

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA

N° d'équipe : 11

Nom-Prénom de l'encadrant : Pellat Catherine

Courriel de l'encadrant : catherine.pellat-deceunynck@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Maxence Bauvais (Interne Biologie)

Titre du stage : Caractérisation transcriptionnelle et fonctionnelle de délétion ou mutation de p53 dans un contexte isogénique

Résumé du projet proposé :

Les anomalies du gène TP53 (délétion chromosomique, mutations somatiques) restent un facteur de résistance majeur aux thérapies en cancérologie malgré l'introduction de nouvelles classes de médicaments (thérapies ciblées, anticorps monoclonaux ou bispécifiques, cellules T modifiées..). Bien que l'impact des mutations soient plus péjoratif que celui des délétions, les mécanismes moléculaires supportant cette différence restent encore peu clairs. Pour mieux caractériser l'impact des anomalies de p53, nous avons obtenu à partir de deux lignées différentes de myélome exprimant une protéine p53 sauvage, plusieurs lignées isogéniques par la technologie CRISPR/Cas9 qui ne diffèrent de leur lignée parentale que par la séquence de *TP53* et l'expression de la protéine p53 sauvage ou mutante.

L'objectif de ce stage est de caractériser ces lignées isogéniques de myélome qui ont été modifiées à partir de deux lignées différentes pour ne plus exprimer de protéine p53 sauvage (KO) ou pour exprimer une protéine p53 mutante sur le codon R175 ou R273 (KI). La caractérisation de ces 8 lignées consistera en particulier à comparer leur profil d'expression et leur activité mitochondriale entre elles et avec leur lignée parentale respective en fonction de l'expression et de la séquence de p53. Le profil d'expression sera établi par une analyse de RNASeq des lignées isogéniques en comparaison avec les lignées parentales et entre elles et visera à définir si ces mutants conformationnel ou de liaison à l'ADN impactent différemment l'activité transactivatrice de p53. La modification de l'expression des gènes identifiés sera validée par Q-RT-PCR. L'impact des modifications de p53 sur le métabolisme cellulaire sera notamment mesuré par la technologie Seahorse (activité métabolique mitochondriale) et celui sur le priming mitochondrial par la mesure de la dépolarisation mitochondriale (cytométrie en flux).

Option à laquelle est associée ce projet :

Immunologie-Cancérologie

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA

N° d'équipe : 11

Nom-Prénom de l'encadrant : Pellat Catherine

Courriel de l'encadrant : catherine.pellat-deceunynck@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : non

Titre du stage : Identification par analyse protéomique de protéines associées à p53 sauvage ou mutante(s)

Résumé du projet proposé :

Les anomalies du gène TP53 (délétion chromosomique, mutations somatiques) restent un facteur de résistance majeur aux thérapies en cancérologie malgré l'introduction de nouvelles classes de médicaments (thérapies ciblées, anticorps monoclonaux ou bispécifiques, cellules T modifiées..). Bien que l'impact des mutations soient plus péjoratif que celui des délétions, les mécanismes moléculaires restent encore peu clairs, p53 ayant des interactions avec l'ADN dans le noyau (activité transcriptionnelle) et des protéines dans le cytoplasme/mitochondrie (régulation de l'apoptose).

Pour identifier les partenaires protéiques de p53 dans un contexte cellule où seule la protéine p53 a été modifiée, nous avons obtenu à partir de 2 lignées différentes de myélome exprimant une protéine p53 sauvage, plusieurs lignées isogéniques par la technologie CRISPR/Cas9 qui ne diffèrent de leur lignée parentale que par la séquence de *TP53* et l'expression ou pas de la protéine p53 sauvage ou d'une protéine mutante.

L'objectif de ce stage est de caractériser le profil protéique des complexes protéiques de p53 dans ces lignées isogéniques de myélome qui ont été modifiées pour exprimer une protéine p53 mutante sur le codon R175 ou R273.

La présence et l'abondance de protéines associées à p53 sauvage et /ou mutante(s) sera définie par une analyse protéomique globale (analyse à haut débit effectuée par la plateforme prot'ICO) après immuno-précipitation de p53 sauvage ou mutante(s) dans le contexte des deux lignées différentes et dans les différents compartiments subcellulaires où est localisée p53 (mitochondrie, noyau, cytoplasme).

Option à laquelle est associée ce projet :

Immunologie-Cancérologie

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : **CRCI2NA**

N° d'équipe : **Equipe 9 CHILD (Chromatin and transcriptional Deregulation in pediatric bone sarcoma) chef d'équipe B. Ory**

Nom-Prénom de l'encadrant : **Benjamin Ory**

Courriel de l'encadrant : **benjamin.ory@univ-nantes.fr**

Candidat pressenti : **Angèle Palièrne**

Titre du stage : **Aspects Epigénétiques du développement de tumeurs Osseuses primitives**

Résumé du projet proposé :

L'ostéosarcome est la plus fréquente des tumeurs osseuses primitives affectant les enfants et les jeunes adultes (pic d'incidence entre 15 et 19 ans). Le traitement actuel de cette pathologie cancéreuse consiste en une ablation de la tumeur, associée à une polychimiothérapie. Malheureusement dans de nombreux cas, une absence de réponse aux drogues antitumorales est observée, ce qui peut provoquer alors le développement de métastases puis le décès du patient. Ainsi, le taux de survie à 5 ans est de 65% pour les ostéosarcomes non métastatiques et de seulement 20% dans le cas où des métastases sont détecté au diagnostic. Ces statistiques font de la dissémination métastatique une cible clé dans la lutte contre l'ostéosarcome.

La dissémination métastatique est un processus d'une extrême complexité composée d'une multitude d'étapes allant de l'intravasation des cellules primaires jusqu'à la prolifération en site secondaire distant après un passage par la circulation générale. La survie des cellules tumorales à travers toutes ses étapes requière de leur part une grande adaptabilité, dans un laps de temps relativement court, ce qui correspond parfaitement à un mécanisme épigénétique. Afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients, nous proposons d'explorer la possible origine épigénétique de la dissémination métastatique de l'ostéosarcome.

Notre équipe a récemment démontré l'implication des protéines à bromodomains (BET) dans la survie des ostéosarcomes. De plus, de récents travaux indiquent que ces protéines semblent se localiser sur l'ADN au niveau de régions régulatrices (Super-Enhancer) de gènes indispensables au développement tumoral, et de manière générale au niveau de tous les gènes dont l'activité transcriptionnelle est indispensable à la fonction cellulaire, qu'elle soit physiologique ou pathologique. Nous proposons d'étudier en détail les localisations exactes des protéines BET sur l'ADN des cellules métastatiques issues d'ostéosarcomes afin de localiser de potentiels gènes impliqués dans les différentes étapes de la dissémination. Notre objectif final est d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques dans l'espoir de développer des protocoles adaptés améliorant le pronostic des patients.

