

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2018-19

Laboratoire : CRCINA UMR1232

N° d'équipe : 8

Nom-Prénom de l'encadrant : Sophie Barillé-Nion

Courriel de l'encadrant : sophie.barille@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Aucun

Titre du stage :

Etude de voies de signalisation impliquées dans la résistance aux antimétopiques dans les cancers du sein.

Résumé du projet proposé:

Le paclitaxel est un antimétopique fréquemment utilisé dans le traitement des cancers du sein, notamment dans ses formes les plus agressives. Cependant des échecs de réponse à cette approche antimétopique conventionnelle subsistent du fait de l'existence ou l'apparition de résistance. Nous avons étudié la réponse de tumeurs mammaires primitives humaines au paclitaxel dans un modèle de culture organotypique à court terme et défini 2 groupes d'échantillons de tumeurs, l'un sensible au paclitaxel et l'autre résistant. Nous avons établi à partir du transcriptome de ces tumeurs, des gènes différentiellement exprimés ainsi que des voies de signalisation potentiellement impliquées dans la sensibilité/résistance au paclitaxel. Le projet proposé aura pour objectif d'étudier le rôle de ces voies de signalisation cellulaire dans la réponse au paclitaxel dans des modèles de lignées cellulaires modifiées génétiquement par l'approche Crispr/Cas9 ciblant les acteurs pertinents par des approches de biologie cellulaire classiques incluant culture cellulaire, test de mort cellulaire par cytométrie en flux, qPCR et imagerie cellulaire.

Option à laquelle est associée ce projet

- | | | |
|-------------------------------------|--------------------------|---|
| ☐ | ☐ | Cardiovasculaire et Facteurs de Risque |
| ☒ | ☐ | Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité |
| ☐ | | Maladies infectieuses |
| ☐ | | Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin |

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2018-19

Laboratoire : CRCINA/INSERM U1232/CNRS ERL 6001

N° d'équipe : 15

Nom-Prénom de l'encadrant : BIDERE Nicolas

Courriel de l'encadrant : nicolas.bidere@inserm.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : **Deciphering antigen receptor signaling and lymphomagenesis**

Résumé du projet proposé:

Piracy of the NF- κ B transcription factors signaling pathway to sustain its activity is a mechanism often deployed by B cell lymphoma to promote their unlimited growth and survival. As a result, these cells develop a profound addiction to NF- κ B, leaving open a breach for therapeutics. The aggressive activated B-cell like (ABC) subtype of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) exploits a multi-protein complex of CARMA1, BCL10 and MALT1 (CBM), which normally conveys NF- κ B upon antigen receptors engagement. Defining the exact composition of the CBM might be relevant to identify new regulators of lymphocyte activation and lymphomagenesis in vitro and in vivo.

This project wants to characterize better the composition of the CBM signalosome, and therefore providing a clear understanding of how the NF- κ B axis works, to restore vulnerability in lymphoma. In that view, our previous proteomic screens identified the kinase CK1 δ and the linear ubiquitin assembly complex (LUBAC) as major players of T-Cell activation and lymphoma propagation (Bidere *et al*, *Nature* 2009; Alexia *et al*, *Science Signaling* 2013; Dubois *et al*, *Blood* 2014; Douanne *et al*, *J Cell Sci* 2016). Herein, we propose to develop a similar mass spectrometry-based approach to elucidate the CBM and LUBAC interactomes. Whether the identified candidates interfere with NF- κ B activation and the survival and proliferation of ABC DLBCL cells will be assessed in vitro and in vivo, according to protocols established in the laboratory (RNA interference, CRISPR/Cas9). A specific emphasis will be placed on proteins involved in ubiquitination/deubiquitination processes, given their central role during NF- κ B activation.

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 2018-19

Laboratoire : CRCINA (LaBCT)

N° d'équipe : 9

Nom-Prénom de l'encadrant : Lisenn Lalier

Courriel de l'encadrant : lisenn.lalier@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Modification de la distribution de Bcl-2 et de ses partenaires d'interaction dans les phases précoces de l'apoptose.

