

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : Concours Doctoral d'Etablissement
Titre de la thèse : Rôle de la transcription et des modifications épigénétiques de l'ADN mitochondrial dans la physiopathologie et les adaptations métaboliques des maladies mitochondriales		3 mots-clés : Maladies mitochondriales ADN mitochondrial Long ARN non codants
Unité/équipe encadrante : Mitolab, Institut MitoVasc, INSERM U1083, CNRS 6015		
Directeur de thèse : DESQUIRET-DUMAS Valérie (co-directrice : PRUNIER Delphine)		N° de tél : 0241356248 Mail : vadesquiret@chu-angers.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u> Les maladies mitochondriales sont parmi les pathologies neurologiques et métaboliques héréditaires les plus fréquentes (prévalence d'un individu sur 4 300). Leurs causes génétiques sont multiples et peuvent concerner des gènes codés par l'ADN nucléaire (ADNn) ou par l'ADN mitochondrial (ADNmt). Cet ADNmt circulaire est présent en nombre variable de copies dans chaque cellule. À l'heure actuelle, il existe plus de deux cents variants ponctuels pathogènes identifiés sur l'ADNmt. L'expressivité clinique de ces variants dépend en grande partie du pourcentage de copies portant le variant (taux d'hétéroplasmie) dans le tissu cible de la pathologie. Cependant, certaines personnes, porteuses d'un de ces variants pathogènes à un taux d'hétéroplasmie pourtant élevé, ne déclenchent pas la maladie. Les facteurs impliqués dans cette pénétrance incomplète sont très peu connus. Identifier les mécanismes qui régulent l'expressivité de ces variants pourrait ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques pour ces maladies.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u> Les progrès du séquençage à haut débit ont permis d'étudier plus finement les mécanismes de régulation de l'expression des gènes codés par l'ADNmt et plusieurs équipes ont pu montrer l'existence de régulations épigénétiques du génome mitochondrial. Nous émettons l'hypothèse que ces modifications épigénétiques peuvent influencer l'expressivité des variants de l'ADNmt et participer donc à la pénétrance incomplète observée dans certaines maladies mitochondriales.</p> <p>Au cours de ce travail, nous nous intéresserons particulièrement à 2 mécanismes épigénétiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la méthylation de l'ADNmt : l'ADNmt semble présenter un profil de méthylation particulier sur des cytosines en dehors des îlots CpG et au niveau des adénines, des modifications également retrouvées chez les bactéries où elles participeraient à l'élimination des phages dont l'ADN n'est pas méthylé. - Les ARN non codants (ARNnc) : L'identification et la caractérisation des ARN non codants issus du génome mitochondrial (mtARNnc) est un domaine en pleine expansion et les dernières données suggèrent que ces molécules pourraient non seulement agir localement en régulant l'expression ou la stabilité des ARNmt correspondants mais être également exportés dans le noyau pour participer à un dialogue rétrograde de la mitochondrie vers le noyau. <p>Nous souhaiterions donc étudier le statut de méthylation de l'ADNmt et de l'ADNn ainsi que les profils d'expression des mtARNnc dans les échantillons de patients porteurs de variants pathogènes (symptomatiques et asymptomatiques) de manière à identifier les mécanismes épigénétiques qui pourraient être impliqués dans la régulation de l'expressivité de ces variants.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u> Nous disposons au laboratoire d'une large cohorte de fibroblastes issus de patients porteurs de variants pathogènes de l'ADNmt bien caractérisés d'un point de vue clinique, biochimique et métabolique (Desquiret-Dumas et al. 2019). Nous allons utiliser cette bio-collection pour étudier les modifications épigénétiques de l'ADNmt (10 lignées fibroblastiques de patients et 10 lignées contrôles dans un premier temps).</p> <p>La première partie de la thèse consistera à étudier le statut de méthylation de l'ADNmt chez ces patients par la technologie Nanopore de séquençage long fragments. Les profils de méthylation obtenus seront comparés en fonction du taux d'hétéroplasmie du variant ainsi que du statut clinique du patient (symptomatique ou non) et de la sévérité du déficit énergétique observé dans ces cellules. En fonction des résultats, des stratégies de modulation du statut de méthylation de l'ADNmt (par sur ou sous-expression de l'isoforme mitochondriale de la méthyltransférase DNMT1) pourront être employées pour déterminer si cela influe sur l'expressivité du variant.</p> <p>La seconde partie de la thèse portera sur l'étude des ARNnc dans les fibroblastes de patients. Pour cela, des expériences des RNAseq sur ARN totaux seront réalisées. Le laboratoire possède l'expertise et les moyens techniques permettant la réalisation et le traitement de données. Les profils d'expression des contrôles, des patients symptomatiques et asymptomatiques seront comparés de manière à déterminer la signature d'ARNnc propre aux différents groupes de patients. Selon les ARNnc mis en évidence, des stratégies d'inhibition d'expression de ces cibles par siRNA pourront être réalisées pour déterminer leur rôle dans l'expressivité des variants de l'ADNmt</p> <p>Enfin, le suivi de ces paramètres (méthylation de l'ADNmt et expression des ARNnc) sera également réalisé après traitement des fibroblastes avec différentes molécules thérapeutiques qui sont en cours d'étude au laboratoire</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Le/la candidat(e) devra posséder une bonne expérience en biologie moléculaire et en séquençage haut débit si possible. Il/elle devra également présenter un intérêt pour la bio-informatique (analyse des données de séquençage nanopore et RNAseq). Des connaissances en</p>		

