

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : EIC Pathfinder
Titre de la thèse : les PNA comme molécules de régulation de l'expression de Nav1.5		3 mots-clés: peptide de pénétration / PNA / régulation génique
Unité/équipe encadrante : L'institut du thorax (Inserm/CNRS/Nantes Univ.), Equipe Canaux ioniques et Cardiopathies		
Directeur de thèse : Flavien Charpentier (Co-encadrant de thèse: Michel De Waard)	N° de tél: 02 28 08 01 64 Mail : flavien.charpentier@univ-nantes.fr	
<u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u>		
<p>Le canal sodique voltage-dépendant cardiaque (Nav1.5) est une composante centrale de l'électrogénèse cardiaque. Sa dysfonction amène à la fibrillation ventriculaire responsable parfois de mort subite. Bien que Nav1.5 représente une cible thérapeutique de choix, il n'existe à ce jour aucune thérapie visant à corriger le niveau d'expression ou la fonction de ce canal ionique. Développer de tes outils thérapeutiques serait pourtant une alternative intéressante à l'implantation invasive de défibrillateur ou pacemaker.</p> <p>Le projet proposé s'intègre dans un projet de consortium plus large, Nav1.5-cared, visant à identifier des régions régulatrices géniques qui modulent le niveau d'expression de Nav1.5 grâce à l'utilisation d'une large cohorte de patients ayant des défauts électriques cardiaques et/ou de conduction. Nous disposerons de lignées de cellules iPS dérivées de ces patients et intégrant des séquences rapportrices du niveau d'expression de Nav1.5.</p>		
<u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u>		
<p>Nous avons développé l'hypothèse selon laquelle les séquences géniques responsables de la régulation du niveau d'expression de Nav1.5 sont a priori des cibles intéressantes pour une intervention thérapeutique. Afin que ces séquences soient des cibles, il nous faut combiner un outil de délivrance intracellulaire, un peptide de pénétration cellulaire (CPP), à un outil d'interférence de la fonction génique procédant par hybridation (un peptide nucléique acide ou PNA). Afin de mesurer l'efficacité de ces composés hybrides sur les propriétés du canal Nav1.5 (niveau d'expression et propriétés biophysiques), des méthodes rapportrices seront mises en place en évaluant l'efficacité des composés sur des cellules humaines les plus proches possibles des cardiomyocytes (iPS-CMs). Enfin, un tag rapporteur sera introduit au sein du canal Nav1.5 qui permettent une évaluation semi-quantitative par immunofluorescence et immunoprécipitation. De même, les courants sodiques médiés par Nav1.5 seront mesurés par patch clamp automatique.</p>		
<u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u>		
<p>Les étapes de la thèse seront les suivantes :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Développement et insertion de tags, type SPOT, neutres au sein de la séquence de Nav1.5 et évaluation de cette « neutralité » par patch clamp automatique 2- Insertion de ces séquences dans le gène SCN5A au sein des cellules iPS humaines par CRISPR-CAS9 et vérification des propriétés de Nav1.5 (en collaboration avec un groupe Allemand). 3- Efficacités de pénétration cellulaire de plusieurs CPP dans les hiPS-CMs 4- Design de molécules hybrides CPP-PNA avec le groupe de Julien Barc – synthèse de ces composés et tests sur hiPS-CMs en électrophysiologie. 		
<u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u>		
<p>Le projet de thèse nécessite des compétences en biologie cellulaire (culture des iPS et différenciation en CMs), en biologie moléculaire (mutagenèse, insertion tags), en biochimie (immunoprécipitation), en microscopie confocale et en électrophysiologie (patch clamp automatique). Une expertise en bio-informatique serait un plus.</p>		
<u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u>		
<p>Montnach, J. <i>et al.</i> Fluorescent- and tagged-prototoxin II peptides: potent markers of the Nav1.7 channel pain target. <i>Br J Pharmacol</i> 178, 2632-2650 (2021). https://doi.org:10.1111/bph.15453</p> <p>Montnach, J. <i>et al.</i> In vivo spatiotemporal control of voltage-gated ion channels by using photoactivatable peptidic toxins. <i>Nat Commun</i> 13, 417 (2022). https://doi.org:10.1038/s41467-022-27974-w</p> <p>Montnach, J. <i>et al.</i> Optical Control of Cardiac Rhythm by In Vivo Photoactivation of an ERG Channel Peptide Inhibitor. <i>Circ Res</i> 133, 535-538 (2023). https://doi.org:10.1161/CIRCRESAHA.123.322880</p>		
<u>Collaborations nationales et internationales :</u>		
<p>Julien Barc, Céline Marionneau, Flavien Charpentier – l'institut du thorax</p> <p>Vincent Christoffels, Connie Bezzina – Amsterdam University</p> <p>Sebastian Diecke - Berlin</p>		