Résumé du projet proposé:

L'apoptose est un processus majeur dans la régulation de l'homéostasie cellulaire, dont la dérégulation est notamment liée à la transformation tumorale et à la résistance des cellules cancéreuses aux traitements. Les protéines de la famille de Bcl-2 sont une famille de protéines largement impliquées dans la régulation de ce processus par le rôle qu'elles jouent dans le contrôle de l'intégrité mitochondriale. Cependant, un intérêt grandissant se porte sur le rôle que jouent certaines de ces protéines à multidomaines dans d'autres voies de signalisation. Il a en effet été montré qu'elles étaient capables d'interagir avec des protéines en dehors des protéines de la famille de Bcl-2, et de réguler d'autres voies de signalisation (autophagie, cycle cellulaire, signalisation calcique...).

Nous avons observé dans différents modèles de cellules cancéreuses que l'induction de l'apoptose induisait une redistribution précoce de Bcl-2, accompagnée de son interaction avec de nouveaux partenaires. L'objectif de ce projet est de préciser la dynamique des interactions de Bcl-2 avec ses partenaires connus et les nouveaux partenaires identifiés lors de l'induction du processus apoptotique. Nous chercherons à savoir si ces modifications sont liées à des modifications post-traductionnelles de Bcl-2 et quel impact elles ont sur la fonction anti-apoptotique de Bcl-2.

Option à laquelle est associée ce projet

- ☐ Biothérapies de l'appareil locomoteur
- ☒ 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 2018-19

Laboratoire : CRCINA Inserm 1232 CNRS ERL 6001

N° d'équipe : 10 Ciblage de la voie p53 et du réseau Bcl2 dans les hémopathies B matures

Nom-Prénom de l'encadrant : Pellat-Deceunynck Catherine

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

Candidat pressenti :

Titre du stage : Régulation par la voie p53 de l'expression de Bcl2 et du priming mitochondrial

Résumé du projet proposé:

La perte de fonctionnalité de la voie p53 (délétion du gène, mutations somatiques) dans les hémopathies B matures est associée à une résistance aux traitements. A l'échelle cellulaire, la perte de la voie ne permet pas la transactivation (constitutive ou en réponse au stress) de gènes codants pour les protéines pro-apoptotiques BH3-only qui entraînent la dépolarisation mitochondriale et l'apoptose. Toutefois, cette perte de fonctionnalité s'accompagne de néo-vulnérabilités cellulaires propres aux cellules tumorales, notamment la surexpression de Bcl2, protéine anti-apoptotique qui est ciblée par les nouvelles molécules thérapeutiques BH3 mimétiques. Le but de ce stage est d'étudier les mécanismes de régulation moléculaire (ChIP, miRNAs), cellulaire (cytométrie en flux, western blot) et fonctionnel (réponse au BH3 mimétique spécifique de Bcl2, priming mitochondrial) de la régulation de l'expression de Bcl2 par la protéine p53 1) dans des lignées de myélome exprimant une protéine p53 fonctionnelle ou mutante qui sont parfaitement caractérisées (profil d'expression génique par puces à ADN, whole exon sequencing, copy number variation) et dans leurs lignées filles invalidées pour le gène *TP53* par crispr/cas9, et 2) dans les cellules issues de patients annotées pour la fonctionnalité de la voie p53. Ce projet s'inscrit dans le programme SIRIC ILIAD (P Moreau, 2018-22).

Tessoulin B, Descamps G, Moreau P, Maiga S, Lodé L, Godon C, Marionneau-Lambot S, Oullier T, Le Gouill S, Amiot M, Pellat-Deceunynck C. PRIMA-1Met induces myeloma cell death independent of p53 by impairing the GSH/ROS balance. *Blood* 2014;124:1626-36

Touzeau C, Dousset C, Le Gouill S, Sampath D, Leverson JD, Souers AJ, Maiga S, Béné MC, Moreau P, Pellat-Deceunynck C, Amiot M. The Bcl-2 specific BH3 mimetic ABT-199: a promising targeted therapy for t(11;14) multiple myeloma. *Leukemia*. 2014; 28:210-12

Tessoulin B, Eveillard M, Lok A, Chiron D, Moreau P, Amiot M, Moreau-Aubry A, Le Gouill S, Pellat-Deceunynck C. p53 dysregulation in B-Cell Malignancies: more than a single gene in the pathway to hell. *Blood Reviews* 2017; 31:251-259

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 2018-19

Laboratoire : CRCINA, LaBCT, ICO Site R Gauducheau, Boulevard du Pr J Monod, Saint-Herblain, 44800.

