

# Avis de Soutenance

Madame Florence RICCARDI

Biologie-Santé - Spécialité Génétique

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Maladies rares du neurodéveloppement : contribution à la description de nouveaux variants pathogènes et au développement d'une thérapie à ARN, pour le variant p.(Thr274Met) du gène KCNQ2*

dirigés par Monsieur Laurent VILLARD

Soutenance prévue le **vendredi 14 juin 2024** à 14h00

Lieu : Faculté des sciences médicales et paramédicales Aix-Marseille Université Campus La Timone, bâtiment Cerimed 27 bd Jean Moulin - 13005 Marseille

Salle : Cerimed

## Composition du jury proposé

M. Laurent VILLARD	Aix Marseille Université	Directeur de thèse
Mme Sarah WECKHUYSEN	Université d'Anvers	Rapporteuse
M. Vincent CANTAGREL	Université Paris Cité, Paris	Rapporteur
M. Mathieu MILH	Aix-Marseille Université	Président
Mme Laurence COLLEAUX	Aix-Marseille Université	Invitée

**Mots-clés :** trouble du neurodéveloppement (TND), Déficience intellectuelle (DI), encéphalopathie développementale et épileptique, KCNQ2, Recherche préclinique, ARN interférent (siRNA; shRNA)

## Résumé :

Les troubles du neurodéveloppement (TND) sont des pathologies de l'enfant qui affectent le système nerveux et ont un retentissement important sur son développement normal. Cette définition inclut un éventail large de maladies rares d'origine génétique dont la déficience intellectuelle (DI) et l'encéphalopathie développementale et épileptique (DEE). La grande majorité des patients n'ont pas de diagnostic étiologique ni de traitement curatif. Quand le gène est connu, la prise en charge diagnostique et thérapeutique est souvent compliquée par une grande hétérogénéité clinique et moléculaire. La première partie de mon projet contribue à la description de nouveaux variants pathogènes responsables de TND. L'identification du variant faux-sens homozygote p.(Val606Gly) dans le gène PCDHGC4 chez 3 enfants d'une même fratrie atteints d'une DI sévère et la participation à une collaboration internationale ont permis la première description d'une pathologie humaine liée au cluster des gènes PCDHG. L'identification du variant non-sens homozygote p.(Gln123Ter) dans le gène TRAPPC2L chez 2 enfants d'une même fratrie atteints d'une DI syndromique sévère a confirmé la relation gène- pathologie et précisé le phénotype associé. La deuxième partie de mon projet est dédiée au développement d'une thérapie à ARN pour le variant faux-sens hétérozygote p.(Thr274Met) du gène KCNQ2 qui est responsable d'une forme sévère et précoce de DEE. Plusieurs molécules ont été testées (siARN, shRNA et ASO) dans la lignée cellulaire



CHO et des progéniteurs neuronaux dérivés d'iPSC de patients. Une molécule candidate a pu être sélectionnée et testée dans le modèle souris knock-in Kcnq2 p.(Thr274Met) mis au point par l'équipe. Les résultats de ce travail contribuent à augmenter les connaissances médicales et scientifiques pour améliorer la prise en charge des patients atteints de TND.

**LE DOYEN**  
  
**Georges LEONETTI**



# Résumé

Les troubles du neurodéveloppement (TND) sont des pathologies de l'enfant qui affectent le système nerveux et ont un retentissement important sur son développement normal. Cette définition inclut un éventail large de maladies rares d'origine génétique dont la déficience intellectuelle (DI) et les encéphalopathies développementales et épileptiques (DEE). La grande majorité des patients n'ont pas de diagnostic étiologique ni de traitement curatif. Quand le gène est connu, la prise en charge diagnostique et thérapeutique est souvent compliquée par une grande hétérogénéité clinique et moléculaire. La première partie de mon projet contribue à la description de nouveaux variants pathogènes responsables de TND. L'identification du variant faux-sens homozygote p.(Val606Gly) dans le gène *PCDHGC4* chez 3 enfants d'une même fratrie atteints d'une DI sévère et la participation à une collaboration internationale ont permis la première description d'une pathologie humaine liée au cluster des gènes *PCDHG*. L'identification du variant non-sens homozygote p.(Gln123Ter) dans le gène *TRAPPC2L* chez 2 enfants d'une même fratrie atteints d'une DI syndromique sévère a confirmé la relation gène-pathologie et précisé le phénotype associé. La deuxième partie de mon projet est dédiée au développement d'une thérapie à ARN pour le variant faux-sens hétérozygote p.(Thr274Met) du gène *KCNQ2* qui est responsable d'une forme sévère et précoce de DEE. Plusieurs molécules ont été testées (siARN, shRNA et ASO) dans la lignée cellulaire CHO et des progéniteurs neuronaux dérivés d'iPSC de patients. Une molécule candidate a pu être sélectionnée et testée dans le modèle souris knock-in *Kcnq2* p.(Thr274Met) mis au point par l'équipe. Les résultats de ce travail contribuent à augmenter les connaissances médicales et scientifiques pour améliorer la prise en charge des patients atteints de TND.

Mots clés : TND ; DI ; DEE ; *PCDHGC4* ; *TRAPPC2L* ; *KCNQ2* ; shRNA ; siRNA ; ASO.

# Abstract

Neurodevelopmental disorders (NDD) are pathologies in children that affect the nervous system and have a significant impact on the normal development. This definition includes a wide range of rare genetic diseases, including intellectual disability (ID) and developmental and epileptic encephalopathies (DEE). Most patients don't have etiological diagnosis nor curative treatment. When the gene is known, diagnostic and therapeutic management is often complicated by high clinical and molecular heterogeneity. The first part of my work contributes to the description of novel pathogenic variants causing NDD. The identification of the homozygous missense variant p.(Val606Gly) in the *PCDHGC4* gene in 3 siblings with severe intellectual disability, and involvement in an international collaboration, allowed the first description of a human pathology linked to the cluster of *PCDHG* genes. The identification of the homozygous nonsense variant p.(Gln123Ter) in the *TRAPPC2L* gene in 2 siblings with severe syndromic intellectual disability confirmed the gene-pathology relationship and better define the associated phenotype. The second part of my work is dedicated to the development of a RNA-based therapy for the heterozygous p.(Thr274Met) missense variant of the *KCNQ2* gene, which is responsible for a severe and early-onset developmental and epileptic encephalopathy. Several molecules were tested (small interfering RNA, small hairpin RNA and antisense oligonucleotides) in the CHO cell line and in patient's neural progenitors derived from induced pluripotent stem cells (iPSC). One candidate was selected and tested in the Kcnq2 p.(Thr274Met) knock-in mouse model developed by the team. The results of this work increase medical and scientific knowledge to improve the management of patients with neurodevelopmental disorders.

Key words: NDD; ID; DEE; *PCDHGC4*; *TRAPPC2L*; *KCNQ2*; ARNi; shRNA; siRNA; ASO.