

## FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : GP M4R ?
Titre de la thèse : <b>C-NU- Bioingénierie d'organoïdes musculaires 3D matures « multilignée » pour la modélisation des maladies neuromusculaires</b>		3 mots-clés : Organoïdes Muscle squelettique Disease Modeling
Unité/équipe encadrante : <b>TaRGeT, Translational Research in Gene Therapies – INSERM UMR 1089</b>		
Directeur de thèse : <b>Dr. Caroline Le Guiner</b> Co-encadrant : <b>Dr. Jean-Baptiste Dupont</b>		N° de tél : 02 28 08 04 23 Mail : caroline.le-guiner@univ-nantes.fr jean-baptiste.dupont@univ-nantes.fr
<u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u> Les cellules souches induites à la pluripotence (iPS) et les organoïdes qui en dérivent ont révolutionné la biologie moderne en offrant de nouveaux modèles expérimentaux capables de reproduire certaines caractéristiques structurales et fonctionnelles des tissus et organes humains <i>in vitro</i> . Lorsque ces cellules proviennent de patients atteints de maladies génétiques, les organoïdes permettent d'étudier les mécanismes physiopathologiques spécifiques d'un contexte mutationnel donné au cours du développement, et représentent ainsi une nouvelle classe de modèles précliniques en complément des modèles animaux. Dans le cas particulier des maladies neuromusculaires telles que la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), ils pourraient théoriquement permettre de reproduire les phénotypes pathologiques rencontrés dans les muscles des patients et d'évaluer l'efficacité de nouvelles approches thérapeutiques. À ce jour, il existe des protocoles permettant de différencier des cellules iPS en cellules musculaires striées squelettiques, mais les myotubes obtenus demeurent le plus souvent à l'état embryonnaires. Grâce à l'utilisation d'hydrogels et de systèmes de culture tridimensionnels dédiés, les premiers organoïdes musculaires, ou EMTs (engineered muscle tissues), ont pu être développés en 3D, mais l'impact de cette seule amélioration sur le niveau de maturation cellulaire semble limité.		
<u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u> Ce projet de thèse s'inscrit dans l'un des axes prioritaires de notre équipe <b>ATIP Avenir</b> , qui vise à développer des modèles de tissus musculaires striés squelettiques 3D en combinant des approches de biologie des cellules souche et de bio-ingénierie, permettant à terme de reproduire les phénotypes les plus avancés des maladies neuromusculaires telles que la DMD. Notre hypothèse de travail suppose que la reproduction du microenvironnement physicochimique auquel les cellules sont soumises au cours du développement permettra d'améliorer le niveau de maturation des organoïdes, et de reproduire plus fidèlement les phénotypes se manifestant chez les patients. Ce projet va nous permettre de répondre aux questions suivantes : 1) Est-il possible de reproduire <i>in vitro</i> l'influence de facteurs physicochimiques pour augmenter le niveau de maturation des organoïdes ? 2) Quel est l'impact de populations cellulaires accessoires sur le niveau de maturation des organoïdes musculaires ? 3) Quels phénotypes pathologiques peuvent être mis en évidence dans des organoïdes musculaires matures de patient DMD ?		
<u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u> 1) Production d'organoïdes musculaires striés squelettiques avec un niveau de maturation optimisé : des hydrogels de différentes compositions seront comparés pour leur capacité à former des organoïdes musculaires fonctionnels. L'impact de stimulations électriques et d'un étirement mécanique mimant respectivement l'innervation motrice et les attaches tendineuses sera évalué par différents paramètres morphologiques et fonctionnels (diamètre cellulaire, plurinucléation, striation, couplage excitation-contraction, etc.). 2) Inclusion de populations cellulaires accessoires au sein des organoïdes musculaires : les muscles squelettiques <i>in vivo</i> contiennent en plus des myotubes : des fibroblastes, des cellules endothéliales, des péricytes, des cellules immunitaires et diverses populations de progéniteurs, qui participent toutes à l'homéostasie musculaire. En contexte pathologique, les interactions réciproques qu'elles établissent sont perturbées, pouvant mener à une aggravation du phénotype pathologique. L'impact de ces diverses populations de cellules sur la structure et la fonction des organoïdes musculaires sera évalué et permettra de définir une composition cellulaire « optimale ». 3) Caractérisation des phénotypes de la DMD sur organoïdes musculaires issus de cellules iPS : des organoïdes seront dérivés de cellules iPS de patient DMD grâce aux protocoles de différenciation multilignée et de maturation définis ci-dessus. Leurs phénotypes seront ensuite caractérisés au niveau structural (immunomarquages), fonctionnel (force, paramètres d'homéostasie calcique), et transcriptomique (single-nucleus RNA-Seq, spatial transcriptomics).		
<u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Compétences scientifiques : biologie des cellules souches, bio-ingénierie, physiopathologie musculaire, biophysique, bio-informatique Compétences techniques : culture 3D, immunomarquages et imagerie confocale 2D / 3D, électrophysiologie, séquençage ARN		
<u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u> 1) Mozin E, Massouridès E, Mournetas V, Lièvre C, Bourdon A, Jackson DL, Packer JS, Trapnell C, <b>Le Guiner C</b> , Adjali O, Pinset C, Mack DL, <b>Dupont JB</b> . Dystrophin deficiency impairs cell junction formation during embryonic myogenesis. bioRxiv. 2023 Dec 7;2023.12.05.569919. 2) Bourdon A, François V, Zhang L, Lafoux A, Fraysse B, Toumaniantz G, Larcher T, Girard T, Ledevin M, Lebreton C, Hivonnait A, Creismas A, Allais M, Marie B, Guguin J, Blouin V, Remy S, Anegon I, Huchet C, Malerba A, Kao B, Le Heron A, Moullier P, Dickson G, Popplewell L, Adjali O, Montanaro F, <b>Le Guiner C</b> . Evaluation of the dystrophin carboxy-terminal domain for micro-dystrophin gene therapy in cardiac and skeletal muscles in the DMDmdx rat model. Gene Ther. 2022 Sep;29(9):520–35. 3) Mournetas V, Massouridès E, <b>Dupont JB</b> , Kornobis E, Polvèche H, Jarrige M, Dorval ARL, Gosselin MRF, Manousopoulou A, Garbis SD, Górecki DC, Pinset C. Myogenesis modelled by human pluripotent stem cells: a multi-omic study of Duchenne myopathy early onset. J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2021 Feb;12(1):209–32. Myogenesis modelled by human pluripotent stem cells: a multi-omic study of Duchenne myopathy early onset. J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2021 Feb;12(1):209–32.		
<u>Collaborations nationales et internationales :</u> <b>Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine (Seattle, USA)</b>		