Option à laquelle est associée ce projet :

X Immunologie-Cancérologie

Formulaire de stage
-(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA

N° d'équipe : Equipe 9 CHILD

Nom-Prénom de l'encadrant : BAUD'HUIN Marc

Courriel de l'encadrant : marc.baudhuin@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Etude des effets de l'inhibition de l'ARN polymérase I dans les ostéosarcomes.

Résumé du projet proposé :

L'ostéosarcome est la tumeur osseuse primitive la plus fréquente touchant principalement les enfants et adolescents. Bien que le taux de rémission après traitement soit assez élevé, le taux de survie baisse chez les patients faisant une rechute ou présentant des métastases. De nombreuses études portent actuellement sur les volets génétique et épigénétique à la fois sur la physiopathologie de la tumeur primaire ou des métastases qui en découlent. Paradoxalement, les phénomènes de traduction ne sont que peu étudiés alors que les ribosomes sont considérés comme des nouveaux « drivers » oncogéniques. Aussi, la genèse des ribosomes débute, entre autres, par la formation des ARN ribosomiaux (rARNs). Le rARN 47s est le résultat de l'activité de transcription de l'ARN polymérase I. Dans la plupart des cancers, l'activité transcriptionnelle de l'ARN Pol I est régulée à la hausse et dirige la biogénèse des ribosomes et la synthèse ultérieure des protéines. Des niveaux élevés de synthèse protéique sont nécessaires pour maintenir une croissance et une prolifération accrues des cellules cancéreuses. Ainsi, des stratégies d'inhibition de la transcription de l'ARN polymérase I ont été développées et constituent une excellente cible contre la croissance tumorale.

Ce projet a donc pour but d'étudier l'intérêt de l'inhibition de l'ARN polymérase I dans le traitement des ostéosarcomes que ce soit sur les formes primitives, résistantes aux traitements conventionnels et sur les formes métastatiques.

Ce projet vise à étudier les effets biologiques de l'inhibition de l'ARN polymérase sur des lignées cellulaires d'ostéosarcomes par différentes drogues

Nous évaluerons la croissance cellulaire, les capacités clonogéniques des cellules d'ostéosarcomes. Nous mesurerons la capacité des traitements à inhiber la migration et à resensibiliser des lignées cellulaires résistantes aux traitements actuels. Enfin, nous étudierons les effets des traitements sur la croissance tumorale d'un modèle murin d'ostéosarcome ainsi que sur le développement de métastases.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : Biologie du Vieillissement (<http://the-laurent-lab.com/>)

Nom-Prénom de l'encadrant : LAURENT Benoit

Courriel de l'encadrant : benoit.laurent@usherbrooke.ca

Candidat pressenti : Non

Titre du stage : Étude des fonctions de LSD1 dans le développement du cancer

Résumé du projet proposé :

LSD1 (Lysine-Specific Demethylase 1) est une enzyme qui agit sur les histones en éliminant les groupes méthyles sur les queues des histones. Ce faisant, LSD1 régule l'expression de nombreux gènes importants pour la prolifération cellulaire. Une expression aberrante de LSD1 a été mise en évidence dans de nombreux types de cancers (neuroblastome, leucémie, cancers du sein, du poumon ou colorectal) par rapport aux tissus sains correspondants.

Dans les cellules, l'épissage alternatif du gène LSD1 produit un ARNm contenant un exon supplémentaire (exon 2a). Ce transcrite LSD1+2a code pour une protéine isoforme LSD1 contenant un nouveau domaine de 20 acides aminés. Cette isoforme LSD1+2a est exprimée dans tous les types cellulaires et représente environ 30% des protéines LSD1. Nous avons identifié l'isoforme LSD1+2a comme potentiellement importante pour la régulation du cycle cellulaire et la ségrégation des chromosomes. L'objectif global du projet sera de comprendre l'implication de l'isoforme LSD1+2a dans le développement du cancer.

Objectif 1. Étudier les fonctions cellulaires LSD1+2a. Nous réaliserons des expériences de gain et de perte de fonction pour explorer le rôle de LSD1+2a dans le maintien de l'intégrité des chromosomes au cours du cycle cellulaire

Objectif 2. Caractérisation de l'interactome LSD1+2a. Nous caractériserons l'interactome LSD1+2a au cours du cycle cellulaire en utilisant la spectrométrie de masse.

Objectif 3. Déchiffrer les fonctions moléculaires LSD1+2a. Nous étudierons les sites de recrutement de LSD1+2a au niveau du génome et nous vérifierons si LSD1+2a a une activité enzymatique similaire à LSD1.

Les tâches de l'étudiant.e comprendront la manipulation de lignées cellulaires cancéreuses, le gain et la perte d'expression génique avec des virus, la préparation de bibliothèques de séquençage (ChIP-seq et RNA-seq), etc... Un.e candidat.e avec une bonne maîtrise de l'anglais est important car le groupe de recherche est international.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Internship form
(ON ONE PAGE MAXIMUM)
Course M2 BBRT 2023-24

Laboratory: CRCI²NA

Team No: 6

Supervisor's full name: Nicolas BIDERE

Email of the supervisor: nicolas.bidere@inserm.fr

Prospective candidate:

Internship Title: Regulation of the deubiquitin Enzyme CYLD during Cell Death by Pyroptosis

Summary of proposed project:

The NLRP3 inflammasome is a crucial regulator of inflammation and protective immunity in vertebrates. In response to cellular perturbations, the NLRP3 inflammasome drives the maturation and release of proinflammatory cytokines as well as programmed cell death by pyroptosis. Dysregulation in the activation of the NLRP3 inflammasome has been linked with human diseases, including inflammatory, autoimmune, and metabolic diseases, as well as inflammation associated with cancer. Recently, the deubiquitin enzyme (DUB) CYLD, a protease that hydrolyses ubiquitin chains, has been shown to restrict the activity of the NLRP3 inflammasome. However, how CYLD's negative grip on pyroptosis is relieved remains unfolded. Based on our expertise in the field of ubiquitination and programmed cell death (Nature 2009, Blood 2014, J Cell Sci 2016, Cell Rep 2019, EMBO Rep 2019, iScience 2021), we propose to investigate how CYLD is regulated during pyroptosis.

This program, which combines gene editing with state-of-the-art biochemistry and cell biology experiments wants to widen the aperture on the regulation of pyroptosis and propose ways to manipulate this cell death modality.

