cette problématique, ce projet vise à mettre en évidence les informations clés sur ce gène en utilisant des techniques bioinformatiques, notamment sa séquence nucléotidique et protéique, sa structure en introns et exons, ainsi que sa fonction et sa localisation dans l'organisme. Ensuite, la comparaison des séquences d'ARHGAP11B entre différentes espèces de primates par alignement, accompagnée de la construction d'un arbre phylogénétique. Enfin, la conception des amorces pour les essais PCR est effectuée.

Partie I: les caractéristiques du ARHGAP11B

Information générale des séquences

Tableau 1 : Numéro d'accès sur "National Center for Biotechnology Information" (NCBI), taille, organisme, locus et fonction des séquences d'ARHGAP11B, incluant les deux variants de transcription ainsi que la protéine.

	Variant de transcription 1	Variant de transcription 2	Proteine
Numéro d'accès	NM_001039841.3	NR_148423.2	NP_001034930
Taille	1565 bp	2794 bp	267 aa
Organisme	Homo sapiens (humain)	Homo sapiens (humain)	Homo sapiens (humain)
Locus	15q13.2	15q13.2	
Fonction	code pour ARHGAP11B	Non codant	promouvoir la génération de progresseurs basaux

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

Schéma de la région génomique codante pour ARHGAP11B

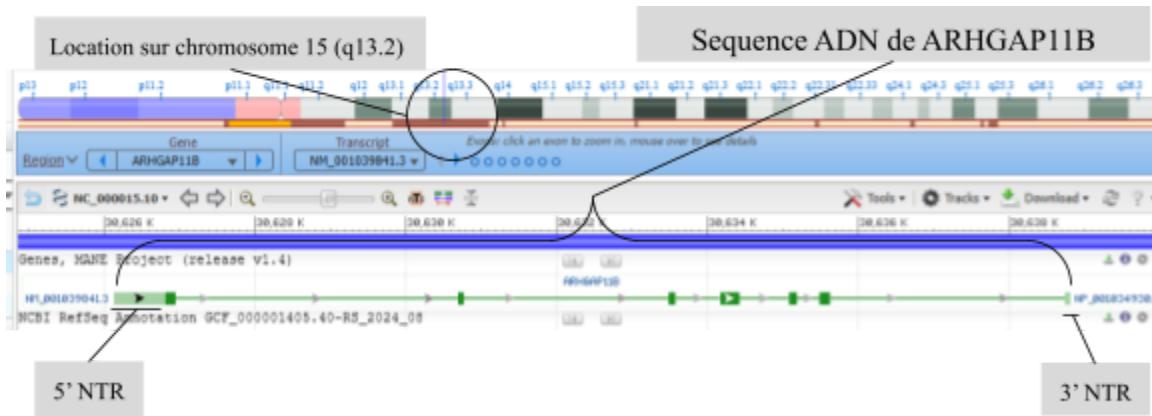


Figure 3 : Données du variant 1 d'ARHGAP11B sur la chromosome 15, affichées à l'aide du Genome Data Viewer à partir de la base de données NCBI. Six introns sont représentés par des lignes et sept exons par des rectangles. Les régions non traduites (NTR) sont en vert clair, tandis que les régions traduites sont en vert foncé.

Cartographie du gène ARHGAP11B (variant 1)

	Taille	Début	Fin
Exon 1	5'NTR(693) + 128	1	822
Exon 2	70	823	893
Exon 3	96	894	990
Exon 4	253	991	1244
Exon 5	108	1245	1353
Exon 6	146	1354	1500
Exon 7	3'NTR(64)	1501	1565

Tableau 2: Position des Exons, introns et régions non traduits(NTR). La numérotation des nucléotides indique que 1 est le premier nucléotide du gène ARHGAP et non le numéro de nucléotide du chromosome (qui est indiqué dans la figure 1).30,626,128 sur le chromosome est la position du premier nucléotide dans ARHGAP11B.