Intitulé/N° d'équipe : Equipe 9, LaBCT, groupe épigénétique

Nom-Prénom de l'encadrant : CARTRON Pierre-Francois (co-encadrant : Jean-Sébastien Frenel)

Courriel de l'encadrant : pierre-francois.cartron@inserm.fr et jean-sebastien.frenel@ico.unicancer.fr

Candidat pressenti : Deborah Voisin

Titre du stage : Etude in cellulo et sur des biopsies liquides de patients de marques épigénétique associée à la résistance acquise aux traitements de chimiothérapie/immunothérapie.

Résumé du projet proposé :

En dépit de leur efficacité, les thérapies anticancéreuses peuvent aussi être la source de phénomène de résistance.

Au cours de ces dernières années, il a été démontré que l'acquisition de ce phénomène de résistance peut être associée à un processus de reprogrammation épigénétique.

Au laboratoire, nous étudions ce phénomène avec un focus sur la reprogrammation épigénétique des acteurs de l'apoptose.

Le présent projet de recherche visera donc :

- à mettre en évidence des marques épigénétiques (ou épimarks) du méthylome et du miRome associées à la résistance acquise au traitement de cellules tumorales par un agent de chimiothérapie donné.
- à identifier des acteurs moléculaires responsables des « épimarks » dites de résistance acquise.
- à valider/monitorer la présence de ces « épimarks » au sein de biopsies liquides réalisées chez des patients traités avec ce même agent chimiothérapeutique.

L'étudiant(e) retenu(e) pour réaliser ce projet de recherche sera amené(e) à effectuer des analyses/expérimentations de qPCR, qMSRE, « whole methylome sequencing », de miROME/exomiROME, co-IP, P-LISA et culture cellulaire.

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 2018-19

Laboratoire : UMR1232

N° d'équipe : 10

Nom-Prénom de l'encadrant : Chiron-David

Courriel de l'encadrant : david.chiron@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Thiphanie Riveron

Titre du stage : Rôle du Microenvironnement Immunitaire dans la Survie, la Chimiorésistance et la Prolifération du Lymphome à Cellules du Manteau

Résumé du projet proposé: Le Lymphome à Cellule du Manteau (LCM) constitue ~ 6% des Lymphomes Non Hodgkinien et, malgré des progrès thérapeutiques, reste à ce jour incurable. Le LCM est caractérisé par une dissémination précoce et l'expansion des cellules tumorales est supportée par plusieurs microenvironnements mais seul un nombre très limité d'études a adressé la nature, la composition et les interactions au sein de ces microenvironnements. Bien que le LCM soit caractérisé par un fort index de prolifération *in vivo* dans les ganglions, les cellules tumorales ne prolifèrent pas dans le sang périphérique et ne survivent pas seules *ex vivo* confirmant un rôle central du microenvironnement. Nous cherchons à présent à modéliser cette pathologie *ex vivo* en intégrant le rôle des interactions d'origine immunitaire lymphoïde ou myéloïde. Nous déterminerons dans un premier temps la nature des facteurs solubles et/ou des contacts cellulaires impliqués dans ces dialogues. Ensuite, le projet de Master consistera à étudier l'impact de ces interactions sur la survie, la chimiorésistance (famille Bcl-2) et la prolifération (cycle cellulaire) des cellules primaires de LCM par des techniques de biologie cellulaire (isolation cellules primaires, cytométrie), moléculaire (études transcriptionnelles RNA-seq, Q-PCR) et biochimique (Western-Blot). La compréhension des signaux extrinsèques et leurs conséquences dans la physiopathologie du LCM permettra *in fine* de développer des stratégies thérapeutiques ciblées et innovantes intégrant le rôle central du microenvironnement tumoral.