Option with which this project is associated:

- Biotherapies of the locomotor system
- Cardiovascular & Risk Factors
- Immunology-Cancérology
- Immuno-Intervention, Transplantation and Self-Immunity
- Infectious diseases
- Physiopathologies of the brain-gut axis

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI²NA

N° d'équipe : 9 - Chromatin and transcriptional deregulation in pediatric bone sarcoma

Nom-Prénom de l'encadrant : GEORGES Steven

Courriel de l'encadrant : steven.georges1@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Tala SERHAL

Titre du stage : Etude du rôle du complexe SWI/SNF dans l'activation des super-enhancers dans la chimiorésistance des ostéosarcomes

Résumé du projet proposé :

La résistance à la chimiothérapie est l'un des problèmes majeurs dans la prise en charge des patients atteints d'ostéosarcome, une tumeur osseuse primitive touchant essentiellement les enfants et les adolescents. Du fait d'une mauvaise connaissance des mécanismes impliqués, peu d'améliorations sur la survie des patients ont été observées ces dernières décennies. Dans ce contexte, notre équipe s'intéresse au rôle des super-enhancers (SEs), des zones de l'ADN regroupant des clusters d'enhancers qui induisent très fortement la transcription de gènes cibles essentiels à l'identité cellulaire.

Dans le but d'identifier des gènes responsables de la chimiorésistance, les SEs actifs ont été cartographiés dans des cellules d'ostéosarcome résistantes à la doxorubicine. Cette stratégie a permis d'identifier deux SEs induisant la transcription de deux transporteurs ABC, ABCB1 et ABCB4. ABCB1 est une protéine bien connue pour son implication dans la multirésistance des cellules cancéreuses aux agents de chimiothérapie alors que le rôle d'ABCB4 n'est pas encore bien défini. L'activité des SE identifiés pourrait être régulé par le complexe SWI/SNF.

Les objectifs du stage sont donc de 1) Etudier le rôle du complexe SWI/SNF dans l'activation des SE identifiés et dans la chimiorésistance 2) Evaluer le potentiel thérapeutique d'inhibiteurs des SEs dans la resensibilisation des cellules résistantes. Pour atteindre ces objectifs, l'étudiant(e) apprendra à maîtriser différentes techniques de biologie cellulaire (culture de lignées cellulaires, test de viabilité, test de clonogénécité, dose-réponse, calcul d'IC50, transduction par des particules lentivirales, cytométrie en flux), de biologie moléculaire (RT-qPCR) et de biochimie (western blot, test activité caspase, CHIP).

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA

N° d'équipe : 2

Nom-Prénom de l'encadrant : BAILLY Clément

Courriel de l'encadrant : clement.bailly@chu-nantes.fr

Candidat pressenti : SOUEIDAN Sarah

Titre du stage :

Évaluation pré-clinique d'un analogue de la somatostatine radiomarqués à l'astate-211 (211At) dans un modèle murin de tumeurs neuroendocrines (TNE) pancréatiques métastatiques hépatiques exprimant les récepteurs à la somatostatine de type 2 (SSTR2).

Résumé du projet proposé :

Ce projet s'inscrit dans la thématique de recherche de l'équipe 2 du Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers (CRCI2NA, INSERM UMR1307 - CNRS UMR 6075, Pr M. Chérel) dont les axes de recherche sont l'imagerie moléculaire, la radiobiologie et la radiothérapie ciblée. L'équipe développe des radiopharmaceutiques pour des approches théranostiques dans différents modèles animaux de tumeurs solides et hématologiques, particulièrement l'immuno-TEP, la radioimmunothérapie, l' α -thérapie et le radiomarquage de petites molécules telle que la phénylalanine en collaboration avec Atlab PharmaTelix Pharmaceuticals ou les analogues de la somatostatine. Des méthodes innovantes de radiomarquage à l'211At (émetteur α produit par le Cyclotron ARRONAX, site de Saint-Herblain) ont été développées au sein de l'équipe 2 permettant le couplage de petites molécules avec ce radionucléide prometteur en thérapie antitumorale. De plus, un modèle murin de métastases hépatiques de TNE pancréatiques a permis l'étude préclinique de la thérapie α à l'actinium-225 (225Ac) couplé avec un analogue de la somatostatine (DOTATOC). L'objectif de ce projet de Master 2 sera d'étudier l'efficacité et la toxicité de la radiothérapie interne vectorisée α à l'211At dans ce modèle murin afin de le comparer à l'225Ac. Ce projet s'intègre dans le RHU OPERANDI obtenu récemment en collaboration avec l'hôpital Beaujon (Pr. Vilgrain) dont le but est de développer de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques, notamment dans le champ des TNE. Il fait suite à des travaux préalables (thèse Dr. Lugat Alexandre) et vise à développer une thérapie ciblée par radionucléides (α -thérapie) dans les TNE pancréatiques grâce à un modèle de souris métastatique hépatique exprimant les SSTR2.

Option à laquelle est associée ce projet :

Immunologie-Cancérologie

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA

N° d'équipe : Equipe 9 CHILD

Nom-Prénom de l'encadrant : LAMOUREUX Francois

Courriel de l'encadrant : francois.lamoureux@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Implication de HSF1 dans la résistance aux traitements dans l'ostéosarcome

Résumé du projet proposé :

L'ostéosarcome (OS) représente la plus fréquente des tumeurs osseuses primitives malignes touchant préférentiellement l'enfant et l'adolescent. L'OS est caractérisé par la formation d'os par les cellules tumorales, associée à des plages d'ostéolyse. Malgré l'amélioration de la prise en charge thérapeutique (chimiothérapie néo-adjuvante + exérèse de la tumeur avec conservation du membre), les taux de survie à 5 ans restent inférieurs à 30% pour les patients mauvais répondeurs aux traitements ou présentant des métastases d'emblée. De plus, à ce jour, l'OS demeure une des tumeurs les plus résistantes aux traitements conventionnels, d'où la nécessité de développer de nouvelles approches thérapeutiques. Parmi ces approches, nous avons récemment démontré le rôle pro-tumoral du facteur de transcription HSF1 (Heat Shock Factor 1), régulateur majeur de la réponse au stress cellulaire, dans l'ostéosarcome. En effet, HSF1 est surexprimé dans plusieurs types de cancer incluant l'OS, et nous avons montré que HSF1 régule un vaste réseau transcriptionnel impliqué dans l'initiation, la progression des tumeurs et la résistance aux traitements. L'objectif de ce stage est de caractériser le rôle de HSF1 dans le développement de résistances aux thérapies conventionnelles, puis de re-sensibiliser les cellules tumorales aux thérapies en ciblant HSF1.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCl²NA, INSERM UMR 1307, CRNS UMR 6075, Nantes Université

N° d'équipe : 12

Nom-Prénom de l'encadrant : GAUTREAU-ROLLAND Laetitia

Courriel de l'encadrant : laetitia.gautreau@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Charlyne Moyer

Titre du stage : Modulation de l'expression de la protéine kinase Syk dans des lymphocytes T humains

Résumé du projet proposé :

Un des espoirs actuels pour lutter contre le cancer porte sur l'immunothérapie adoptive, dont le principe est d'injecter des cellules immunitaires pour permettre une destruction ciblée et systématique des cellules tumorales. Notre équipe travaille depuis des décennies sur l'immunobiologie des lymphocytes T conventionnels et non-conventionnels. Elle analyse d'un point de vue fondamental la spécificité et la fonction des sous-groupes de lymphocytes T humains et cherche à optimiser les immunothérapies ciblant les lymphocytes T.