Annotation de l'ARNm d'ARHGAP11B

Figure 4 : Séquence de l'ORF obtenue à l'aide de l'outil Translate tools (Expasy), avec les régions NTR de Homo sapiens Rho GTPase Activating Protein 11B (ARHGAP11B), variant 1 de transcription, ARNm :

Ce cadre de lecture correspond au premier cadre identifié sur l'outil expasy, avec une taille de 267 codons. De plus, la comparaison entre la séquence de l'ORF trouvé et celle de la protéine ARHGAP11B (trouvé sur ncbi) montre que les deux séquences sont identiques, confirmant ainsi le bon choix du cadre de lecture.

5'NTR

```
///gca tcc tgg ctc aca gta gtt atc gac gta tcc gga atg tgg gat cag aag ctc gtg aag ttc
/// M W D Q R L V K I
gca ctg ttg cag cat ctg cgg gac gtc ttc tat ggt att aac gtc aag qgt gtc cgt ggg cag
A L L Q H R A F T G I K V K G V R K D Q
tgc gat cgc aag aca cat gaa aca gca gca aac gaa ats ggg ggt aas aca ttt gaa gta
C D R R H E T A A T E I G G K I F G V
cat ttt aat gca ctc ccc cat tat tat gtc cca gaa tat gca ccc att cca aca att tcc aca
P F M A L P H S A V Y F E Y G H I F S Y L
gtc gat gtc tgc acc tcc ttc gaa gac cat tat cat acc gaa ggg ctt ttt cgg aac tca
V D A C T S L E E H I H T E G L F R K S
gga tat ggt att ogo cta aaa gca cta aac aat aac gtc gat cat ggt gaa ggt tgc ota
G S V I R L K A L K N V D E G E G C L
tat tat gca ccc oct ttt gat att gca ggc ctt ctc aac cmg ttt ttt agg gaa ctc ccc
S S A P P C D I A G L L K Q F F R R E L P
gag ccc att ctc oca gtc gat tgg cat gaa ctt tgg aac gat ccc aac ttc gtc gtc aca
E F I L P A D L H E A L L K A Q Q L G T
gag gaa aac aat aaa gtc aca ctc tgg ctc tcc tgg ctt ctc gtc gat gac cac acc qtt cat
K E K H K A I L L L S C L L A D H T V H
gtc ttc aca tac ttc ttt acc ttt ctc egg att gtc tot ctc aca tcc agt ggg aat aag
V L R Y F F H F L R H V S L R S E H K
atg gat aac aca aat ctt gca gta att ttt gca acc aat ctt ctc aca aca aat gaa gga
M D S S N A V I F A F N L L Q T S E G
cat gaa aac atg tct tot acc gca gaa aac aag gyc gtc tac cag act ttc toc tgg aca
H E K M S S N A E X K G V Y Q T L S W X
aga taa cag cca tgg gta tgg atg gtc tot gtc aca ctc atc tgg aac gat tgg
R Y Q F C M V L M V S V L L E H W K A L
aag aac gtc aat atg aac ctc ctc gtc gtc aat aca gaa gaa aca gtc gtc tag GGG
K E V H M K L L V N I R E R E D N V -
atc ttc ttc gtc gtc aac aca aat ita aac ctc aac aat gac aac ctc aca ttc aca aca
```

5'NTR

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

Subcellular Location¹

UniProt Annotation GO Annotation

Figure 5: localisation subcellulaire de ARHGAP11B d'après uniprot (numéro d'accésion à uniprot : Q3KRB8).

La référence bibliographique [6] est l'article référencé dans la figure ci-contre.

Function	enables GTPase activator activity
Process	involved_in cerebral cortex development
Component	located_in mitochondrial matrix

Tableau 3 : tableau présentant le Gene ontology (GO) obtenu pour le gène ARHGAP11B à l'aide de l'outil NCBI indiquant la fonction (Function), le rôle (Process) et la localisation(Component) du gène dans l'organisme.

