

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé (50%) <input checked="" type="checkbox"/> Acquis (50%)	Origine du financement : ANR (Grant AID-G4-CSR)
Titre de la thèse : <b>Comment les G quadruplexes contrôlent le destin des cellules B / How G-quadruplexes control B-cell fate (G4BCF)</b>		3 mots-clés : Génétique et immunité / immunopathologie / immunothérapie
Unité/équipe encadrante : B Cell & Ig Remodeling Singularities (BIGReS) – UMR Inserm 1236 (Responsable : <b>Michel COGNÉ</b> )		
Directrice ou Directeur de thèse : <b>Michel Cogné / Brice Laffleur</b>		N° de tél : 02 23237004 / 0681262155 Mail : <a href="mailto:michel.cogne@inserm.fr">michel.cogne@inserm.fr</a> / <a href="mailto:brice.laffleur@inserm.fr">brice.laffleur@inserm.fr</a> Année des HDRs: 1992 / 2022
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>Lors des réponses immunes, les cellules B matures diversifient les loci d'immunoglobuline (Ig) par hypermutation somatique (HMS) et commutation isotypique (CI), et les exposent aussi à des recombinaisons de sélection négative. Ces remodelages génétiques sont initiés par l'enzyme AID qui cible des séquences transcrites riches en quadruplexes G (G4s). Bien que d'intérêt thérapeutique potentiel, le rôle précis des G4s dans la transcription, le ciblage d'AID vers HMS, CI ou recombinaisons non-classiques reste mal compris. Nous avons de plus découvert la présence d'ADN G4 à des positions inattendues des gènes d'Ig. Notre expertise de la biologie du développement B normal et pathologique, ainsi que des super-enhancers IgH contrôlant les remodelages de ce locus afférents nous aidera à élucider de nouveaux aspects du rôle de l'ADN G4 dans la lignée lymphoïde B.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p><b>Axe 1 : Rôle régulateur des répétitions d'ADN non classiques et des G4s dans le locus IgH humain.</b>  Nous avons récemment découvert de nouveaux types de recombinaison illégitime impliquant des G4s et entraînant la délétion de séquences critiques du locus IgH. En utilisant des lignées cellulaires et des cellules B primaires humaines, des ligands G4s et des outils préservant les ARNs riches en G4 de la dégradation, nous explorerons les rôles régulateurs des G4s dans la transcription, l'épissage alternatif et les recombinaisons des gènes d'Ig.</p> <p><b>Axe 2 : Les répétitions G4s et le "côté sombre" d'AID dans l'expression du locus IgH.</b>  Nous avons aussi documenté dans le locus IgH de la souris comme de l'homme des recombinaisons stoppant l'expression du locus (dites « LSR »), qui pourraient contribuer à l'homéostasie. En ciblant le stade furtif qui précède sélection négative et mort cellulaire, nous déterminerons comment des événements génétiques spécifiques impliquant les G4s régulent l'homéostasie B.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Exploration pharmacologique du rôle des G4s dans le locus IgH (usage de « G4-ligands »)</li> <li>- Stimulations B in vitro, cartographie des breakpoints de recombinaison par LAM-HTGTS/NGS</li> <li>- Génération de variants CRISPR délétés pour des régions riches en G4 DNA d'intérêt</li> <li>- Evaluation du phénotype résultant de délétions G4 expérimentales</li> <li>- Inactivation de la machinerie de dégradation des ARNs riches en G4s et impact physiologique</li> <li>- Répertoire des cellules B humaines induites vers la LSR</li> <li>- Single-cell analyse de cellules B induites vers la LSR</li> <li>- Analyse des données</li> <li>- Ecriture des articles scientifiques / participation à des meetings scientifiques (communication scientifique)</li> <li>- Préparation des projets post-doctoraux</li> <li>- Rédaction et soutenance</li> </ul>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le-la candidat-e (2 lignes) :</u></p> <p>Biologie cellulaire / biologie moléculaire / immunologie fondamentale / compétence ou au moins goût pour l'apprentissage bio-informatique, anglais</p>		

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

**RNA exosome drives early B cell development via noncoding RNA processing mechanisms.**

**B Laffleur**<sup>#</sup>, CR Batista, W Zhang, J Lim, B Yang, D Rossille, L Wu, J Estrella, G Rothschild, E Pefanis, Uttiya Basu.

*Science Immunology*, 2022, DOI: 10.1126/sciimmunol.abn2738 (<sup>#</sup> co-corresponding author)

**Noncoding RNA processing by DIS3 regulates chromosomal architecture and somatic hypermutation in B cells.**

**B Laffleur**, J Lim, W Zhang, Y Chen, E Pefanis, J Bizarro, CR Batista, L Wu, AN Economides, J Wang, U Basu.

*Nature Genetics*, 2021, DOI: 10.1038/s41588-020-00772-0

**Locus Suicide Recombination actively occurs on the functional IgH allele in B-cells from inflamed human lymphoid tissues.**

Dalloul I, Boyer F, Dalloul Z, Pignarre A, Lacombe G, Fest T, Chatonnet F, Delaloy C, Durandy A, Aldigier JC, Peron S, Cook-Moreau J, **M Cogné**.

*Plos Genetics*, 2019, DOI: 10.1371/journal.pgen.1007721

Collaborations nationales et internationales :

**Amine Khamlichi, IPBS, Toulouse,**

**Bernardo Reina, IGBMC, Strasbourg**

**Fred W Alt, Harvard Medical School, Boston**

**Uttiya Basu, Columbia University, New York**