

Campagne de recrutement 2020

**Titre du projet de Thèse**

Identification des biomarqueurs myogéniques et histologiques de cellules iPSC et organoïdes musculaires de patients FSHD suite à l'inactivation de DUX4 via CRISPR/Cas9

**Directeur de thèse (Responsable scientifique encadrant l'allocataire)**

Nom et prénom : Malfatti Edoardo

Equipe d'accueil doctorale à l'ED SVS (EAD de rattachement) : Equipe RELAIX - Biologie du système neuromusculaire IMRB-INSERM U955-E10

Adresse postale de l'équipe d'accueil : Faculté de Santé UPEC – 5ème étage  
8, rue du général Sarrail, 94010 Créteil

Téléphone : 0636963117

E-mail : edoardo.malfatti@gmail.com

**Co-Directeur de thèse ou Co-Encadrant de thèse sans HDR**

Nom et prénom :

Equipe d'accueil doctorale à l'ED SVS (EAD de rattachement) :

Adresse postale de l'équipe d'accueil :

Téléphone :

E-mail :

**Unité / laboratoire d'accueil**

Intitulé de l'unité/laboratoire : Equipe RELAIX - Biologie du système neuromusculaire IMRB-INSERM U955-E10 UPEC

Nom du Directeur de l'unité / laboratoire d'accueil : Jorge Bozckowski

## Contexte scientifique du projet et objectifs (0,5 page maximum)

*Arial 11, interligne simple*

La dystrophie musculaire FacioScapuloHumérale (FSHD) est la troisième myopathie la plus fréquente à l'âge adulte (prévalence 1 :20000). Cliniquement la FSHD se caractérise par l'atteinte sélective de certains groupes musculaires de la face, de la ceinture scapulaire et des muscles distaux des jambes alors que la cause génétique sous-jacente est présente dans tous les muscles squelettiques. La transmission est autosomique dominante et le défaut génétique touche des séquences répétées D4Z4 en position sub-télomérique du chromosome 4q35, contenant chacune une répétition du gène encodant le gène facteur de transcription *DUX4*. La réduction du nombre de répétitions en-dessous de 11 mène au démasquage du site de polyadénylation du *DUX4* terminal et sa production aberrante. Il est important de noter que les personnes qui n'ont pas de répétitions D4Z4 ne développent pas la maladie, ce qui fournit une preuve de principe pour la correction de la maladie en supprimant les répétitions D4Z4 chez les patients atteints de FSHD. La structure sub-télomérique du chromosome 4q35 contenant les répétitions D4Z4 et *DUX4* est spécifique des primates. L'expression ectopique de *Dux4* humain dans les modèles animaux non primates est toxique et ne permet pas de modéliser cette pathologie. La modélisation préclinique de la FSHD dépend de l'utilisation de myoblastes dérivés des biopsies musculaires, ou des cellules iPSC dérivés de différents tissus humains.

Le Dr Malfatti, en tant que clinicien et histopathologiste au Centre de Référence de Maladies Neuromusculaires suit activement une filière active de 40 patients avec FSHD et collabore activement avec l'Observatoire National Français de la FSHD, ce qui permet un accès direct aux données aux données cliniques et aux tissus (biopsies musculaires, myoblastes et fibroblastes) de sujets atteints de la FSHD.

Une approche prometteuse en cours de développement dans l'équipe INSERM U955-E10 du Pr Relaix consiste à utiliser le système CRISPR/Cas9 visant principalement à silencer *DUX4* et inhiber sa réactivation.

L'expertise et les outils de manipulation des iPSC sont en place dans l'équipe, ainsi que tout le soutien logistique pour les approches de biologie moléculaire et biophysique.

### Objectifs

1. Silencer *DUX4* grâce à élimination des répétitions D4Z4 avec la technique CrispR/Cas9 dans les iPSC et les organoïdes.
2. Evaluations multiparamétriques telles que l'activité myogénique, les biomarqueurs et l'évaluation biophysique effectuée dans les iPSCs et les organoïdes.
3. Comparaison des paramètres identifiés avec les marqueurs morphologiques altérés chez les biopsies musculaires des patients FSDH pour l'identification de outcomes mesures histologiques lors du transfert de la thérapie chez les patients.

## Compétences requises du candidat (5 lignes maximum)

*Arial 11, interligne simple*

Biologie Moléculaire  
Cultures cellulaires  
Histologie musculaire  
Teamwork

## Publications de l'équipe d'accueil de ces 5 derniers années en lien avec le projet (5 publications maximum)

Der Vartanian A, Quéting M, Michineau S, Auradé F, Hayashi S, Dubois C, Rocancourt D, Drayton-Libotte B, Szegedi A, Buckingham M, Conway SJ, Gervais M, Relaix F. (2019) PAX3 controls the adaptive response of skeletal muscle stem cells to environmental stress. *Cell Stem Cell*, pii: S1934-5909(19)30118-3. doi: 10.1016/j.stem.2019.03.019.

Reyes-Fernandez PC, Periou B, Decrouy X, Relaix F, Authier FJ. (2019) Automated image-analysis method for the quantification of fiber morphometry and fiber type population in human skeletal muscle. *Skelet Muscle*. 9(1):15. doi: 10.1186/s13395-019-0200-7.

Mademtoglou D, Asakura Y, Borok M, Alonso-Martin S, Mourikis P, Kodaka Y, Mohan A, Asakura A, Relaix F. (2018) Cellular localization of the cell cycle inhibitor *Cdkn1c* controls growth arrest of adult skeletal muscle stem cells. *Elife*. 7, pii: e33337. doi: 10.7554/eLife.33337.

Baghdadi MB, Castel D, Machado L, Fukada SI, Birk DE, Relaix F, Tajbakhsh S, Mourikis P. (2018) Notch/CollagenV/CalcR reciprocal signalling retains muscle stem cells in their niche. *Nature*, 557(7707):714-718. doi: 10.1038/s41586-018-0144-9.

Chal J, Oginuma M, Al Tanoury Z, Gobert B, Sumara O, Hick A, Bousson F, Zidouni Y, Mursch C, Moncuquet P, Tassy O, Vincent S, Miyanari A, Bera A, Garnier JM, Guevara G, Hestin M, Kennedy L, Hayashi S, Drayton B, Cherrier T, Gayraud-Morel B, Gussoni E, Relaix F, Tajbakhsh S, Pourquié O. (2015) Differentiation of pluripotent stem cells to muscle fiber to model Duchenne muscular dystrophy. *Nature Biotechnol.* 33, 962-9. doi: 10.1038/nbt.3297.