Partie II : comparaison des séquences par alignement et l'arbre phylogénétique

Obtention des séquences similaires

Une analyse en utilisant BLAST (Basic Local alignment Search Tool) de la protéine ARHGAP11B, réalisée à l'aide des outils et de la base de données du NCBI, a permis d'identifier deux isoformes d'ARHGAP11B présentes chez l'orang-outan (*Pongo abelii*) et le chimpanzé (*Pan troglodytes*). Les séquences ont ensuite été comparées in silico.



Pongo abeli

Sequence ID: PNJ08331.1



Pan troglodytes

Sequence ID: PNI19971.1



Homo sapiens

Sequence ID: NP_001034930

Figure 6: Numéros d'accésion des séquences de protéines et image de l'organisme correspondant.

TP BIO 1421 -Analyse de ARHGAP11B

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

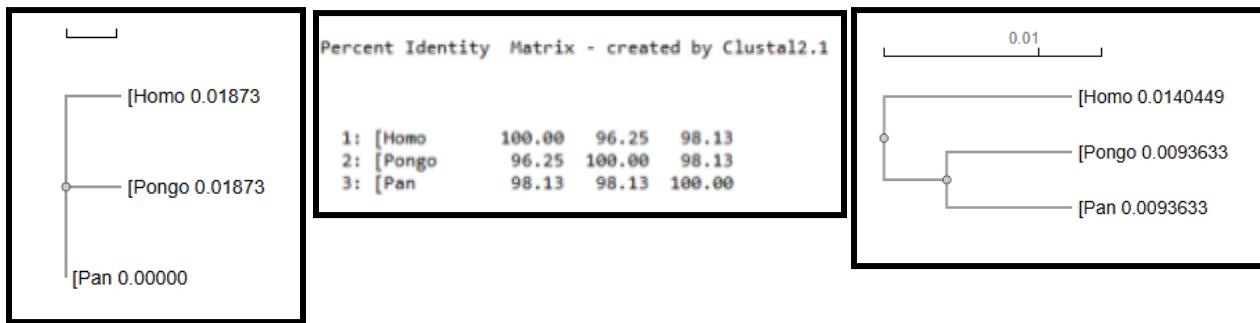


Figure 7 : L'arbre guide (à droite), l'arbre phylogénétique (à gauche) et le pourcentage d'identité entre les matrices (au centre) obtenus entre les séquences du gène ARHGAP11B chez l'homo sapiens, Pongo abeli et Pan troglodytes grâce au logiciel Clustal Omega.

CLUSTAL 0(1.2.4) multiple sequence alignment

Figure 8 : Séquence d'alignement afin de comparer les séquences du gène ARHGAP11B entre l'*Homo sapiens*, *Pan troglodytes* et *Pongo abelli* présentant chacunes 267 acides aminés ainsi que le pourcentage d'identité de la matrice entre les différentes espèces obtenu à l'aide du logiciel Clustal Omega.

L'alignement des séquences obtenu par le logiciel Crustal Omega en figure 7 montre une similarité importante entre la séquence du gène ARHGAP11B chez l'homme et la séquence du gène d'intérêt des autres primates (*Pongo abeli* et *Pan troglodytes*) avec un pourcentage d'identité de 98,13% entre l'*Homo sapiens* et les *Pan*

troglodytes, et 96.25% entre l'*Homo sapiens* et les *Pongo abeli*. De plus, cet alignement présente des divergences dans les séquences avec des substitutions conservatives d'un nucléotidique entre les séquences de l'homme et des primates aux positions : 156 ; 225 ; 8 ; 49 ; 40 ; 102 ; 217 ; 222 ; 260 et 266.

