**FICHE SUJET DE THESE**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Sujet N° (à remplir par l’ED) :** | **FINANCEMENT :**  **Demandé**  **Acquis** | **Origine du financement :** |
| Titre de la thèse :  **Identification de l’interactome du canal potassique hERG cardiaque pour une compréhension accrue des pathologies du QT** | | 3 mots-clés : syndrome du QT long, hERG, protéines partenaires |
| Unité/équipe encadrante :  L’institut du thorax (Inserm/CNRS/Nantes Univ.), Team II - Ion Channels and Cardiopathies | | |
| Directeur de thèse :  Isabelle Baró | | N° de tél : 02 28 08 01 50  Mail : isabelle.baro@univ-nantes.fr |
| Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :  Parmi les arythmies héréditaires, le syndrome du QT long (SQTL) est la première décrite et la plus fréquente. 30% des cas résultant souvent de variations rares de perte de fonction dans le gène *KCNH2*, codant pour le canal cardiaque hERG. Nous sommes en cours de finalisation d’un projet ambitieux, visant à phénotyper l’intégralité des 350 variants français du canal hERG, codé par le gène *KCNH2*, afin de préciser le risque de SQTL ou de syndrome du QT court (SQTC) et donc de mort subite chez les patients portant un de ces variants de hERG. Ce travail nous permet d’envisager la constitution d’une base de données sur la pathogénicité de tous les variants Français. Par ailleurs, nous avons conçu un algorithme, sur la base d’informations structurales, permettant de prédire le risque de QT long/court en fonction de la position du variant le long de la séquence de 1159 acides aminés du canal. Il existe néanmoins des cas où la pathogénicité des variants ne peut pas être prédite simplement, parce qu’ils n’impactent pas directement la fonction du canal, mais plutôt son interaction avec ses protéines partenaires. | | |
| Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :  La connaissance (i) de ces protéines partenaires du canal hERG, constituant ce que nous appelons l’interactome, et (ii) de la localisation précise des domaines d'interaction de ces protéines partenaires dans la structure du canal, fourniraient des informations précieuses à plusieurs titres : 1- une meilleure classification de la pathogénicité de certains variants (ceux positionnés dans les sites d’interaction avec l’interactome) et 2- l’identification de nouvelles protéines pouvant être la cause d’autres formes de SQTL ou SQTC. Ces protéines partenaires peuvent jouer des rôles divers, par exemple dans la régulation de l'expression et du fonctionnement du canal. La connaissance de cet interactome permettrait donc de mieux prédire les régions à risque de SQTL ou SQTC. De plus, les gènes codant pour ces protéines partenaires peuvent eux-aussi être mutés, et contribuer directement au développement du SQTL ou SQTC. | | |
| Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :  1- Insertion d’un tag neutre au sein du canal hERG permettant sa purification à partir d'hiPSC-CMs. 2- Vérification de la neutralité du tag par patch-clamp automatique : nous procèderons à la vérification de l’impact de ce tag sur l'expression et la fonction du canal. 3- Immunoprécipitation du canal hERG avec le tag dans les cellules HEK293. L’objectif est de vérifier que la position et la nature du tag SPOT permettent une immunoprécipitation spécifique et robuste du canal. 4- Insertion du tag SPOT dans le gène du canal hERG des cellules hiPS par CRISPR-Cas9. 5- Purification du canal hERG et de son interactome par immunoprécipitation à partir d'hiPS-CMs modifiés avec l’étiquette SPOT. 6- Analyse protéomique de l’interactome du canal hERG : les protéines purifiées seront digérées par la protéase trypsine et identifiées par spectrométrie de masse (LC-MS/MS). 7- Vérification par biochimie et électrophysiologie de l’interaction avec le canal hERG des différentes protéines nouvellement identifiées, et détermination des rôles de ces protéines dans la régulation de l'expression et/ou du fonctionnement du canal. 8- Identification des domaines du canal hERG interagissant avec les protéines partenaires nouvellement identifiées et validées fonctionnellement. 9- Etude de l’impact des variants, présents dans les domaines d’interaction, sur l'interaction de hERG avec les protéines partenaires identifiées. Les variants présents dans les domaines d’interaction seront coexprimés avec les protéines partenaires concernées pour vérifier la préservation ou non de l’interaction et/ou de la régulation du canal. Au final, nous devrions pouvoir reclassifier des variants initialement bénins sur l’activité du canal dans son complexe. Nous devrions également ouvrir de nouvelles pistes d’études pour des formes de LQTS non encore explicitées. | | |
| Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :  Des compétences en biologie cellulaire, électrophysiologie des canaux ioniques et en biochimie des protéines seront appréciées. | | |
| 3 publications de l’équipe d’accueil relatives au domaine (5 dernières années) :   1. **Oliveira-Mendes, BBR**; Feliciangeli, S; Ménard, M; Chatelain, F; Alameh, M; Montnach, J; Nicolas,   S; Ollivier, B; Barc, J; **Baró, I**; Schott, JJ; Probst, V; Kyndt, F; Denjoy, I; Lesage, F; Loussouarn, G; De Waard, M. A standardized hERG phenotyping pipeline to evaluate KCNH2 genetic variant pathogenicity. Clin Trans Med.;11:e609 (2021).   1. De Waard, S; Montnach, J; **Ribeiro, B**; Nicolas, S; Forest, V; Charpentier, F; Mangoni, ME; Gaborit, N; Ronjat, M; Loussouarn, G; Lemarchand, P; De Waard, M. Functional Impact of BeKm-1, a HighAffinity hERG Blocker, on Cardiomyocytes Derived from Human-Induced Pluripotent Stem Cells. Int J Mol Sci., Sep 28;21(19):7167 (2020). 2. A. Lesage, M. Lorenzini, S. Burel, M. Sarlandie, F. Bibault, C. Lindskog, D. Maloney, J. R. Silva, R. R. Townsend, J. M. Nerbonne, **C. Marionneau**, Determinants of iFGF13-mediated regulation of myocardial voltage-gated sodium (NaV) channels in mouse. J Gen Physiol 155, e202213293 (2023). | | |
| Collaborations nationales et internationales :  - Reid Townsend (*Washington University Medical School, Saint Louis, USA*)  - Jeanne Nerbonne (*Washington University Medical School, Saint Louis, USA*)  - Jonathan Silva (*Washington University in Saint Louis, MO, USA*)  - Isabelle Deschênes (*The Ohio State University, Columbus, OH, USA*)  - Jean-Sébastien Rougier et Hugues Abriel (*University of Bern*, Suisse) | | |