Titres et travaux : Chiron et al., Rational targeted therapies to overcome microenvironment-dependent expansion of mantle cell lymphoma.. Blood 2016

Chiron et al., Cell-cycle reprogramming for PI3K inhibition overrides a relapse-specific C481S BTK mutation revealed by longitudinal functional genomics in mantle cell lymphoma. Cancer discovery 2014

Option à laquelle est associée ce projet

- | | | |
|-------------------------------------|--------------------------|---|
| ☐ | ☐ | Cardiovasculaire et Facteurs de Risque |
| ☒ | ☐ | Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité |
| ☐ | | Maladies infectieuses |
| ☐ | | Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin |

Laboratoire : INSERM U1232

N° d'équipe : Equipe 1

Nom-Prénom de l'encadrant : Béatrice Clémenceau

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

Candidat pressenti : Océane Favier

Titre du stage : Ciblage immunologique des cellules leucémiques

Résumé du projet :

Le transfert adoptif de lymphocytes T génétiquement modifiés est en train de révolutionner le traitement des tumeurs hématologiques. Les deux grands sujets de recherche dans ce domaine concernent les caractéristiques fonctionnelles de ces T et la spécificité du récepteur dont ils sont équipés. Le projet s'inscrit dans la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques à la surface des cellules leucémiques de LLC, LAL et LAM. Des collections de cellules fraîches de ces différents types de leucémies sont mises à la disposition de l'équipe d'accueil dans le cadre d'une collaboration avec le service d'hématologie du CHU de Nantes (P. Chevallier et T. Guillaume).

Deux pistes seront explorées

- La première va consister à tester l'existence de populations de lymphocytes T allogéniques qui seraient spécifiques pour un complexe formé de la molécule HLA-DPB1*04:01 lorsqu'elle présente un peptide issu de la protéine CD45. Ces T seront recherchés par des techniques cellulaires classiques d'enrichissement par sélection à l'aide de multimères ou d'amplification en culture après stimulation à l'aide des peptides correspondants. Parce que CD45 n'est présent que dans les cellules d'origine hématopoïétique ces lymphocytes T devraient produire une réaction allogénique qui ne serait dirigée que contre des cellules HLA-DPB1*04:01 d'origine hématopoïétiques. Autrement dit, cliniquement, ces T seraient de bons candidats pour provoquer un effet anti-leucémique sans provoquer de réaction contre les tissus sains. Si les tentatives de sélection de T contre ces complexes sont un succès, les cellules T obtenues seront évaluées contre des cellules leucémiques et des cellules d'origine non hématopoïétique (fibroblaste, kératinocytes...) sur lesquelles les HLA de classe de II auront été induits.
- La seconde piste, très différente, a pour objectif de rechercher de nouvelles cibles (ou des combinaisons de cibles) à la surface des cellules leucémiques dont la reconnaissance par des anticorps peut provoquer le mécanisme d'ADCC (cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps). L'approche technique sera la suivante : les cellules leucémiques sont d'abord testées pour la présence de 360 antigènes à l'aide de plaques commerciales où sont distribués les anticorps de souris correspondants. Une fois les cibles identifiées les cellules leucémiques sont incubées en présence de l'anticorps spécifique pour cette cible (ou de combinaisons d'anticorps pour plusieurs cibles) et d'une cellule effectrice qui a été construite dans l'équipe. Cette cellule est un NK humain qui a été « armé » avec un récepteur pour les anticorps de souris (la NK-92mCD16). Ce système permet de réaliser des tests d'ADCC entre des cellules humaines, mais avec des anticorps de souris.

Option à laquelle est associée ce projet

- x Immunologie-Cancérologie
- x Immunointervention, transplantation et autoimmunité

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2018-19

Laboratoire : CRCINA

N° d'équipe : 3

Nom-Prénom de l'encadrant : Fradin Delphine

Courriel de l'encadrant : delphine.fradin@inserm.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Exploration fonctionnelle des ARNs non codants contenus dans les exosomes de mélanome sur la réponse T.

Résumé du projet proposé:

Ce projet est inclus dans un projet plus large portant sur l'impact des ARNs non codants (micro-ARNs et longs ARNs non codants) contenus dans les exosomes de mélanome sur la réponse immunitaire et l'échappement tumoral.

