Formulaire de stage

**(SUR UNE PAGE MAXIMUM)**

Parcours M2 GGBS 2019-20

Laboratoire : CRTI INSERM U1064

N° d’équipe : 4

Nom-Prénom de l’encadrant : Charreau Béatrice

Courriel de l’encadrant : Beatrice.Charreau@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage :

**Immunotranscriptome sur cellules uniques pour la caractérisation d’une population de lymphocytes T CD8 induits par le cytomégalovirus chez les patients transplantés**

Résumé du projet proposé:

Les lymphocytes T CD8 sont des composants clés de l'immunité cellulaire dans la lutte contre le cytomégalovirus humain (HCMV), un agent pathogène très répandu qui peut provoquer une maladie grave et de mauvais pronostic chez les hôtes immunodéprimés, tels que les patients transplantés. Récemment, nous avons établi, dans une grande cohorte de transplantés rénaux, que le HCMV induit fréquemment une réponse non conventionnelle constituée de lymphocytes T CD8 dirigés contre les molécules HLA-E présentant des peptides UL40 viraux. Bien que spécifiquement induites en réponse à l'infection HCMV, une caractéristique de ces cellules T CD8 est leur capacité potentielle à reconnaitre des peptides issus du HLA issus du patient transplanté (HLA autologue) et/ou du greffon (HLA allogénique). Cette possible réactivité croisée a été établie chez 83% des receveurs de greffe. L'infection par le HCMV conduit donc fréquemment et spécifiquement à la persistance à long terme d'une sous-population de lymphocytes T potentiellement impliquée dans des réponses immunitaires au-delà de l'élimination des cellules infectées (Jouand N. *et al*. *Plos Pathogens*, 2018). Nos travaux récents (2019 ; *article en préparation*) ont permis de définir le phénotype et le profil d’activation et d’exhaustion post-infection chez les patients transplantés de ces cellules T CD8 par cytométrie de flux. Ce projet vise à poursuivre et compléter cette caractérisation par une étude transcriptomique. L’objectif est double : (1) décrire de façon exhaustive le profil d’expression de cette sous population et la comparer à à une population de cellules T CD8 TEMRA anti-HCMV spécifique d’un autre antigène (pp65) du virus et (2) apporter une première analyse de quantification relative pour un panel de 50 marqueurs caractéristiques des sous populations de T CD8. Les populations de lymphocytes T CD8 dirigées contre les antigènes UL40 ou pp65 sont des populations peu fréquentes dans le sang. Pour contourner cette difficulté nous allons utiliser des méthodes développées pour les études en cellule unique (*single cell*). Les cellules seront triées par cytométrie en flux au moyen de complexes tétramère HLA-E ou A2/peptides pour une analyse par la technique de Single cell RNASeq qui permet une description exhaustive et quantitative du transcriptome. De façon complémentaire nous utiliserons la plateforme de microfluidique C1 pour minimiser les quantités de matériel et automatiser le traitement des échantillons associée au Biomark (Fluidigm) pour la réalisation de QPCR. Les expériences de QPCR seront réalisées à Rennes sur la plateforme de génomique (en collaboration avec le Pr. Karine Tarte).

L’analyse des données utilisera la bioinformatique. L’objectif ultime du projet est d’identifier de nouveaux marqueurs fiables et spécifiques pour la détection de routine de cette population de cellules T CD8 dans des échantillons de sang.