

Formulaire de stage (sur une page maximum)
Parcours M2 GGBS 2022-23

Laboratoire : CR2TI ITUN Equipe iTHINK

Intitulé/N° d'équipe : Equipe iTHINK

Nom-Prénom de l'encadrant : Lucile Figueres

Courriel de l'encadrant : lucile.figueres@chu-nantes.fr

Titre du stage :

Recherche de gènes candidats dans le diabète phosphaté, une maladie rare responsables de calculs rénaux et de néphrocalcinose

Résumé du projet proposé :

Le diabète phosphaté est une entité génétique rare, définie par une hypophosphatémie rénale associée à une hypercalciurie par hypervitaminose D et une maladie lithiasique rénale pouvant parfois se compliquer d'une néphrocalcinose, d'une insuffisance rénale chronique et d'une ostéoporose. L'inactivation d'un des trois gènes suivants, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*, codant respectivement pour les protéines : NPT2a, NPT2c, NHERF1, exprimées dans le tubule contourné proximal, site responsable de la réabsorption du phosphate est responsable d'une proportion importante de diabètes phosphatés. Cependant, une majorité de patients reste sans diagnostic génétique. Récemment, les explorations par l'étude d'exomes ont mis en évidence un nouveau gène *SGK3* codant pour la protéine du même nom (Serum and glucocorticoid related kinase 3) impliquée dans l'expression du transporteur du phosphate NPT2a.

Après avoir réalisé des séquençages d'exomes chez 26 patients suivis au Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, de l'Hôpital européen Georges-Pompidou et les Hospices civils de Lyon, nous avons identifié de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans le diabète phosphaté. Un des gènes candidats (muté chez trois patients) nous a paru particulièrement intéressant car son inactivation partielle dans un modèle murin (knock-down) reproduit un phénotype proche du phénotype humain du diabète phosphaté. L'inactivation de ce gène n'a, jusqu'à présent, jamais été décrite chez l'Homme. Expérimentalement, l'inactivation de ce gène d'intérêt sur des cellules humaines RPTEC (Renal Proximal Tubule Epithelial Cells) par ARN interférent ciblé (siRNA) a permis une réduction de 88% de l'expression de la protéine correspondante et une diminution significative de la réabsorption du phosphate sans altération de la viabilité et de la prolifération cellulaire. Ces résultats préliminaires laissent suggérer que ce gène, joue bien un rôle dans la pathogénie du diabète phosphaté.

L'étape suivante, réalisée dans le cadre du Master 2, consiste en une mutagenèse directe du gène candidat grâce à la technologie CRISPR/Cas9 afin de confirmer le caractère pathogène des mutations trouvées dans la cohorte initiale. Nous utiliserons la lignée cellulaire RPTEC/TERT1 pour reproduire les trois mutations. La réabsorption de phosphate, l'expression des différents transporteurs de phosphate, la réponse à la PTH et au FGF23 (agents phosphaturiants) seront évaluées sur ces cellules pour préciser les voies de régulation dans la cellule proximale. Des expériences similaires utilisant les mêmes techniques pourront compléter le projet pour d'autres gènes candidats.