

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

Laboratoire : **Unité de recherche de l'institut du thorax**, Inserm UMR 1087/CNRS UMR 6291

N° d'équipe : Equipe de Génétique Médicale

Nom-Prénom de l'encadrant : Betty Gardie

Courriel de l'encadrant : betty.gardie@univ-nantes.fr

Titre du stage: Etude fonctionnelle de mutations de gènes de la voie de l'hypoxie identifiées chez des patients atteints de polyglobulies héréditaires.

Résumé du projet proposé:

Le laboratoire travaille sur la voie de régulation de l'adaptation au manque d'oxygène (hypoxie) qui joue un rôle majeur dans la survenue de nombreuses pathologies. Nous travaillons plus particulièrement sur les polyglobulies (ou érythrocytoses) héréditaires caractérisées par un excès de production de globules rouges (lié principalement à la surexpression d'érythropoïétine (EPO)). Certains patients présentent des complications: hypertension artérielle pulmonaire, thromboses, et parfois développement de tumeurs. Le projet de stage portera sur l'étude fonctionnelle de mutations de gènes de la voie de l'hypoxie (*EPO*, *VHL*, *HIF2A*, *PHD2*) identifiées chez des patients atteints de polyglobulie avec ou sans complications. En fonction des mutations (changement de séquence protéique, modification de l'épissage) différents tests fonctionnels seront utilisés (surexpression de mutants, extinction de l'expression du gène par siRNA ou CRISPR, tests rapporteurs luciférases, "minigene splicing assay"). Une modélisation cellulaire de la pathologie est actuellement mise en place au laboratoire. Des cellules pluripotentes induites obtenues à partir d'urines de patients (UhiPS) sont différenciées en cellules productrices d'EPO. Des études de RNAseq, DGEseq, RT-qPCR seront réalisées sur ces cellules afin d'identifier les voies moléculaires altérées par les mutations.

Le but est d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans les polyglobulies et la survenue des complications. Nos outils cellulaires pourront également avoir un usage thérapeutique, l'EPO possédant de multiples propriétés (traitement des anémies, accidents vasculaires, diabète, obésité, maladies métaboliques).

Principaux articles du laboratoire en lien avec le sujet: (travaux dirigés par le tuteur scientifique, étudiants en Master puis thèse surlignés)

- Lenglet M, et al., 2018. "Identification of a new *VHL* exon and complex splicing alterations in familial erythrocytosis or von Hippel-Lindau disease". **Blood**. 2018 Aug 2;132(5):469-483.

Plenary paper.

- Couvé S, Ladroue C et al. "Genetic evidence of a precisely tuned dysregulation in the hypoxia signaling pathway during oncogenesis". **Cancer Research**, 2014 Nov 15;74(22):6554-64.

- Ladroue C et al. "Distinct deregulation of the hypoxia inducible factor by *PHD2* mutants identified in germline DNA of patients with polycythemia". **Haematologica**. 2012;97(1):9-14.

- Ladroue C et al. "A novel mutation in the *PHD2* gene associated with congenital polycythemia and recurrent paraganglioma: evidences for a potential tumor-suppressor effect". **New England Journal of Medicine**. 2008 Dec 18;359(25):2685-92.