Les exosomes sont des vésicules de taille nanométrique (50-100nm) produits et sécrétés par tout type cellulaire. Ils sont générés durant la maturation des endosomes en endosomes multivésiculés. Au cours de ce processus, une petite fraction du cytosol se retrouve ainsi piégée à l'intérieur de ces vésicules, mais son contenu ne semble pas aléatoire. En effet, certains petits ARNs non-codants, tels que les miRNAs (micro-ARNs), se retrouvent de façon enrichie dans les exosomes, montrant l'existence d'une machinerie de sélection. Les miRNAs étant impliqués dans la régulation de l'expression génique, nous postulons que la cellule tumorale « choisit » de transférer aux cellules réceptrices, des miRNAs capables de favoriser sa survie.

Dans le mélanome, nous avons montré que l'augmentation de certaines miARNs dans les lymphocytes T CD8+ conduisait à une diminution de la réponse T dirigée contre la tumeur, traduite par une diminution de l'expression des molécules de co-stimulation et une diminution de la sécrétion de cytokines clés.

Le rôle, les partenaires et les cibles de ces micro-ARNs dans les lymphocytes T CD8+ ne sont à ce jour pas connus et c'est que nous proposons d'étudier par :

- des techniques d'immunoprécipitation d'hétéroduplexes miRNA/RNA
- des techniques de transfection de miRNA
- des techniques d'extinction par siRNA
- et des techniques de bio-luminescence

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 2018-19

Laboratoire : INSERM U1232 (<http://www.crcina.org/>) N° d'équipe : Equipe 4

Nom-Prénom de l'encadrant : Fonteneau Jean-Francois

Courriel de l'encadrant : jean-Francois.fonteneau@inserm.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Virothérapie anti-tumorale basée sur la souche vaccinale du virus de la rougeole

Résumé du projet proposé:

Le mésothéliome pleural malin (MPM) est un cancer agressif causé par l'amiante et réfractaire aux traitements conventionnels (chirurgie, chimiothérapie et radiothérapie). Il est donc nécessaire de proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Dans ce but, notre équipe étudie l'immunothérapie oncolytique, c'est-à-dire l'utilisation de virus oncolytiques (OV) qui n'infectent et ne tuent que les cellules tumorales. L'OV que nous étudions principalement est la souche vaccinale atténuée Schwarz du virus de la rougeole (MV), que nous avons breveté pour cette utilisation avec l'équipe du Dr Frédéric Tangy de l'Institut Pasteur. Nous avons montré que les cellules de MPM sont sensibles à la lyse par le MV du fait de défauts dans leur capacité de réponse antivirale interféron de type I, alors que les cellules mésothéliales saines qui n'ont pas de défauts ne sont pas sensibles à ce virus. Nous avons aussi montré que lorsque le MV tue les cellules tumorales, il induit une forme de mort cellulaire très immunogène qui favorise une réponse immunitaire anti-tumorale. Nous venons de mettre en place une technique de tri qui permet d'isoler les cellules présentatrices d'antigènes (APC) présentes dans le microenvironnement tumoral (macrophages, cellules dendritiques myéloïdes ou plasmacytoides) et nous allons étudier l'effet du MV et des cellules tumorales infectées sur ces APC, en particulier si le virus permet de stimuler leur fonction de présentation d'antigènes et d'induction de réponse T antitumorales. De plus, pour renforcer cet effet positif sur la réponse immunitaire antitumorale, nous allons caractériser des MV modifiés qui codent soit pour des cytokines immuno-stimulatrices ou des antigènes de tumeurs.

Ce projet devrait permettre d'améliorer l'activité oncolytique du MV afin de développer un essai clinique de virothérapie anti-tumorale dirigée contre le MPM.

