

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : ARED/Association
Titre de la thèse : Etude d'éléments <i>cis</i>-régulateurs du gène <i>CFTR</i>		3 mots-clés : régulation transcriptionnelle, organisation chromatinienne, <i>CFTR</i> et pathologies associées.
Unité/équipe encadrante : INSERM UMR1078 / Génétique Moléculaire et Epidémiologie Génétique		
Directeur de thèse : Pr Claude FEREC		N° de tél : 0298017281 Mail : claud.ferec@gmail.com
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>Une collaboration étroite existe à Brest entre notre équipe de recherche (UMR 1078) et le laboratoire de génétique moléculaire hospitalier qui est l'un des 4 laboratoires de référence de la mucoviscidose en France. Ceci nous permet d'avoir accès à un grand nombre d'installations et plateformes pour mener à bien nos recherches sur place (https://www.univ-brest.fr/umr1078/menu/Technologies/equipements# / plateforme Epigen Brest (CPER) https://www.univ-brest.fr/drive/menu/Valorisation/Financeurs/EpiGen).</p> <p>Ce projet sera réalisé au sein de l'équipe CRED (<i>Cis-Regulatory Elements & Diseases</i>) qui est maintenant bien reconnue dans le domaine des analyses chromatinienne et des <i>cis</i>-régulations. Plusieurs projets sur différentes pathologies étudiées au laboratoire ont déjà été menés à bien et publiés dans de prestigieux journaux (projet <i>CFTR</i> - Moisan et al. 2016, <i>Nucleic Acids Res / Collobert et al. 2021, Int. J. Mol. Sci</i> ; projet <i>PKD2</i> – Moisan et al. 2018, <i>BMC Genomics</i> ; projet surdités <i>DFNB1</i> – Moisan et al. 2019 <i>Human Genetics</i>). Ces travaux ont également été valorisés par de nombreuses présentations dans des congrès nationaux et internationaux, en particulier par des communications orales aux Assises de Génétique Humaine et Médicale, lors du <i>39th European Cystic Fibrosis Conference</i>, de l'<i>European Society of Human Genetics (ESHG)</i> en Suède en 2019 et par des posters aux <i>American Society of Human Genetics (ASHG)</i>.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>Malgré plus de 30 années d'étude du gène <i>CFTR</i>, de nombreuses interrogations persistent, en particulier concernant sa fine régulation. Notre hypothèse serait que des dysfonctionnements d'éléments <i>cis</i>-régulateurs (CREs) du locus <i>CFTR</i> pourraient élucider des génotypes incomplets et expliquer des phénotypes extrêmes.</p> <p>Nous avons déjà mis au point des analyses fonctionnelles qui nous ont permis de mettre en évidence de nouvelles régions régulatrices impliquées dans la régulation du gène <i>CFTR</i> dans des cellules intestinales. En parallèle, à partir d'un séquençage à haut débit de 17 régions régulatrices candidates chez des patients atteints d'une agénésie bilatérale des canaux déférents (ABCD), présentant un génotype incomplet, nous avons pu mettre en évidence plusieurs variants régulateurs.</p> <p>Notre but est maintenant de mieux comprendre de manière fonctionnelle la régulation du gène <i>CFTR</i> dans un modèle cellulaire plus pertinent de l'ABCD en utilisant des cellules epididymaires.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Culture de cellules épithéliales primaires de l'épididyme : Grâce à une collaboration avec le Pr Valeri, urologue au CHRU de Brest, nous allons avoir accès à des prélèvements epididymaires que nous remettrons en culture. Nous utiliserons également une lignée de cellules épithéliales immortalisées à partir de prélèvements de canaux déférents (HVP). - Tests d'activité : Afin de mettre en évidence une activité régulatrice, quelle soit enhancer ou silencer, les régions cCREs seront clonées en amont du promoteur <i>CFTR</i> et transfectées dans les cellules epididymaires pour en analyser l'expression 48h après. - Analyses 4C : L'organisation tri-dimensionnelle du locus <i>CFTR</i> des cellules epididymaires sera étudiée par la technique 4C (<i>Circular Chromosome Conformation Capture</i>), qui permet d'analyser les interactions d'une séquence de choix avec l'ensemble du génome. - Immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) : Nous chercherons à identifier les facteurs de transcription recrutés par les CREs spécifiques des cellules epididymaires grâce à la technique de ChIP. - CRISPRi : Une des dérivées innovatrices de l'approche CRISPR/Cas9, le système CRISPRi, sera mise en place afin d'étudier nos cCREs d'intérêt du gène <i>CFTR</i> dans des cellules epididymaires. Le système CRISPRi permet à l'aide d'une Cas9 dépourvue de sa fonction nucléase, et couplée au facteur de répression KRAB, de réprimer la transcription en créant un encombrement stérique. 		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Etudiant d'une formation scientifique ayant réalisé un Master 2 de Génétique. Compétences en biologie moléculaire / culture cellulaire / bactériologie.</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u></p>		

Collobert M, Bocher O, Le Nabec A, Génin E, Férec C, Moisan S. *CFTR* cooperative *cis*-regulatory elements in intestinal cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22, 2599.

Moisan S, Le Nabec A, Quillévéré A, Le Maréchal C, Férec C. Characterization of *GJB2 cis*-regulatory elements in the *DFNB1* locus. *Hum. Genet.*, 2019, 138, 1275-1286.

Moisan S, Berlivet S, Ka C, Le Gac G, Dostie J, Férec C. Analysis of long-range interactions in primary human cells identifies cooperative *CFTR* regulatory elements. *Nucleic Acids Res.* 2016 Apr 7;44(6):2564-76.

Collaborations nationales et internationales :

Ce projet s'inscrit dans la continuité de nombreuses collaborations nationales mais aussi internationales :

- Partenariats dans le domaine des nouvelles études sur la conformation de la chromatine et son implication dans la régulation des gènes :

- Dostie Lab - McGill University – Montreal,
- Harris Laboratory - Northwestern University - Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago.

- Partenariats dans le domaine des pathologies associées au gène *CFTR* :

- Pr Antoine Valeri, urologue au CHRU de Brest,
 - Laboratoire Génopathies – Mucoviscidose de Lille (Adrien Pagin),
 - Laboratoire Mucoviscidose: physiopathologie et phéno génomique de Paris (Harriet Corvol),
 - Laboratoire Génétique méd, mal rares et médecine personnalisée de Montpellier (Caroline Raynal),
 - Registre et Mucodoméos - Vaincre la Mucoviscidose de Paris (Lydie Lemonnier),
- Harris Laboratory - Northwestern University - Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago.