

Formulaire de stage (sur une page maximum)
Parcours M2 GGBS 2022-23

Laboratoire : TaRGeT – INSERM UMR 1089

Intitulé/N° d'équipe : Next Generation Disease Models (ATIP-Avenir)

Nom-Prénom de l'encadrant : Jean-Baptiste Dupont

Courriel de l'encadrant : jean-baptiste.dupont@univ-nantes.fr

Titre du stage : Suivi de la différenciation myogénique de cellules souches pluripotentes *in process* par séquençage Nanopore

Résumé du projet proposé : Le séquençage de l'ARN classique permet d'analyser le transcriptome de manière exhaustive et sans *a priori*, mais repose principalement sur la lecture de reads courts et leur alignement sur un génome de référence. Malgré un débit de séquençage important, ces analyses restent coûteuses en temps et en argent, et ne permettent pas de discriminer les variants d'expression ou d'épissage provenant d'un même locus. A contrario, le séquençage de reads longs (plusieurs milliers de paires de bases) proposé par Oxford Nanopore Technologies offre une vision exhaustive des molécules d'ARN exprimées par un échantillon à un instant donné. Dans ce contexte, ce stage visera à accompagner le déploiement du séquençage Nanopore au laboratoire, en l'appliquant à la différenciation de cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSCs) en cellules de la lignée musculaire striée squelettique, pour la modélisation de maladies génétiques. Il comprendra deux objectifs principaux :

- Une analyse descriptive des premières données de séquençage ARN Nanopore récemment générées au laboratoire à partir de cellules hiPSC saines différenciées en cellules musculaires
- Une analyse comparative de ces résultats avec des données de RNA-Seq illumina classique en bulk et en single-cell, afin de mettre en évidence les avantages et intérêts de la technologie Nanopore

Ces deux objectifs seront menés en parallèle sur des cellules porteuses d'une mutation dans le gène *DMD* responsable de la myopathie de Duchenne, et sur des cellules contrôles. Ainsi, les dérégulations géniques résultant de l'état pathologique des cellules musculaires pourront être mises en évidence et caractérisées en relation avec des phénotypes morphologiques et fonctionnels. Cela pourrait également conduire à l'identification de nouveaux variants d'épissage spécifiques des cellules DMD, permettant ici aussi une description plus précise et une meilleure compréhension de l'état pathologique.