Par conséquent, la présence de substitutions chez l'humain et donc d'une séquence nucléotidique différente de celle des primates pourrait être responsable de l'expansion évolutive du cortex humain. Expliquant ainsi une production plus importante de neurone dans le néocortex grâce à l'activité du gène ARHGAP11B. Cette affirmation est confirmée par la présence sur l'arbre phylogénétique en figure 6 d'une nouvelle branche montrant la différenciation de la séquence du gène entre l'homme et les primates.

Cependant, ce résultat semble erroné en raison du pourcentage d'identité élevé entre les séquences. En effet, les séquences du gène ARHGAP11B des primates (*Pongo abelii* et *Pan troglodytes*) obtenues via le logiciel BLAST correspondent à des isoformes d'ARHGAP11B. Selon la littérature, ce gène est exclusivement présent chez l'homme [4]. Une courte recherche a révélé que la base de données NCBI effectue une annotation automatique pour certains gènes d'organismes eucaryotes. Il est donc possible que les isoformes des primates non humains aient été étiquetées comme isoformes d'ARHGAP11B, bien qu'elles ne soient pas exprimées ou fonctionnelles, ce qui expliquerait l'arbre phylogénétique anormal obtenu.

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

Partie III : variants quantifié par PCR et choix des amores

Les amores déterminées pour une PCR standard

Pour déterminer la présence du premier variant de transcription d'ARHGAP11B, les deux amores suivantes ont été conçues.

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGCATCCTGCCTCAGAGTTA	Plus	20	660	679	58.43	50	5	3
Reverse primer	AAGTCTGGTACACGCCCTTC	Minus	20	1369	1350	59.68	55	4	0

Tableau 8 : tableau présentant les deux amores déterminées et utilisées lors de la PCR indiquant la TM, la longueur et le % de nucléotide GC des amores qui ont été déterminées à l'aide de l'outil de conception d'amores "primer design tool" sur la base des données des outils du NCBI, et l'outil analyzer tools.

Après vérification des amores à l'aide du logiciel OligoAnalyzer™ (disponible sur le site web d'Integrated DNA Technologies), notamment pour évaluer leur stabilité, le logiciel indique que les amores produites sont globalement peu stables, avec une valeur de ΔG inférieure à -5, ce qui suggère que les séquences d'amores ne posent pas de problème majeur. Cependant, l'amorce sens présente une valeur de ΔG d'auto-hybridation comprise entre -5 et -9, ce qui indique qu'elle nécessite une surveillance particulière à ce niveau. Dans l'ensemble, ces amores sont considérées comme acceptables pour réaliser la PCR dans de bonnes conditions.

Amplicon, 710 nt, avec les amores en gras:

5' -**TGCATCCTGCCTCAGAGTTA**TCGACGTATCCGAATGTGG
ATCAGAGGCTGGTGAAGTGGCCCTGTTGCAGCATCTGGGGCCTCTATGGTATTAAGGTGAAGGGTGT
CCGTGGGCAGTGCAGTCGCAGGAGACATGAAACAGCGAGCCACGGAAATAGGGGGTAAAATATTGGAGTA
CCTTTAATGCACTGCCCTATTCTGCTGTACCGAGAATATGGACACATTCCAAGCTTCTGTGATGCTT
GCACATCTTAAAGAACATATTCAACCGAAGGGCTTTTGGAAATCAGGATCTGTGATTGCGCTAA
AGCACTAAAGAATAAAAGGATCATGGTGAAGGGTGCCTATCTTCGCACCTCCTGTGATATTGCGGGA
CTTCTTAAGCAGTTTTTAGGAACTGCCAGAGCCATTCTCCAGCTGATTGATGAAGCACTTTGA
AAGCTAACAGTTAGGCACAGAGGAAAAGAATAAAAGCTATACTGTTGCTCCTGTCTGGCTGACCA
CACAGTTCATGTATTAAGATACTTCTTAACCTCTCAGGAATGTTCTTAGATCCAGTGAGAATAAG
ATGGATAGCAGCAATCTGCAGTAATATTGACCAAATCTTCAGACAAGTGAGGACATGAAAAGA
TGTCTTAACCGAGAAA**GAAGGGCGTGTACCAAGACTT-** 3'

Figure 9 : séquence de l'amplicon de 710nt obtenue grâce à l'outil ORF finder avec les amores sens et antisens en gras.

