

MASTER 2 BMC
PARCOURS GENOPATH
ANNEE 2024-2025

Titre :
**Évaluation fonctionnelle *in vivo* de variants de
KCNH2/hERG chez *C. elegans***

Nom, adresse de l'unité d'accueil / Nom du responsable de l'unité :

Unité MeLiS (MÉCANISMES EN SCIENCES INTÉGRATIVES DU VIVANT), Université Claude Bernard Lyon 1

Institut NeuroMyoGène - Faculté de Médecine et de Pharmacie - 3^{ème} étage, 8 avenue Rockefeller, 69008 LYON

Directeur Jean-Louis Bessereau

Nom, adresse de l'équipe d'accueil / Nom du responsable d'équipe :

Neurobiologie moléculaire et cellulaire de *C. elegans*/ Molecular and cellular neurobiology of *C. elegans*.

Faculté de Médecine et de Pharmacie - 3^{ème} étage, 8 avenue Rockefeller, 69008 LYON

Team leader : Thomas BOULIN

Nom, tel, adresse e-mail de l'encadrant de stage :

ANDRINI Olga (Maitre de conférences UCBL)

tel: +33 (0)4 26 68 82 82, Faculté de Médecine et de Pharmacie - 3^{ème} étage, 8 avenue Rockefeller, 69008 LYON

email : olga.andrini@univ-lyon1.fr

Sujet de stage :

Le syndrome du QT long congénital (LQTS) est une affection héréditaire responsable de mort subite chez des individus jeunes. Touchant 1/2000 naissances, ce syndrome est la canalopathie héréditaire la plus fréquente au monde. À ce jour, 16 gènes ont été associés à ce syndrome. Parmi eux, 30 à 45% des cas sont dus à des variants de *KCNH2*. Ce gène code un canal potassique sensible au voltage (hERG) qui est responsable du courant principal durant la phase de repolarisation des cardiomyocytes (1). La perte de fonction (LOF) de hERG entraînent une prolongation de la repolarisation qui peut induire des arythmies ventriculaires fatales. La majorité des variants LOF sont classés comme "variants de signification incertaine" ou "VSI" (39 %, ClinVar). Parmi ces VSI, 77 % sont des modifications d'un seul acide aminé.

Grâce à l'étroite collaboration avec les cliniciens du Centre National de Référence des Troubles Héréditaires du Rythme Cardiaque (CERA, Lyon), nous venons de publier un article de recherche clinique et fonctionnelle d'un variant hERG de signification inconnue (VSI)(2). Dans la continuité de cette première étude, nous développerons une stratégie originale d'exploration fonctionnelle de variants du gène *KCNH2 in vivo* afin d'identifier le mécanisme

moléculaire à la base du défaut fonctionnel du canal en utilisant *C. elegans* comme modèle animal.

Grace à la technique CRISPR/Cas9 nous avons déjà généré des lignées knock-in spécifiques de chaque patient constituant un point de départ idéal pour analyser l'impact des mutations dans un contexte cellulaire natif.

L'analyse se fera par des tests fonctionnels des variants *KCNH2 in vivo* chez *C. elegans* (ponte et stade des œufs générés ; mouvements et morphologie des vers)(3).

Nous avons d'ores et déjà généré une lignée knock-in dans laquelle les canaux hERG/UNC-103 sont marqués avec la protéine fluorescente rouge wrmScarlet, il sera donc possible de quantifier le trafic de UNC-103/hERG *in vivo* par imagerie confocale.

Modèle et techniques utilisées :

Animal model : *C. elegans*

Main techniques :

- daily handling of *C. elegans* strains and basic genetic
- CRISPR/Cas9 microinjection to generate knock-in strains
- Confocal microscopy and image analysis
- Molecular biology, Gibson cloning and PCR

Publications d'intérêt :

1. M. K. B. Jonsson, M. A. G. van der Heyden, T. A. B. van Veen, Deciphering hERG channels: Molecular basis of the rapid component of the delayed rectifier potassium current. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 53, 369–374 (2012).
2. A. Delinière, *et al.*, Functional and clinical characterization of a novel homozygous KCNH2 missense variant in the pore region of Kv11.1 leading to a viable but severe long-QT syndrome. *Gene* 897, 148076 (2024).
3. K. M. Collins, M. R. Koelle, Postsynaptic ERG Potassium Channels Limit Muscle Excitability to Allow Distinct Egg-Laying Behavior States in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Neuroscience* 33, 761–775 (2013).