physiologie mitochondriale seraient un plus.

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

Orre C, Dieu X, Guillon J, Gueguen N, Ahmadpour ST, Dumas JF, Khiati S, Reynier P, Lenaers G, Coqueret O, Chevrollier A, **Mirebeau-Prunier D**, **Desquiret-Dumas V**. The Long Non-Coding RNA SAMMSON Is a Regulator of Chemosensitivity and Metabolic Orientation in MCF-7 Doxorubicin-Resistant Breast Cancer Cells. *Biology (Basel)*. 2021 Nov 9;10(11):1156.

Bris C, Goudenège D, **Desquiret-Dumas V**, Gueguen N, Bannwarth S, Gaignard P, Rucheton B, Trimouille A, Allouche S, Rouzier C, Saadi S, Jardel C, Slama A, Barth M, Verry C, Spinazzi M, Cassereau J, Colin E, Armelle M, Pereon Y, Martin-Negrier ML, Paquis-Flucklinger V, Letournel F, Lenaers G, Bonneau D, Reynier P, Amati-Bonneau P, Procaccio V. Improved detection of mitochondrial DNA instability in mitochondrial genome maintenance disorders. *Genet Med*. 2021 Sep;23(9):1769-1778.

Desquiret-Dumas V, Leman G, Wetterwald C, Chupin S, Lebert A, Khiati S, Le Mao M, Geffroy G, Kane MS, Chevrollier A, Goudenège D, Gadras C, Tessier L, Barth M, Leruez S, Amati-Bonneau P, Henrion D, Bonneau D, Procaccio V, Reynier P, Lenaers G, Gueguen N. Warburg-like effect is a hallmark of complex I assembly defects. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019 Sep 1;1865(9):2475-2489.

Collaborations nationales et internationales :

Centre National de Référence sur les Maladies Mitochondriales dont notre laboratoire est membre

Laboratoire de Biologie Médicale de Référence (LBMR) sur les maladies mitochondriales sur le versant clinique de notre laboratoire

Réseau National des Laboratoires de Diagnostic des Maladies Mitochondriales (MitoDiag)

Dr Agnès Rötig, Institut Imagine, Paris

Dr Rodrigue Rossignol, Inserm U1211, Bordeaux

Dr Christophe Orssaud (Neuro-Ophtalmologie, Hôpital Européen Georges Pompidou)