Récemment, nous avons mis en évidence l'existence de cellules qui expriment la protéine kinase Syk dans des lignées de cellules T conventionnelles et non-conventionnelles générées au laboratoire mais aussi *ex vivo* dans le sang périphérique de plusieurs donneurs sains. Nos travaux sur les cellules T non conventionnelles iNKT (invariant Natural Killer T) et publiés montrent que l'expression de Syk augmente le potentiel auto-réactif de ces cellules iNKT (Perroteau et al., 2020). Nos derniers résultats indiquent que l'expression de Syk diminue de manière significative le seuil de réactivité des cellules iNKT mais aussi des cellules T conventionnelles. Nous avons également confirmé que la protéine kinase Syk est phosphorylée dans les premières minutes d'activation. **Ce projet de stage de M2 vise à moduler l'expression de Syk dans des lymphocytes T humains.** Dans un premier temps, l'expression de Syk sera éteinte dans des lignées de cellules T par la technologie Crispr/Cas9. Des expériences fonctionnelles réalisées avec des cellules T initialement Syk⁺ rendues déficientes permettront de diminuer potentiellement leur réactivité. Ainsi si l'expression de Syk dans des cellules T peut suffire à moduler leur réactivité, l'intérêt serait dans un second temps **d'induire l'expression de la protéine kinase Syk dans des effecteurs cellulaires pour augmenter leur activité anti-tumorale.**

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA / INSERM UMR 1307 / CNRS UMR 6075 , NANTES

N° d'équipe : Equipe 12

Nom-Prénom de l'encadrant : Béatrice Clémenceau

Courriel de l'encadrant : beatrice.clemenceau@inserm.fr

Candidat pressenti : Anna LLORENS, Interne de spécialité médicale, DES de Pédiatrie, FST onco-hématologie pédiatrique

Titre du stage :

Analyse de la réponse vaccinale humorale et cellulaire T chez les patients adultes et pédiatriques traités par des cellules CAR-T anti-CD19.

Résumé du projet proposé :

Les lymphocytes T issus du patient et génétiquement modifiés avec un récepteur chimérique anti-CD19 (CAR-T cells) ont montré d'excellents résultats dans le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) en rechute ou réfractaire de l'enfant et du jeune adulte. Ces CAR-T cells lysent les cellules leucémiques CD19+ mais également tous les lymphocytes B normaux induisant ainsi une aplasie B persistante si le patient ne rechute pas.

A ce jour, il n'existe pas de consensus pour la gestion de cette aplasie B prolongée et ni d'évaluation de l'impact de cette aplasie B sur les réponses vaccinales. Ainsi, pour les jeunes patients, il n'y a pas de recommandation sur la pertinence ou non de débiter ou de reprendre le calendrier vaccinal après traitement par cellules CAR-T anti-CD19.

L'objectif de ce projet est donc d'analyser, chez des patients adultes et pédiatriques, avant et après traitement par CAR-T cells anti-CD19, leur réponse humorale et cellulaire à 6 vaccins infantiles : tétanos, Diphtérie, poliomyélite, pneumocoques et Rubéole/rougeole et au vaccin anti-SARS-CoV-2 et d'évaluer ainsi les conséquences de l'aplasie B après traitement. Ces résultats pourront permettre d'obtenir une meilleure prophylaxie anti-infectieuse chez ces patients.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
Parcours M2 BBRT 2023-2024

Laboratoire : **Unité de recherche de l'institut du thorax**, Inserm UMR 1087/CNRS UMR 6291

N° d'équipe : Equipe de Génétique Médicale

Nom-Prénom de l'encadrant : Betty Gardie

Courriel de l'encadrant : betty.gardie@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : /

Titre du stage : Etude fonctionnelle de mutations de gènes de la voie de l'hypoxie identifiées chez des patients atteints de polyglobulies héréditaires et tumeurs associées.

Résumé du projet proposé:

Le laboratoire travaille sur la voie de régulation de l'adaptation au manque d'oxygène (hypoxie) qui joue un rôle majeur dans la survenue de nombreuses pathologies. Nous travaillons plus particulièrement sur les polyglobulies (ou érythrocytoses) héréditaires caractérisées par un excès de production de globules rouges (lié principalement à la surexpression d'érythropoïétine (EPO)). Certains patients présentent des complications: hypertension artérielle pulmonaire, thromboses, et parfois développement de tumeurs (phéochromocytomes et tumeurs vasculaires comme les hémangioblastomes notamment). Le projet de stage portera sur l'étude fonctionnelle de mutations de gènes de la voie de l'hypoxie (*EPO*, *VHL*, *HIF2A*, *PHD2*) identifiées chez des patients atteints de polyglobulie avec ou sans complications. En fonction des mutations (changement de séquence protéique, modification de l'épissage, mutation dans le promoteur) différents tests fonctionnels seront utilisés (surexpression de mutants, extinction de l'expression du gène par siRNA ou CRISPR, tests rapporteurs luciférase, "minigene splicing assay"). Une modélisation cellulaire de la pathologie à l'aide de cellules pluripotentes induites (iPS) issues de patients a été mise en place au laboratoire. Ces iPS sont différenciées en cellules productrices d'EPO (cellules de la crête neurale, hépatocytes, organoïdes de foie) et cellules à l'origine des tumeurs vasculaires (cellules endothéliales). Des études de RT-qPCR, DGEseq, RNAseq, ATACseq seront réalisées sur ces cellules afin d'identifier les voies moléculaires altérées par les mutations. Le sécrétome de ces cellules sera également étudié afin d'identifier les facteurs oncogéniques potentiellement responsables de la survenue de tumeurs associées à certaines mutations (co-culture, étude de l'angiogenèse).

Le but est d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans les polyglobulies et la survenue des complications. Nos outils cellulaires pourront également avoir un usage thérapeutique, l'EPO possédant de multiples propriétés (traitement des anémies, accidents vasculaires, diabète, obésité, maladies métaboliques).

Options à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- X Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- X Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Internship form
Course M2 BBRT 2023-2024

Laboratory : **Unité de recherche de l'institut du thorax**, Inserm UMR 1087/CNRS UMR 6291
Team n°: Equipe de Génétique Médicale, Thématique des "Erythrocytoses héréditaires"
(Betty Gardie).

Supervisor's full name: IDRISSE Salam

Email of the supervisor: salam.idriss@univ-nantes.fr

Prospective candidate:/

Internship Title: **Molecular and Functional Characterization of Erythropoietin Mutations Identified in Patients with Hereditary Erythrocytosis**

Summary of proposed project:

Our laboratory works on the hypoxia signalling pathway that governs cellular adaptation in response to decreased oxygen availability (**hypoxia**). Indeed, impaired regulation of this pathway has been tightly linked to several pathologies such as **hereditary erythrocytosis (HE)**. HE is an inherited condition characterized by an increased number of red blood cells (erythrocytes) which is mainly linked to the overexpression of **erythropoietin (EPO)**.

