

## Offre de thèse en neurodéveloppement et génétique humaine

Financement INSERM/Région Bretagne

Contact : Gaëlle Friocourt 02 98 01 83 87

Gaëlle.friocourt@univ-brest.fr

### Contexte socioéconomique et scientifique :

La trisomie 21 qui représente la cause de déficience intellectuelle (DI) d'origine génétique la plus fréquente, est provoquée par la présence de 3 copies d'une partie ou de la totalité du chromosome 21. Bien que d'importants progrès aient été réalisés dans la prise en charge des patients, il n'existe à ce jour aucun traitement médicamenteux pour la DI. Différentes études, visant à comprendre l'impact de la surexpression des différents gènes du chromosome 21, suggèrent qu'un nombre restreint de gènes pourraient être impliqués dans la DI. L'un d'entre eux, *CBS*, code la cystathionine  $\beta$ -synthase, enzyme intervenant dans la voie métabolique de la transsulfuration qui conduit à la synthèse de cystéine et de glutathion au détriment de la méthionine. Des molécules capables d'inhiber l'activité de CBS constitueraient donc des candidats médicaments intéressants pour améliorer, au moins en partie, les fonctions cognitives des patients. C'est pourquoi nous avons récemment développé un modèle levure surexprimant le gène *CYS4*, l'homologue de *CBS*, afin de cribler des chimiothèques à la recherche d'inhibiteurs de CBS. Grâce à cette approche, 3 molécules déjà utilisées chez l'homme pour d'autres pathologies ont été isolées. L'une de ces molécules a été testée *in vivo* sur des souris exprimant 3 copies du gène *Cbs* et s'avère capable de supprimer leurs défauts dans le test de reconnaissance d'objet (Maréchal *et al.*, Hum Mol Genet 2019).

### Hypothèses et questions posées :

L'impact de la surexpression de CBS sur le fonctionnement cognitif est pour l'instant mal compris. Nos travaux montrent qu'en levure, la surexpression de *CYS4* provoque une acidification du pH intracellulaire ainsi que des défauts d'endocytose et de trafic vésiculaire. Nous voulons maintenant valider ces résultats obtenus en levure sur différents modèles cellulaires et murins plus proches de la pathologie avec 3 objectifs : (i) déterminer si ces défauts de pH cytoplasmique et de trafic vésiculaire sont également retrouvés dans le modèle murin exprimant 3 copies du gène *Cbs* ainsi que dans des modèles cellulaires pour la trisomie 21, ce qui apporterait de nouvelles hypothèses physiopathologiques pour expliquer la DI associée à la triplication du gène *CBS* ; (ii) valider le potentiel thérapeutique de nos 3 candidats médicaments dans le modèle murin exprimant 3 copies du gène *Cbs* ainsi que dans des modèles cellulaires pour la trisomie 21, en particulier en testant leur effet sur le pH cytosolique et l'endocytose et (iii) investiguer la relation existant entre *CBS* et un autre gène impliqué dans la DI associée à la trisomie 21, le gène *DYRK1A*, afin de mieux adapter les stratégies thérapeutiques ciblant la surexpression de ces 2 gènes

### Grandes étapes de la thèse :

Comme il n'existe à ce jour aucun vrai modèle murin pour la trisomie 21 car l'ensemble des gènes du chromosome 21 chez l'homme est réparti sur 3 chromosomes différents chez la souris, nous prévoyons dans un premier temps de vérifier si les fibroblastes ou neurones issus du modèle souris de triplication de *cbs* présentent des défauts de pH cytoplasmique et d'endocytose. Puis dans un second temps, nous utiliserons 2 modèles cellulaires de trisomie 21, à savoir des fibroblastes et des neurones dérivés de cellules iPS (induced pluripotent stem cells, cellules souches induites dérivées de fibroblastes) de patients pour valider ces observations, non seulement dans un contexte cellulaire de trisomie 21 mais également dans un contexte neuronal. La seconde grande étape de la thèse sera de valider le potentiel thérapeutique de nos 3 candidats-médicaments. Comme ces 3 molécules restaurent de manière dose-dépendante les défauts de pH cytoplasmique de levures surexprimant *CYS4*, nous testerons leur effet sur le pH cytoplasmique, l'endocytose, le trafic vésiculaire ainsi que sur le niveau des différents intermédiaires métaboliques de la voie de transsulfuration à la fois dans des souris tripliquées *cbs* traitées ou non traitées et sur les modèles cellulaires de trisomie 21. Le

troisième objectif de la thèse sera de caractériser la relation entre *CBS* et le gène *DYRK1A* codant une kinase, et dont le dosage est également important pour le phénotype cognitif des patients atteints de trisomie 21. Plusieurs pistes thérapeutiques basées sur des inhibiteurs de cette kinase ont été développées. Il serait donc important de caractériser la relation fonctionnelle entre ces 2 gènes non seulement pour mieux comprendre l'impact de chacun dans le phénotype cognitif associé à la pathologie, mais aussi pour mieux adapter les stratégies thérapeutiques qui concernent ces 2 cibles. Nos résultats préliminaires montrent que la surexpression de *YAK1*, l'homologue de *DYRK1A* en levure est également responsable d'une acidification du pH intracellulaire, que la surexpression d'à la fois *YAK1* et *CYS4* a un effet additif sur la sévérité du phénotype, et que ces effets passeraient par la modulation de la voie TOR..

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat :

Le candidat devra avoir de solides compétences théoriques et pratiques en biologie moléculaire (sous-clonage, RT-qPCR, mutagenèse), biologie cellulaire et culture cellulaire. Il est cependant à noter que l'équipe d'accueil possède toutes les compétences pour former un/e étudiant/e aux différentes techniques citées dans ce projet. La personne recrutée devra avoir une forte motivation, un bon esprit d'équipe, de bonnes capacités de communication et d'adaptation et montrer une grande rigueur scientifique et technique.