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 2018-19

Laboratoire : Equipe d'Oncologie Nucléaire CRCINA U1232

N° d'équipe : 13

Nom-Prénom de l'encadrant : Eric Frampas / Catherine Ansquer

Courriel de l'encadrant : eric.frampas@chu-nantes.fr et catherine.ansquer@chu-nantes.fr

Candidat pressenti : Alexandre Lugat

Titre du stage :

Imagerie multimodale et multiparamétrique des tumeurs neuroendocrines (TNE) digestives différenciées

Résumé du projet proposé:

Ce projet intégrera une partie préclinique visant à développer un modèle murin de TNE différenciée avec métastases hépatiques pour valider des techniques d'imageries morphologiques (scanner/IRM), métaboliques (TEP-FDG) et phénotypiques (TEP des récepteurs de la somatostatine par ^{68}Ga -DOTANOC) ainsi qu'une partie clinique ayant pour objectif de comparer les résultats des TEP/TDM au ^{68}Ga -DOTANOC et des IRM réalisées séparément dans une cohorte prospective de patients inclus dans un essai multicentrique national promu par le CHU de Nantes (NCT01747096, fin d'étude juillet 2016, analyses des résultats en cours).

Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet pourront ensuite être transposés en clinique en vue de la réalisation d'acquisitions optimales en TEP/IRM simultanée chez les patients porteurs de TNE (Projet de TEP/IRM au CHU de Nantes à l'horizon 2020). Le modèle murin de TNE pourra être exploité pour optimiser l'imagerie TEP des récepteurs de la somatostatine par l'étude d'autres vecteurs ou isotopes émetteurs de positons. Le choix de la lignée cellulaire se portera sur la lignée de TNE pancréatique AR42J qui présente l'avantage d'être documentée et disponible. Le projet de recherche pré-clinique doit permettre :

- a) Valider le modèle murin de xénogreffe de TNE pancréatique par l'utilisation de la lignée cellulaire ARTE2J et la technique de xénotransplantation tumorale hépatique par voies intraportale,
- b) Etablir une caractérisation métabolique et phénotypique de ce modèle,
- c) Etablir une confrontation morphologique et fonctionnelle grâce TEP/IRM au ^{68}Ga -DOTANOC et ^{18}F FDG de ce modèle murin de TNE pancréatique.
- d) Comparer les performances diagnostiques et la complémentarité de la TEP au ^{68}Ga -DOTANOC et de l'IRM dans une série prospective de patients atteints de TNE gastro-entéro-pancréatiques.

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 2018-2019

Laboratoire : Inserm U1232 - CRCINA **N° d'équipe :** 16

Nom-Prénom de l'encadrant : HERMOUET, Sylvie

Courriel de l'encadrant : sylvie.hermouet@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Mélanie Georget

Titre du stage : Chronic antigenic stimulation leading to Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) and Myeloma

Résumé du projet proposé:

The project aims to demonstrate a causal link between chronic stimulation by infectious antigens or self-antigens and MGUS and multiple myeloma (MM) by analysing the specificity of monoclonal immunoglobulins (mc Ig) against panels of infectious pathogens, antigens (Ag) or peptides, and against certain glycolipids. So far we have identified 6 infectious pathogens as well as lyso-glucosylceramide (LGL-1) as the targets of purified mc Ig for ≈55% of MGUS and MM patients. We have also began to determine the amino-acid sequences of the potential epitopes targeted by mc Ig of MGUS and MM patients.

The project proposed to master 2 students has 2 objectives, as follows:

- 1- Identification of additional pathogens responsible for the initiation of MGUS and MM. To do so, we analyse the specificity of purified mc Ig using the Multiplexed Infectious Antigen Array (MIAA) and the LGL-1 assay developed by the team. When the MIAA and LGL-1 assays are negative, mc Ig are further analysed using commercial arrays which carry thousands of peptides. When new infectious pathogens or self-Ag are identified as targets of mc Ig in MGUS or MM, we try to determine the sequence of the potential epitopes recognized by the mc Ig. For these studies, several complementary techniques are used, including ELISA, dot blot assays, and synthetic peptide competition.
- 2- Analysis of the specificity of mc Ig according to patient characteristics and response to treatment. These studies are performed in collaboration with several clinical teams who provide annotated samples of serum from national and international cohorts of MGUS and MM patients. Once the target of mc Ig has been identified, correlation studies are performed between mc Ig specificity and patient characteristics (clinical, biological and genetic) and response to treatment.