Recently, our team has identified novel germline mutations in the *EPO* gene in patients with HE. Our preliminary results showed that these novel mutations are targeting fundamental **regulatory elements in the EPO gene** which is thus affecting its expression and function.

The aim of this project in general, and internship in particular, will be to depict the epigenetic status of *EPO* locus in the presence and absence of the newly identified mutations, through **pioneering high-throughput assays** such as ATAC-Seq (Assay for Transposase-Accessible Chromatin followed by high-throughput sequencing), CHIP-seq (Chromatin immunoprecipitation followed by sequencing), and CUT&RUN (Cleavage Under targets and release using nuclease).

This study will be conducted using a highly-pertinent **cellular models (2D and 3D)** of the pathology, these models are currently set up in the laboratory. These cellular models rely on the generation of **EPO-producing cells differentiated from patient's-derived induced pluripotent stem cells (iPS)**.

In this internship, the student will learn to culture iPS cells and differentiate them into EPO-producing cells and perform different molecular and functional assays.

Option with which this project is associated:

- Biotherapies of the locomotor system
- x Cardiovascular & Risk Factors
- x Immunology-Cancérology
- Immuno-Intervention, Transplantation and Self-Immunity
- Infectious diseases
- Physiopathologies of the brain-gut axis

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCl²NA, Inserm 1307-CNRS UMR6075

N° d'équipe : Equipe 7 Stress Adaptation and Tumor Escape (P Juin)

Nom-Prénom de l'encadrant : Frédérique Souazé

Courriel de l'encadrant : frederique.souaze@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Etude des mécanismes cellulaires sous-jacents à la résistance aux traitements des cancers du sein induites par les fibroblastes du microenvironnement tumoral.

Résumé du projet proposé :

Les cancers du sein triple négatif (TNBC) sont des cancers de mauvais pronostic, notamment par l'absence de thérapies ciblées et par un fort taux de récurrence. Le stroma de ces cancers est enrichi en fibroblastes associés au cancer (CAFs), qui confèrent un environnement propice au développement tumoral. Nous avons montré que les CAFs via la sécrétion de cytokines augmentent la résistance aux traitements des cancers du sein hormono-dépendants (Louault et al, 2019).

Dans les TNBC, les mécanismes sont particuliers, nos résultats indiquent que les CAFs en générant un microenvironnement restrictif au niveau nutritionnel (dépletion en glucose) rendent les cellules cancéreuses plus résistantes à la mort cellulaire. L'analyse transcriptomique comparative des cellules cancéreuses soumises à un inducteur d'apoptose dans des conditions nutritionnelles restrictives (présence ou non de milieu conditionné par des CAFs) nous a conduit à l'identification 1- de l'activation d'un ARN long non codant et 2-d'une cascade de signalisation impliquant la voie de réponse adaptative au stress eIF2 α -ATF4. Nous analysons actuellement les liens de causalité entre cette ARN long non codant, la voie de réponse au stress et les effets des CAFs dans la résistance thérapeutique des cellules cancéreuses.

Le projet proposé vise à étudier ces régulations dans un modèle intégré de culture tri-dimensionnelle de sphéroïdes multicellulaires incluant des CAFs (cultures primaires issues d'exérèse de patientes) et des cellules cancéreuses (lignées cellulaires ou organoïdes primaires de patientes). Afin de mettre en évidence le rôle des différents acteurs de la cascade dans les effets protecteurs des CAFs, leur expression sera réprimée par extinction génétique par CrispR-Cas9. Les effets sur la survie cellulaire sont mesurés par cytométrie en flux (annexinV) et par analyse vidéomicroscopique (culture en matrice de collagène).

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA, Inserm 1307-CNRS UMR6075

N° d'équipe : 10 PETRY

Nom-Prénom de l'encadrant : Sébastien FARAJ

Courriel de l'encadrant : sebastien.faraj@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : M. Medhi AMAR

Titre du stage : Immunothérapie T CAR anti-neuroblastome

Résumé du projet proposé :

Le neuroblastome (NB) est une tumeur maligne du système nerveux sympathique qui représente 8 % des cancers de l'enfance. Malgré une prise en charge thérapeutique agressive, la probabilité de survie à 5 ans est ≤ 50 %. Cette prise en charge est également associée à des comorbidités fréquents chez les patients survivants. Le développement de nouvelles stratégies reste une nécessité pour améliorer le pronostic et la qualité de vie de ces enfants. Dans ce cadre, l'immunothérapie reposant sur l'utilisation de lymphocytes autologues ingénierés ciblant les cellules de neuroblastome apparaît comme une stratégie thérapeutique prometteuse.

Notre équipe a identifié le marqueur gangliosidique GD2 O-acétylé (GD2OAc) comme un antigène candidat pour l'immunothérapie du NB utilisant des anticorps spécifiques à visée thérapeutiques (Faraj et al. 2018, Bahri et al. 2021) et est engagé dans un programme de R&D visant à démontrer l'efficacité de lymphocytes $T\gamma\delta$ allogéniques exprimant un CAR anti-GD2OAc.

Le projet de M2 que nous proposons est d'évaluer l'efficacité de lymphocytes CAR spécifique du GD2OAc dans des modèles cellulaires de NB. Une première partie consistera à obtenir la preuve de concept du ciblage thérapeutique de lymphocytes $T\gamma\delta$ exprimant un CAR anti-GD2OAc dans des modèles de lignées cellulaires disponibles au laboratoire. En parallèle des modèles de primo-cultures de NB seront établie à partir de biopsies tumorales provenant de patients opérés dans le service de chirurgie infantile du CHU de Nantes.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA / INSERM UMR 1307 / CNRS UMR 6075 / Université de Nantes / Université d'Angers.

N° d'équipe : 9

Nom-Prénom de l'encadrant : Verrecchia Franck

Courriel de l'encadrant : franck.verrecchia@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Edith LOISY

Titre du stage : Rôle des canaux calciques dans le développement des Sarcomes d'Ewing

Résumé du projet proposé :

La découverte de nouvelles cibles thérapeutiques pour les cancers pédiatriques est une priorité du plan national de lutte contre le cancer. Après les cancers du sang et les tumeurs cérébrales, les sarcomes sont les tumeurs pédiatriques les plus fréquentes. Parmi ceux-ci, on distingue les sarcomes osseux dont les sarcomes d'Ewing (SE) qui représentent les deuxièmes les plus fréquents après les ostéosarcomes. Malheureusement, malgré des progrès dans la prise en charge de ces patients, le taux de survie, en particulier mauvais répondeurs aux traitements ou présentant des métastases au diagnostic, reste très faible.

