

Formulaire de stage (sur une page maximum)
Parcours M2 GGBS 2020-21

Laboratoire : L'institut du thorax

Intitulé/N° d'équipe : IIA

Nom-Prénom de l'encadrant : Lamirault Guillaume / Nathalie Gaborit

Courriel de l'encadrant : guillaume.lamirault@univ-nantes.fr / nathalie.gaborit@univ-nantes.fr

Titre du stage : Etude de la différenciation cardiaque des cellules souches pluripotentes induites humaines : application à l'étude des arythmies cardiaques

Résumé du projet proposé :

Les arythmies cardiaques, cause majeure des morts subites, sont liées à une dérégulation des propriétés électrophysiologiques des cellules cardiaques. La modélisation cellulaire de ces maladies a largement bénéficié du développement récent des cardiomyocytes dérivés de cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSCs). Ces cellules représentent une source non épuisable de tissu cardiaque humain et possèdent le patrimoine génétique des patients étudiés. Cependant les protocoles de différenciation cardiaque des hiPSCs ne permettent pas de produire des cellules cardiaques humaines avec un phénotype adulte, c'est-à-dire capables notamment de reproduire un fonctionnement électrique adulte normal. Plusieurs études ont pu mettre en évidence qu'au-delà de 30 jours de culture dans des conditions favorables à la différenciation cardiomyocytaire, il n'y avait que peu d'effet sur la poursuite de la différenciation des hiPSCs en cellules cardiaques. Ainsi, les cardiomyocytes actuellement obtenus à partir d'hiPSCs sont des cellules qui possèdent un phénotype très proche de cardiomyocytes au stade fœtal. Bien que les cardiomyocytes dérivés d'hiPSCs (hiPSC-CMs) soient un modèle prometteur, de nombreuses publications montrent que le statut fœtal de ces cellules est une limitation à l'étude des mécanismes physiopathologiques des maladies rythmiques complexes dans ce modèle. Le but de ce projet va être d'identifier les pistes nous permettant de caractériser puis de contourner cet obstacle pour, à terme, obtenir des cardiomyocytes avec un phénotype proche des cellules cardiaques humaines adultes.

Notre hypothèse de travail est qu'une étude comparative et approfondie (1) de la différenciation cardiaque d'hiPSCs issus de différents donneurs sains et (2) de cellules cardiaques matures humaines, permettra d'identifier les anomalies des voies moléculaires responsables de notre incapacité actuelle à obtenir des cardiomyocytes dérivés d'hiPSCs avec un phénotype adulte.

Caractérisation de la différenciation cardiaque des hiPSCs

Cet objectif sera réalisé par études conjointes (1) de l'expression des gènes, par des techniques haut-débit, et (2) du phénotype cellulaire, principalement centré sur l'activité électrique, par la technique haut-débit de patch-clamp automatique ((2) généré par d'autres membres de l'équipe).

L'étude du transcriptome sera menée à partir de l'approche RNA-seq sur les populations cellulaires hétérogènes obtenues lors de la culture ainsi que sur échantillons de tissus cardiaques humains adultes, et à partir de l'approche Single-Cell sur les populations cellulaires d'hiPSC-CMs. Des données préliminaires du laboratoire ont déjà identifié par des approches ciblées des différences de niveau d'expression de certains gènes, entre cardiomyocytes dérivés d'hiPSCs et tissu cardiaque adulte. L'utilisation de l'approche « omique » permettra d'avoir une vision globale du transcriptome de ces tissus/cellules et d'identifier de manière plus complète les altérations d'expression génique liées au statut de différenciation incomplète des cellules obtenues.

Identification de cibles

Une approche bio-informatique permettra ensuite d'intégrer ces différentes données pour relier paramètres électrophysiologiques altérés et modifications d'expression des gènes. Cette étape nous permettra d'identifier des cibles moléculaires importantes pour l'obtention d'un phénotype électrique cardiaque adulte et dont l'expression est dérégulée dans les cardiomyocytes dérivés d'hiPSCs.