Titres et travaux (publications récentes en rapport avec le sujet proposé)

1. Bosseboeuf A et al. Monoclonal IgG in MGUS and multiple myeloma target infectious pathogens. **J Clin Invest Insight** 2017; 2(19). pii: 95367. doi: 10.1172/jci.insight.95367.
2. Bosseboeuf A et al. Pro-inflammatory state in MGUS and Myeloma is characterized by low sialylation of pathogen-specific and other monoclonal and polyclonal immunoglobulin G. **Frontiers Immunology** 2017; 8:1347. doi:10.3389/fimmu.2017.01347.eCollection 2017.

Option à laquelle est associé ce projet

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 2018-19

Laboratoire : INSERM UMR1232, CRCiNA –LabCT (ICO, Saint-Herblain)

N° d'équipe : Equipe 9 « Apoptosis and Tumor Progression » (F. Vallette)

Nom-Prénom de l'encadrant : Dominique Heymann

Courriel de l'encadrant : dominique.heyman@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Camille JUBELIN

Titre du stage : **Contrôle de la dormance des cellules cancéreuses et résistance aux drogues**

Résumé du projet proposé:

L'hétérogénéité cellulaire, génétique et moléculaire est une caractéristique du cancer (Marusyk et al, Nat Rev Cancer 2012). Au cours du développement tumoral, certaines cellules cancéreuses restent dans un état de dormance et peuvent reprendre un cycle de division en réponse à des stimuli appropriés. Ces cellules dormantes pourraient être responsables de la résistance aux drogues, de la pathologie récurrente et métastatique (Brown et al, Cancer Lett 2017). Une meilleure connaissance du contrôle de la dormance des cellules cancéreuses permettrait de définir de nouvelles approches thérapeutiques et de mieux stratifier les patients dans les essais de recherche cliniques.

Ce projet a pour objectif de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires qui contrôlent la dormance des cellules cancéreuses. Les cellules dormantes seront isolées par des approches microfluidiques à partir de cultures cellulaires en 2D et 3D. Leur parenté avec les « cellules initiatrices de tumeurs » et leurs propriétés de pharmacorésistance seront analysées. L'impact du microenvironnement sur leur nombre et leurs caractéristiques phénotypique et fonctionnelle sera étudié. Une signature moléculaire de la dormance sera recherchée.

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 2018-19

Laboratoire : CRCINA

N° d'équipe : 3

Nom-Prénom de l'encadrant : Jarry Anne et Bossard Céline

Courriel de l'encadrant : anne.jarry@univ-nantes.fr ; celine.bossard@chu-nantes.fr

Candidat pressenti : aucun

Titre du stage : Effets immunoadjuvants du poly-IC et d'un virus oncolytique sur la réponse T anti-tumorale dans un modèle ex vivo de cancer colorectal chez l'homme

Résumé du projet proposé:

Dans les cancers colorectaux (CCR), les interactions entre les cellules tumorales et les lymphocytes T infiltrant la tumeur (TIL) semblent jouer un rôle majeur dans un sous-groupe de CCR avec instabilité microsatellitaire (MSI) considérés comme les plus immunogènes. Cependant, les cellules tumorales peuvent échapper à cette réponse immunitaire effectrice anti-tumorale, en particulier par l'activation de points de contrôle inhibiteurs («immune checkpoint»). Des stratégies d'immunothérapie visant à bloquer ces points de contrôle, notamment l'axe PD1/PDL1 par des anticorps thérapeutiques, ont récemment été testées dans les CCR. Mais leur efficacité n'est que partielle dans les CCR MSI et nulle dans les CCR sans instabilité microsatellitaire (MSS), les plus fréquents. L'enjeu actuel est donc de développer de nouveaux protocoles d'immunothérapie dans les CCR MSS pour potentialiser la réponse aux anti-PD1. Les produits viraux tels que le dsRNA ou son analogue le poly-IC, ainsi que certains virus oncolytiques sont de bons candidats car ils induisent une mort immunogène des cellules tumorales facilitant le recrutement de TIL spécifiques de la tumeur.

Nous avons récemment montré dans un modèle préclinique de culture d'explants de CCR chez l'homme que nous avons développé, la capacité des anti-PD1 à induire ou accentuer la réponse IFN γ des TIL dans les tumeurs riches en TILs Th1/Tc1 et PD1+. Cependant, l'effet des virus oncolytiques +/- combinés aux anti-PD1 sur la réponse immunitaire anti-tumorale dans les CCR chez l'homme ne sont pas connus.