Les canaux ioniques sont des structures qui assurent le passage des ions au travers des membranes cellulaires. Emergent dans la littérature plusieurs études innovantes sur le rôle de ces structures dans le développement tumoral. Une expression aberrante de ces canaux a été montrée dans divers types de cellules tumorales où leurs fonctions originales sont détournées pour promouvoir le développement tumoral. Nos travaux ont permis l'identification de deux canaux calciques jouant un rôle majeur dans le contrôle de la prolifération des cellules de SE. Ces structures agissent indirectement via la régulation de l'activité calcique intracellulaire mettant en évidence le rôle crucial du calcium dans la régulation de la prolifération des cellules de SE. Dans ce contexte, nous développons une étude pilote sur le rôle des conductances calciques et de l'activité calcique intracellulaire dans le développement des SE.

Option à laquelle est associée ce projet :

- X Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- X Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCl²NA, Centre de Recherche en Cancérologie Immunologie Intégré Nantes-Angers, UMR Inserm 1307 CNRS 6075

N° d'équipe : 10, Equipe PETRY

Nom-Prénom de l'encadrant : François Paris

Courriel de l'encadrant : francois.paris@inserm.fr

Candidat pressenti : Non

Titre du stage : Criblage de Sénotherapeutiques pour l'amélioration du traitement du glioblastome

Résumé du projet proposé :

Contexte : L'équipe d'accueil a démontré que le vieillissement du tissu cérébral par sénescence vasculaire favorise le développement de récurrence du glioblastome après radiothérapie.

Objectifs : Le projet Master II cherche à développer des thérapies ciblées limitant la sénescence du tissu normal péri-tumoral. Après avoir développé un biosenseur cellulaire fluorescent permettant de suivre la sénescence endothéliale, des candidats sénotherapeutiques éliminant ou modulant les cellules endothéliales sénescents seront analysés par vidéomicroscopie en criblant des biomolécules dédiées et des bibliothèques de siRNA. Les cribles positifs seront validés par immunohistologie dans des modèles de tumeurs 3D de sénescence endothéliale.

Finalité : Par le criblage de molécules sénotherapeutiques, nous cherchons le développement de molécules ciblées de nouvelle génération limitant les actions délétères des protocoles standards de chimiothérapie et radiothérapie pour proposer de nouveaux schémas thérapeutiques contre le glioblastome.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA, UMR1307

N° d'équipe : équipe 1 – ITMI

Nom-Prénom de l'encadrant : TREPS Lucas

Courriel de l'encadrant : lucas.treps@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Étude des cellules endothéliales et de leurs interactions avec le microenvironnement tumoral

Résumé du projet proposé : Les cancers pulmonaires représentent un enjeu sociétal majeur avec plus de 1,7 millions de décès par an dans le monde. En dépit d'avancées thérapeutiques majeures telles les thérapies ciblées et l'immunothérapie, de nombreux phénomènes de résistance subsistent. Le rôle primordial du microenvironnement tumoral dans la réponse au traitement et la progression tumorale est clairement établi. En revanche, certains éléments du microenvironnement tumoral ont été jusqu'à présents moins étudiés à cet égard. C'est le cas des cellules endothéliales, briques constitutives des vaisseaux sanguins, qui sont les cellules d'intérêt de notre groupe de recherche.

Au sein d'un groupe de recherche dynamique, l'étudiant(e) en Master 2 aura pour but d'étudier les interactions cellulaires entre les cellules endothéliales et différentes lignées de tumeurs pulmonaires. Ceci au travers de modèles cellulaires variés tels des co-cultures 2D directes/indirectes, et des modèles 3D multicellulaires mimant la complexité de l'écosystème tumoral. Par des approches transcriptomiques (bulk et scRNA-seq) nous avons récemment commencé à explorer l'impact de ces différents modèles sur la biologie endothéliale, et ces travaux constitueront le point de départ du projet.

L'étudiant(e) sera formé(e) sur les cultures cellulaires susmentionnées et des approches moléculaires et fonctionnelles permettant de valider le rôle de certaines cibles identifiées. Suivant les avancées, l'étudiant(e) sera également amené(e) à effectuer des analyses bioinformatiques des données de séquençage établies dans l'équipe. Ces résultats seront importants afin de mieux comprendre la place des cellules endothéliales dans le microenvironnement tumoral et de déterminer comment celles-ci pourraient moduler l'immunité anti-tumorale et la réponse aux thérapies anti-cancéreuses.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCl²NA/INSERM UMR 1307/CNRS UMR 6075/Nantes Université

N° d'équipe : Equipe 9 - CHILD

Nom-Prénom de l'encadrant : Bénédicte BROUNAIS-LE ROYER

Courriel de l'encadrant : benedicte.brounais@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Léa CLEMENT

Titre du stage : Rôle de la sécrétion des ligands Wnt dans la progression tumorale primaire et métastatique des ostéosarcomes.

Résumé du projet proposé :

L'ostéosarcome est la plus fréquente des tumeurs osseuses primitives malignes, représentant environ 250 nouveaux patients par an en France, et touche principalement les enfants et les adolescents avec un pic d'incidence autour de 18 ans. La survie des patients n'a pas évolué au cours des dernières décennies et est étroitement liée à la réponse des cellules tumorales à la chimiothérapie. Elle atteint 60-70% à 5 ans pour les patients présentant une tumeur localisée et seulement 30% lorsque des métastases pulmonaires sont détectées au moment du diagnostic. Il est donc indispensable de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour améliorer le traitement des patients atteints d'ostéosarcome. Dans ce contexte, nous nous intéressons aux voies de signalisation activées par les ligands Wnt. En effet, une stimulation excessive des voies de signalisation Wnt dans l'ostéosarcome a largement été décrite et semble être médiée par un mécanisme autocrine puisque certains ligands Wnt et leurs récepteurs sont surexprimés dans les cellules d'ostéosarcome. De plus, cette boucle de signalisation autocrine de Wnt induit la prolifération des cellules d'ostéosarcome. Etant donné que la sécrétion des ligands Wnt nécessite leur palmitoylation par l'acyltransférase Porcupine, nous avons émis l'hypothèse que l'inhibiteur de la Porcupine, LGK974 (WNT974), pourrait réduire le développement tumoral primaire et métastatique des ostéosarcomes en inhibant la sécrétion des ligands Wnt et en diminuant par conséquent toutes les voies de signalisation Wnt dans les cellules d'ostéosarcome. L'effet bénéfique de cet inhibiteur a déjà été mis en évidence dans différents types de cancer tels que le sarcome d'Ewing, à des doses bien tolérées *in vivo*.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Internship form
(ON ONE PAGE MAXIMUM)
Course M2 BBRT 2023-24

Laboratory: CRCI2NA

Team No: Team 6 SOAP

Supervisor's full name: GAVARD Julie

Email of the supervisor: Julie.gavard@inserm.fr

Prospective candidate:

Internship Title: Shaping Lysosome Functions in Brain Tumors

Summary of proposed project:

Glioblastoma represent the most lethal adult primary brain tumors, with a median survival time of 15 months following diagnosis. Within these highly heterogeneous tumors exists a subpopulation of tumor cells named Glioblastoma Stem-like Cells (GSCs). Although the molecular and functional definition of GSCs is still a matter of debate, there is compelling evidence that these cells can promote resistance to conventional therapies, invasion into normal brain, and angiogenesis. As such, they are suspected to play a role in tumor initiation and progression, as well as recurrence and therapeutic resistance. GSCs constantly integrate external maintenance cues from their microenvironment, and therefore represent the most adaptive and resilient proportion of cells within the tumor mass. Tumor niches provide exclusive habitat where stem cells propagate continuously in an undifferentiated state through self-renewal. GSCs are also protected in rather unfavorable conditions where they resist hypoxic stress, acidification, and nutrient deprivation. It has been recently suggested that this latter capacity is linked to the down-regulation of endocytosis, receptor trafficking and endo-lysosome-mediated degradation.