Traduction de l'amplicon:

La traduction de l'amplicon fournit le polypeptide suivant, long de 225 résidus. Les 42 résidus C-terminaux du polypeptide original sont absents, et donc peu susceptibles d'être fonctionnels.

MWDQRLVKLALLQHLRAFYGIKVKGVRGQCDRRRHETAATEIGGKIFGVF
FNALPHSAVPEYGHIPSFLVDACTSLEEHIIHTEGLFRKSGSVIRLKALKN
KVDHGEGCLSSAPPDIAGLLKQFFRELPEPILPADLHEALLKAQQLGTE
EKNKAIIILSCLLADHTVHVLRYFFNFLRNVSRLSENKMDSSNLAVIFA
PNLLQTSEGHEKMSSNAEKKGVYQT **LSWKRYOPCWVLMVSVLLHHWALKKVNMKLLVNIREREDNV**
absents dans l'amplicon

Figure 10 : Séquence de la traduction de l'amplicon déterminée grâce à l'outil de traduction d'Expasy.

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

Conclusion

Pour conclure, l'étude *in silico* du gène ARHGAP11B est intéressante sur plusieurs points puisqu'elle a permis de comprendre davantage les caractéristiques structurales à travers l'étude de deux variants de transcription ainsi que le rôle et la localisation de la protéine transcrète par le gène d'intérêt dans l'organisme. Par conséquent, le gène de transcription 1 (NM_001039841.3) présentant 7 exons au total est le seul variant codant pour la protéine activatrice de la GTPase Rho 11B (NP_001034930) localisée dans les mitochondries permettant de promouvoir la génération des promoteurs basaux dans le néocortex lors du développement foetal. De ce fait, il serait intéressant d'étudier le mode d'action de cette protéine dans les mitochondries et de son interaction avec les différents éléments du réseau cellulaire.

Les comparaisons des séquences du gène ARHGAP11B entre différentes espèces de primates (*Pongo abelii*, *Pan troglodytes* et *Homo sapiens*) ont permis d'identifier des substitutions entre la séquence humaine et celles des primates. L'arbre phylogénétique révèle également une différenciation marquée, avec l'apparition d'une nouvelle branche entre *Homo sapiens* et les primates, suggérant une divergence dans la séquence du gène d'intérêt. Cela pourrait indiquer une expansion évolutive du néocortex humain associée à l'activité d'ARHGAP11B. Toutefois, étant donné l'absence de ce gène chez les primates étudiés, comme le rapporte la littérature, il existe une incertitude quant aux conclusions que l'on peut tirer sur l'impact fonctionnel de cette divergence. Des expériences supplémentaires, telles que des techniques de knockout pour examiner le rôle des isoformes d'ARHGAP11B, ou l'introduction de ce gène chez les primates pour observer une hypothétique élévation de leurs capacités cognitives, pourraient permettre de clarifier cette hypothèse. Cependant, ces approches soulèvent des questions éthiques importantes, notamment concernant les tests sur des primates vivants.

Enfin, la création d'amorces pour une PCR standard permettra l'amplification d'ARHGAP11B. Il convient de noter cependant que la variante 1 et la variante 2 sont identiques jusqu'à une coupure 3' de la variante 1, à la position 1565, ce qui la rend plus courte que la variante 2. Ainsi, la PCR conçue amplifie la présence des deux séquences. Si nécessaire, pour des tests futurs, il est possible de sélectionner entre les deux variantes selon deux méthodes. La première consiste à ajouter des amorces ciblant la portion de la variante 2 que la variante 1 ne possède pas (c'est-à-dire après la position 1565), permettant ainsi l'amplification exclusive de la variante 2. La deuxième méthode consiste à saturer la solution avec des bloqueurs de polymérase spécifiques à la séquence après la position 1565, ce qui empêche l'amplification de la variante 2.

