

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : X Demandé Acquis	Origine du financement :
Titre de la thèse : Dynamique des complexes canaux Nav1.5 dans l'excitabilité cardiaque physiologique et physiopathologique		3 mots-clés : Canaux Nav1.5 cardiaques Protéines partenaires Régulation β -adrénergique
Unité/équipe encadrante : l'institut du thorax, INSERM UMR 1087, Equipe II		
Directeur de thèse : Céline Marionneau		N° de tél : 02-28-28-01-78 Mail : celine.marionneau@univ-nantes.fr
Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) : Les canaux Na ⁺ dépendants du potentiel Nav1.5 sont des régulateurs clés de l'excitabilité cardiaque, et tout défaut d'expression, de fonctionnement ou de régulation de ces canaux augmente le risque d'arythmies potentiellement létales. Bien que nous sachions que ces canaux ioniques font partie de complexes protéiques macromoléculaires comprenant diverses protéines et modifications post-traductionnelles (PTMs), la composition de ces complexes et la régulation dynamique de l'expression et du fonctionnement du canal au sein de ces complexes et par les diverses voies de signalisation auxquels ils sont reliés restent mal connus. Le projet de thèse proposé consistera donc à identifier l'interactome natif de ce canal, les sites d'interaction et les rôles fonctionnels des protéines partenaires nouvellement identifiées, ainsi que la dynamique de cet interactome dans deux conditions physio(patho)logiques d'intérêt : la stimulation β -adrénergique aiguë/bénéfique versus chronique/délétère, que l'on retrouve notamment augmentée dans l'insuffisance cardiaque. Ces études seront essentielles à une meilleure compréhension, non seulement de la physiologie du canal Nav1.5, mais aussi à une meilleure interprétation des canalopathies cardiaques héréditaires ou acquises.		
Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) : Le projet de thèse proposé testera l'hypothèse que la régulation des canaux Nav1.5 par les divers variants génétiques associés aux arythmies cardiaques et par ses PTMs est associée à des défauts de régulation par les protéines partenaires. Le projet comprend les trois objectifs suivants : 1- l'identification par protéomique de l'interactome natif des canaux Nav1.5 cardiaques ; 2- l'identification des sites d'interaction et des rôles fonctionnels d'une sélection de protéines partenaires nouvellement identifiées ; et, 3- l'analyse de la dynamique de la composition de ces complexes en réponse à une stimulation β -adrénergique aiguë versus chronique. En plus de fournir de nouvelles informations sur la physiologie du canal Nav1.5, ces travaux permettront une meilleure interprétation des canalopathies cardiaques en donnant une vision plus claire de la manière dont les variants génétiques et les PTMs influencent l'interactome et le fonctionnement du canal.		
Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) : La thèse se déroulera de la façon suivante : 1- Analyses protéomiques des canaux Nav1.5 dans des cardiomyocytes ventriculaires de souris nouveau-nées (NMVCs) et des cardiomyocytes dérivés de cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSC-CMs) ; 2- Criblage des protéines partenaires de Nav1.5 nouvellement identifiées par patch-clamp automatique à haut-débit ; 3- Identification des domaines d'interaction et des rôles fonctionnels des protéines partenaires nouvellement identifiées dans la régulation des canaux Nav1.5 (analyse de l'expression de la protéine Nav1.5 ainsi que des courants Na ⁺ au pic et persistant) dans des cellules HEK-293, NMVCs ou hiPSC-CMs. Parmi les protéines nouvellement identifiées, des résultats préliminaires ont montré la présence de Bag2 (<i>Bcl2-associated athanogene 2</i>), une nouvelle protéine partenaire potentielle, dans les complexes canaux Nav1.5 cardiaques ventriculaires murins, et la régulation de cette interaction en réponse à une stimulation β -adrénergique aiguë. Cette stimulation β -adrénergique augmente également de façon massive la phosphorylation de Nav1.5 au niveau de 5 sites. En parallèle des autres protéines qui seront nouvellement identifiées, le projet de thèse s'intéressera à ces deux éléments régulateurs nouvellement identifiés (Bag2 et 5 sites de phosphorylation) à la fois dans des conditions basales et en réponse à une stimulation β -adrénergique aiguë versus chronique, ce qui assurera la sécurité du projet de thèse développé.		
Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) : Le candidat développera des approches de biochimie (co-immunoprécipitation, western blot, essai de biotinylation), protéomique et électrophysiologie sur des cellules HEK-293, des cultures primaires de cardiomyocytes et des hiPSC-CMs. Il participera également aux travaux de biologie moléculaire (mutagenèse, sous-clonage, RT-PCR).		
3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) : - Lesage A, Lorenzini M, Burel S, Sarlandie M, Bibault F, Lindskog C, Maloney D, Silva JR, Townsend RR, Nerbonne JM, Marionneau C. Determinants of iFGF13-mediated regulation of myocardial voltage-gated sodium (Nav) channels in mouse. <i>J Gen Physiol</i> , 2023, 155(9):e202213293. - Montnach J, Lorenzini M, Lesage A, Simon I, Nicolas S, Moreau E, Marionneau C, Baró I, De Waard M, Loussouarn G. Computer modeling of whole-cell voltage-clamp analyses to delineate guidelines for good practice of manual and automated patch-clamp. <i>Sci Rep</i> , 2021, 11:3282. - Lorenzini M, Burel S, Lesage A, Charrière C, Chevillard PM, Evrard B, Maloney D, Wagner E, Wagner S, Nerbonne JM, Silva JR, Townsend RR, Maier LS, Marionneau C. Proteomic and functional mapping of cardiac Nav1.5 channel phosphorylation reveals multisite regulation of surface expression and gating. <i>J Gen Physiol</i> , 2021, 153:e202012646.		
Collaborations nationales et internationales : - Reid Townsend (<i>Washington University Medical School, Saint Louis, USA</i>) - Jeanne Nerbonne (<i>Washington University Medical School, Saint Louis, USA</i>) - Jonathan Silva (<i>Washington University in Saint Louis, MO, USA</i>) - Isabelle Deschênes (<i>The Ohio State University, Columbus, OH, USA</i>) - Jean-Sébastien Rougier et Hugues Abriel (<i>University of Bern, Suisse</i>)		