The project will be devoted to **elucidate how lysosomal homeostasis shapes cell survival.**

Our project combines unbiased screens (genetic and proteomic) with classical biochemistry and cell biology, as well as integrated models (mouse models and clinical data) to explore intracellular signaling and cell communication. We aim at elucidating the molecular mechanisms and post- translational modifications involved in non-oncogene addiction and life-and-death decisions to both intrinsic deviated signaling pathways and extrinsic cues.

Option with which this project is associated:

- Biotherapies of the locomotor system
- Cardiovascular & Risk Factors
- Immunology-Cancerology
- Immuno-Intervention, Transplantation and Self-Immunity
- Infectious diseases
- Physiopathologies of the brain-gut axis

Internship form
(ON ONE PAGE MAXIMUM)
Course M2 BBRT 2023-24

Laboratory: CRCI²NA

Team No: Team 1

Supervisor's full name: Nicolas BOISGERAULT

Email of the supervisor: nicolas.boisgerault@inserm.fr

Prospective candidate: none

Internship Title:

Characterization of oncolytic viruses engineered for delivering immunoactivating transgenes in the tumor microenvironment

Summary of proposed project:

Oncolytic immunotherapy uses live-attenuated viruses that replicate specifically in malignant cells. This infection leads to tumor cell death in an immunogenic context, which favors the development of an antitumor immune response. Oncolytic viruses can be engineered genetically to encode immunoactivating transgenes which products will be specifically produced in the tumor microenvironment by infected tumor cells. This localized delivery of therapeutic proteins is expected to reprogram the immune cells commonly found at tumor sites or in their vicinity, thus providing therapeutic benefits when combined with immunotherapies or other therapeutic approaches.

Over the last few years, our laboratory developed several new recombinant viruses, using the vesicular stomatitis virus (VSV) and vaccinia virus (VACV) as oncolytic platforms and different types of transgenes to target multiple immune mechanisms at play in the tumor microenvironment. Some of these viruses have been or are in the process of being patented and are currently evaluated for their therapeutic potential *in vivo* in immunocompetent mouse models.

This internship will be dedicated to characterize the impact of these new engineered oncolytic viruses on different types of human and murine immune cells. This includes *in vitro* assays in 2D culture or 3D spheroids mimicking the tumor microenvironment, but also the analysis of samples obtained from *in vivo* experiments in which mice carrying different types of tumors will be treated with engineered oncolytic viruses.

Option with which this project is associated:

- Biotherapies of the locomotor system
- Cardiovascular & Risk Factors
- Immunology-Cancerology
- Immuno-Intervention, Transplantation and Self-Immunity
- Infectious diseases
- Physiopathologies of the brain-gut axis

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : Inserm U1069, Université de Tours

N° d'équipe : U1069 Nutrition, Croissance et Cancer

Nom-Prénom de l'encadrant : D.Crottès/K.Mahéo

Courriel de l'encadrant : david.crottès@univ-tours.fr ; karine.maheo@univ-tours.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Rôle du canal TMEM16A dans le cancer de la prostate

Résumé du projet proposé : Le cancer de la prostate (CaP) présente un potentiel d'agressivité très hétérogène : certaines tumeurs sont faiblement agressives alors que d'autres ont un risque élevé de métastases et de décès. Dans les tumeurs prostatiques, l'expression aberrante des canaux ioniques entraîne une dérégulation de l'homéostasie calcique qui est impliquée dans l'agressivité des cellules cancéreuses. Le canal TMEM16A est un canal chlorure que nous avons retrouvé uniquement dans le tissu cancéreux prostatique et qui est associée à certains marqueurs d'agressivité. L'activité de ce canal est dépendante du phospholipide PIP2 et du calcium. De manière intéressante, les lipides à activité pro-tumorale comme le LPA (acide lysophosphatidique) induisent une forte réponse calcique qui est régulée par le TMEM16A. Le projet de Master 2 aura pour objectif : 1) de définir la contribution de TMEM16A dans l'agressivité des cellules cancéreuses prostatiques en utilisant une approche pharmacologique ou d'extinction moléculaire (siRNA) afin de déterminer les conséquences sur la prolifération, migration et la transition épithélio-mésenchymateuse 2) de mesurer la conductance chlore de ce canal par Patch Clamp 3) de déterminer son implication dans la réponse calcique 4) d'étudier la localisation membranaire des PIP2. Ces expériences seront réalisées dans des cellules tumorales prostatiques PC3 traitées ou non par du LPA. Nous déterminerons également si l'inhibition pharmacologique du TMEM16A module la réponse calcique induite par le LPA sur des explants prostatiques de tumeurs humaines provenant de pièces opératoires afin de se rapprocher au mieux de la physiopathologie de la glande prostatique.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA UMR1307

N° d'équipe : equipe 10

Nom-Prénom de l'encadrant : Pecqueur Claire

Courriel de l'encadrant : claire.pecqueur@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Impact métabolique dans les transitions phénotypiques MES et GSC dans le Glioblastome

Résumé du projet proposé:

Le glioblastome multiforme (GBM), forme la plus fréquente et la plus agressive des tumeurs cérébrales primaires chez l'adulte, ont un pronostic très sombre avec moins de 5% de survie à 5 ans et des récives systématiques. Dans l'équipe, nous développons des stratégies pour sensibiliser les GBM aux traitements conventionnels, en particulier en ciblant le métabolisme. Nos travaux récents, réalisés à partir de cultures primaires de GBM, nous ont permis d'identifier 2 populations de GBM particulièrement agressives, les cellules de sous-type mésenchymateux (MES) et les cellules présentant des caractères souches (GSC) (Clin. Can. Res 2017 ; Cancer Metab 2020 ; BioRXIV 2022). Le microenvironnement tumoral, notamment métabolique, semble jouer un rôle crucial dans l'acquisition de ces phénotypes (MES et GSC).