Pour conclure, il serait pertinent d'examiner le gène ARHGAP11A, un homologue d'ARHGAP11B. Les différences structurales ainsi que son rôle fonctionnel dans la cellule pourraient être déterminés afin d'identifier les divergences entre les deux homologues et de mieux comprendre l'impact de l'absence de cette protéine fonctionnelle chez les individus.

Bibliographie

[1] Rakic, P. (2009). Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(10), 724–735.

<https://doi.org/10.1038/nrn2719>

[2] Xing L, Kubik-Zahorodna A, Namba T, Pinson A, Florio M, Prochazka J, Sarov M, Sedlacek R, Huttner WB. Expression of human-specific ARHGAP11B in mice leads to neocortex expansion and increased memory flexibility. *EMBO J*. 2021 Jul 1;40(13):e107093. doi: 10.15252/embj.2020107093. Epub 2021 May 3. PMID: 33938018; PMCID: PMC8246068.

[3] Lui, J.H., Hansen, D.V., & Kriegstein, A.R. (2011). Development and evolution of the human neocortex. *Cell*, 146(1), 18–36.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.030>

TP BIO 1421 -Analyse de ARHGAP11B

Ewen Le Diouris¹ et Eason Gregoire-Mazzocco¹

1. Faculté Sciences et Sciences de l'Ingénieur, Université Bretagne sud, Centre d'enseignement et de recherche Yves Coppens

[4] Namba T, Huttner WB. What Makes Us Human: Insights from the Evolution and Development of the Human Neocortex. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2024 Oct;40(1):427-452. doi: 10.1146/annurev-cellbio-112122-032521. PMID: 39356810.

[5] Gao T, Dang W, Jiang Z, Jiang Y (2024) Identifying the impact of ARHGAP and MAP gene families on autism spectrum disorders. *PLOS ONE* 19(11): e0306759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0306759>

[6] Namba T, Dóczsi J, Pinson A, Xing L, Kalebic N, Wilsch-Bräuninger M, Long KR, Vaid S, Lauer J, Bogdanova A, Borgonovo B, Shevchenko A, Keller P, Drechsel D, Kurzchalia T, Wimberger P, Chinopoulos C, Huttner WB. Human-Specific ARHGAP11B Acts in Mitochondria to Expand Neocortical Progenitors by Glutaminolysis. *Neuron.* 2020 Mar 4;105(5):867-881.e9. doi: 10.1016/j.neuron.2019.11.027. Epub 2019 Dec 26. PMID: 31883789.

[7] Kalebic N, Gilardi C, Albert M, Namba T, Long KR, Kostic M, Langen B, Huttner WB. Human-specific ARHGAP11B induces hallmarks of neocortical expansion in developing ferret neocortex. *Elife.* 2018 Nov 28;7:e41241. doi: 10.7554/eLife.41241. PMID: 30484771; PMCID: PMC6303107.

[8] Vinci, L., Ravarino, A., Gerosa, C., Pintus, M. C., Marcialis, M. A., Marinelli, V., Faa, G., Fanos, V., & Ambu, R. (2016). Stem/progenitor cells in the cerebral cortex of the human preterm: a resource for an endogenous regenerative neuronal medicine? *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine*, 5(1), e050121. <https://doi.org/10.7363/050121>

[9] Smith AW, Mehta MP, Wernicke AG. Neural stem cells, the subventricular zone and radiotherapy: implications for treating glioblastoma. *J Neurooncol.* 2016 Jun;128(2):207-16. doi: 10.1007/s11060-016-2123-z. Epub 2016 Apr 23. PMID: 27108274.