

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : ANR
Titre de la thèse : Etude de la fonctionnalité de la signalisation SHH dans un modèle de cellules notochordales générées à partir de cellules souches pluripotentes induites humaines Study of SHH signalling functionality in a model of notochordal cells generated from human induced pluripotent stem cells. See English summary below		3 mots-clés : Notochord ; Sonic Hedgehog signalisation ; Developmental disorders
Unité/équipe encadrante : INSERM UMR 1229 / RMeS - Regenerative Medicine and Skeleton, Equipe REJOINT " Regeneration and pathology of joints"		
Directeur de thèse : Anne CAMUS	N° de tél : 02 40 41 29 43 Mail : anne.camus@univ-nantes.fr	
<u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u> La notochorde est une structure mésodermique située le long de l'axe antéro-postérieur de l'embryon. Chez les vertébrés, elle joue un rôle central dans la régionalisation dorso-ventrale du système nerveux et dans le développement de la colonne vertébrale. La notochorde est définie comme une structure de signalisation impliquée dans la coordination des destins cellulaires des tissus embryonnaires environnants, via la sécrétion de la protéine Sonic Hedgehog (SHH). La génétique est la principale composante des anomalies de la ligne médiane du cerveau antérieur qui se manifestent par une séparation incomplète des hémisphères cérébraux. Ce phénotype est d'autant plus sévère que l'activité de la voie SHH est perturbée. L'inaccessibilité des tissus embryonnaires affectés, la notochorde et le neuroectoderme, est un obstacle majeur à la connaissance approfondie des mécanismes physiopathologiques et à l'amélioration du diagnostic moléculaire chez l'homme. Les modèles expérimentaux basés sur la différenciation des cellules souches pluripotentes induites humaines (iPSC) sont essentiels pour étudier les aspects moléculaires et fonctionnels clés des troubles du développement survenant au cours de l'embryogenèse et liés au rôle de signalisation de la notochorde.		
<u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u> Nous faisons l'hypothèse que des approches de différenciation d'iPSC en tissus physiologiques pertinents permettront de surmonter ces limitations en récapitulant les caractéristiques du développement et de la fonction des tissus afin de modéliser des maladies. De plus ces approches se prêtent facilement à la perturbation des voies de signalisation (addition d'agoniste ou d'inhibiteur) et à l'édition du génome. L'objectif principal de ce travail consistera à évaluer les effets délétères de mutations affectant le niveau d'activité SHH, et en particulier la régulation de la sécrétion de SHH par le gène <i>DISP1</i> , pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires et fonctionnels en lien avec le rôle signalisant de la notochorde.		
<u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u> 1- Etudier les étapes de différenciation des cellules de notochorde dérivées d'hiPSC en s'appuyant sur nos travaux de RNAseq sur cellule unique afin de modéliser le tissu notochordal (modèle organoïde) et sa fonction de sécrétion du morphogène SHH. 2- Evaluer l'impact fonctionnel de perturbations de l'activité SHH, (i) par ajouts d'inhibiteur ou d'activateur de la voie et (ii) via l'analyse de mutations incluant des variants <i>DISP1</i> , en utilisant le modèle de différenciation <i>in vitro</i> . Les anomalies de sécrétion de SHH par la notochorde seront étudiées. 3- Décrypter comment la modulation de la fonction moléculaire de <i>DISP1</i> dans des cellules notochordales se traduit par des niveaux de sécrétion de SHH variables et génère une diversité phénotypique. La réponse cellulaire à ces variations sera examinée en particulier dans le devenir des cellules du neuroectoderme via l'analyse du transcriptome (par séquençage ARN).		
<u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Biologie cellulaire et moléculaire, Biologie du développement, Biologie des cellules souches, Biochimie, Stratégies Omiques		
<u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u> 1- Warin1, J., Vedrenne1, N., Tam, V., Zhu, M., Yin, D., Lin, X., Guidoux-D'halluin, B., Humeau, A., Roseiro, L., Paillat, L., Chédeville, C., Chariau, C., Riemers, F., Templin, M., Guicheux, J., Tryfonidou, M.A., Ho, J.W.K., David, L., Chan, D., and Camus, A. (2024). <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> models define a molecular signature reference for human embryonic notochordal cells, <i>iScience</i> https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109018 . 1 : Contribution équivalente 2- Paillat L, Coutant K, Dutilleul M, Le Lay S, Camus A. Three-dimensional culture model to study the biology of vacuolated notochordal cells from mouse nucleus pulposus explants. <i>Eur Cell Mater</i> . 2023 Mar 3; 45:72-87. doi: 10.22203/eCM.v045a06. 3- Colombier P., Halgand B., Chédeville C., Chariau C., François-Campion V., Kilens S., Vedrenne N., Clouet J., David L1, Guicheux J1 and Camus A1*. (2020). NOTO Transcription Factor Directs Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesendoderm Progenitors to a Notochordal Fate. <i>Cells</i> 9: 509-533. 1 : Contribution équivalente. *corresponding author. DOI: 10.3390/cells9020509.		
<u>Collaborations nationales et internationales :</u> - Laurent David, CRTI, UMR 1064, PFI-PSC-DTC SFR François Bonamy, Nantes - Valérie Dupé, IGDR, Rennes - Sylvie Schneider- Maunoury, UMR 7622, Institut de IBPS, Paris - Guillaume Blin, Sch of Biological Sciences, University of Edinburgh, Ecosse - Danny Chan, The Hong Kong University, School of Biomedical Sciences, Hong Kong - Cheryle Seguin, University of Western Ontario, Canada		

English summary :

The project: Study of SHH signalling functionality in a model of notochordal cells generated from human induced pluripotent stem cells.

Funded by the French Research Agency (ANR), the collaborative research project DISPHPE focuses on the notochord, a signalling structure, that plays a key role in the dorso-ventral regionalisation of the central nervous system and in the development of the spine. The secretion of the protein Sonic Hedgehog (SHH) by the notochord is essential for the coordination of cell fates of surrounding embryonic tissues and in particular of the ventral midline structures in the head. Genetics is the main component of forebrain midline defects, with alterations leading to a decrease in the SHH pathway. The inaccessibility of the affected tissues, i.e., neuroectoderm and notochord, is a major obstacle to in-depth knowledge of pathophysiological mechanisms and improved molecular diagnosis in humans. Our work aims to recapitulate the developmental characteristics and function of tissues in order to model diseases related to a defect arising early during embryogenesis. To succeed tissues affected in brain midline defects, will be modelled using human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) differentiated in vitro. HH signaling pathway alterations will be recapitulated by modulating SHH activity in vitro by exogenous treatment and by using genome editing technology. The overall experimental design (pluripotent stem cell differentiation in 2D and 3D culture, quantitative expression analysis, high-throughput transcriptomic analysis, single cell technology, immunofluorescence, confocal imaging) will reveal key molecular and functional aspects of developmental disorders related to the signaling role of the notochord.

We are looking for a highly motivated applicants for a PhD with background and experimental skills in stem cell biology and /or developmental biology to join the « Stem Cells and Axial Skeleton Development » group, <https://rmes.univ-nantes.fr/research-teams/rejoint> at the UMR 1229-RMeS lab, in Nantes.

To apply BEFORE May 20st : Interested candidates are invited to submit a single PDF with a brief statement of research interests, past scientific experiences and a CV and contact details for at least two references to anne.camus@univ-nantes.fr
Please contact us for informal enquiries to discuss the position.