L'étudiant en Master2 étudiera si et comment l'environnement métabolique (glucose, glutamine, lipide) favorise l'acquisition de ces 2 phénotypes. A partir de modèles 3D (tumoroïde/organoïde), l'étudiant réalisera des expériences de biologie moléculaire (extinction par CRISPR-Cas9), biochimiques (immunoblot, seahorse, fluxomics) et phénotypiques (vidéomicroscopie, FACS) .

L'étudiant sera formé sur l'ensemble des technologies dans le but de devenir autonome au cours de son stage. Ce projet s'intègre au programme de recherche scientifique développé dans l'équipe ciblant le métabolisme des cellules tumorales pour à terme proposer de nouvelles approches thérapeutiques.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2022-23

Laboratoire : CRCI2NA, UMR1307

N° d'équipe : equipe 10

Nom-Prénom de l'encadrant : Pecqueur Claire

Courriel de l'encadrant : claire.pecqueur@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Immunothérapie T $\gamma\delta$ anti-OGD2 contre le Glioblastome

Résumé du projet proposé:

Le glioblastome est une tumeur cérébrale primaire la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte malgré les traitements lourds proposés. Ce pronostic sombre est principalement dû aux récurrences systématiques de ce cancer. L'immunothérapie est une nouvelle approche thérapeutique très prometteuse dans de nombreux cancers. Dans l'équipe, nous développons une stratégie alliant l'immunoréactivité spontanée des LT $\gamma\delta$ contre les cellules tumorales à celle médiée par un CAR anti-OGD2.

Dans ce projet de Master 2, l'étudiant testera l'immunoréactivité des LT $\gamma\delta$ -CAR-OGD2 contre les cellules GSC (glioblastoma stem cells), population tumorale impliquée dans l'échappement au traitement et les récurrences. Pour développer ce projet, l'étudiant sera responsable de la culture des cellules tumorales et des lymphocytes. A partir de ces cultures cellulaires, l'étudiant réalisera des tests d'activation (FACS) et de cytotoxicité (Incucyte, FACS, Cr51) pour évaluer la mort des cellules tumorales. L'expression des gangliosides sera évaluée dans les lignées tumorales testées et analysées au regard des résultats de cytotoxicité. L'ensemble de ces données d'obtenir des résultats préliminaires forts pour déterminer la meilleure stratégie immunothérapeutique dans les glioblastomes à la récurrence.

L'étudiant sera formé sur l'ensemble des technologies dans le but de devenir autonome au cours de son stage. Ce projet s'intègre au programme de recherche scientifique développé dans l'équipe ciblant le métabolisme des cellules tumorales pour à terme proposer de nouvelles approches thérapeutiques.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA UMR1307

N° d'équipe : equipe 10

Nom-Prénom de l'encadrant : Pecqueur Claire

Courriel de l'encadrant : claire.pecqueur@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Transition cellulaire et moléculaire des glioblastomes dans des organoïdes

Résumé du projet proposé:

Le **glioblastome**, forme la plus fréquente et la plus agressive des tumeurs cérébrales primaires chez l'adulte, ont un pronostic très sombre avec moins de 5% de survie à 5 ans et des récives systématiques. Dans l'équipe, nous développons des stratégies à visée thérapeutique pour tuer les cellules de glioblastome efficacement, que ce soit avec des **inhibiteurs pharmacologiques ou par immunothérapie**. Ces tumeurs très hétérogènes contiennent en particulier 2 sous-populations de cellules tumorales impliquées dans les récives, les cellules tumorales à caractère souche (GSC) et les cellules de signature moléculaire mésenchymale (MES). Cependant, ces caractéristiques évoluent de manière dynamique avec le temps.

Le sujet du master 2 est ***l'analyse en temps réel de cette dynamique cellulaire en réponse à l'environnement des cellules tumorales dans des modèles en 3D***. Avec ce projet, l'étudiant en Master générera des tumoroides complexes en 3D à partir desquels il étudiera la dynamique cellulaire (immunoblot, PCRquantitative, microscopie), moléculaire (genetic tracing), et métabolique (Seahorse, metabolomics). Cette étude sera réalisée dans différents environnements pertinents : stress métabolique, hypoxie, conditionnement avec des cellules vasculaires. Elle impliquera l'utilisation de nombreuses méthodologies plus ou moins innovantes (culture cellulaire, transduction cellulaire lentivirale, FACS, Incucyte, vidéomicroscopie, 13C-fluxomics...). L'étudiant sera formé sur l'ensemble des technologies dans le but de devenir autonome au cours de son stage.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : **CRCI2NA**

N° d'équipe : **Equipe 9 CHILD (Chromatin and transcriptional Deregulation in pediatric bone sarcoma) chef d'équipe B. Ory**

Nom-Prénom de l'encadrant : **Benjamin Ory**

Courriel de l'encadrant : **benjamin.ory@univ-nantes.fr**

Candidat pressenti :

Titre du stage : **Aspects Epigénétiques du développement de tumeurs Osseuses primitives**

Résumé du projet proposé :

L'ostéosarcome est la plus fréquente des tumeurs osseuses primitives affectant les enfants et les jeunes adultes (pic d'incidence entre 15 et 19 ans). Le traitement actuel de cette pathologie cancéreuse consiste en une ablation de la tumeur, associée à une polychimiothérapie. Malheureusement dans de nombreux cas, une absence de réponse aux drogues antitumorales est observée, ce qui peut provoquer alors le développement de métastases puis le décès du patient. Ainsi, le taux de survie à 5 ans est de 65% pour les ostéosarcomes non métastatiques et de seulement 20% dans le cas où des métastases sont détecté au diagnostic. Ces statistiques font de la dissémination métastatique une cible clé dans la lutte contre l'ostéosarcome.

La dissémination métastatique est un processus d'une extrême complexité composée d'une multitude d'étapes allant de l'intravasation des cellules primaires jusqu'à la prolifération en site secondaire distant après un passage par la circulation générale. La survie des cellules tumorales à travers toutes ses étapes requière de leur part une grande adaptabilité, dans un laps de temps relativement court, ce qui correspond parfaitement à un mécanisme épigénétique. Afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients, nous proposons d'explorer la possible origine épigénétique de la dissémination métastatique de l'ostéosarcome.

Notre équipe a récemment démontré l'implication des protéines à bromodomains (BET) dans la survie des ostéosarcomes. De plus, de récents travaux indiquent que ces protéines semblent se localiser sur l'ADN au niveau de régions régulatrices (Super-Enhancer) de gènes indispensables au développement tumoral, et de manière générale au niveau de tous les gènes dont l'activité transcriptionnelle est indispensable à la fonction cellulaire, qu'elle soit physiologique ou pathologique. Nous proposons d'étudier en détail les localisations exactes des protéines BET sur l'ADN des cellules métastatiques issues d'ostéosarcomes afin de localiser de potentiels gènes impliqués dans les différentes étapes de la dissémination. Notre objectif final est d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques dans l'espoir de développer des protocoles adaptés améliorant le pronostic des patients.

Option à laquelle est associée ce projet :

X Immunologie-Cancérologie