Les objectifs de ce projet de recherche translationnelle sont d'évaluer dans ce modèle préclinique :

- les effets de 2 agents viraux : poly-IC et VSV (virus de la stomatite vésiculaire, à infection rapide), sur 1) la mort des cellules tumorales, 2) l'immunité innée (sécrétion d'IFN de type I et III) et 3) la réponse cytokinique (Th1/Tc1) / chimiokine des cellules immunitaires du microenvironnement tumoral, en fonction de la densité en TIL, notamment PD1+, et du statut MSS/MSI des CCR ;
- l'effet de ces 2 agents viraux (poly-IC ou VSV) combinés aux anti-PD1 sur la réponse immunitaire anti-tumorale, afin de déterminer si les virus oncolytiques et/ou les produits dérivés sont capables d'augmenter l'efficacité des anti-PD1.

Les principales techniques utilisées seront les suivantes : culture cellulaire, dosage Elisa simplex ou multiplex de cytokines / chimiokines, q-PCR, immunohistochimie/immunofluorescence.

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 2018-19

Laboratoire : UMR 1232, CRCINA

N° d'équipe : Equipe 8, Adaptation au stress et échappement tumoral

Nom-Prénom de l'encadrant : Le Breton Magali

Courriel de l'encadrant : magali.lebreton@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : aucun

Titre du stage : **Caractérisation des mécanismes de résistance au BH3 mimétiques dans des cellules mito-primées.**

Résumé du projet proposé:

Les protéines de la famille BCL-2 contribuent de manière significative à la résistance des cellules cancéreuses aux stimuli apoptotiques. BCL-2, BCL-xL ou MCL-1 exercent une activité anti-apoptotique qui repose en grande partie sur leur capacité à se lier aux membres pro-apoptotiques (BAX, BAK ou à leurs effecteurs telles que BIM ou PUMA). L'activité de ces protéines permet le maintien de la survie cellulaire en contrant activement les signaux de mort cellulaire menant à l'activation de BAX et BAK, à la perméabilisation mitochondriale et à l'apoptose. L'inhibition des protéines anti-apoptotique de la famille BCL-2 peut ainsi déclencher l'apoptose dans des cellules prêtes à mourir (« primées »), dans lesquels des signaux de mort permettant l'activation de Bax/Bak sont latents. Des molécules appelées BH3 mimétiques ont été développées en exploitant la dépendance des cellules tumorales aux protéines Bcl-2, pour les tuer spécifiquement en perturbant les interactions entre les protéines pro- et anti-apoptotiques. Des travaux sont en cours au laboratoire afin d'évaluer les meilleures conditions d'utilisation de ces molécules dans le traitement des cancers.

Nous étudions la sensibilité de cellules présentant un état « de mito-priming » homogène aux BH3 mimétiques. Malgré le fait que la population soit uniformément « primed to die », certaines cellules survivent à une forte dose de BH3 mimétique. Le but du projet est d'identifier les mécanismes, cellulaire et moléculaire, responsables de cette résistance. Des techniques de biologie cellulaires (culture cellulaire, cytométrie...), moléculaires (RT-qPCR) et biochimique (Western-Blot) seront utilisées lors de cette étude.

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 2018-19

Laboratoire : CRCINA – U1232

N° d'équipe : 8

Nom-Prénom de l'encadrant : Maillet Laurent

Courriel de l'encadrant : laurent.maillet@inserm.fr

Candidat pressenti : aucun

Titre du stage : Contribution des domaines trans-membranaires des protéines de la famille BCL-2 dans leur réseau d'interaction

Résumé du projet proposé:

L'une des stratégies thérapeutique en cancérologie repose sur le ciblage de protéines essentielles à la survie des cellules cancéreuses. Les protéines de la famille BCL-2 régulent la mort cellulaire par apoptose en contrôlant l'intégrité de la membrane mitochondriale. Des molécules BH3 mimétiques ciblant les protéines anti-apoptotiques ont été développées pour libérer les facteurs pro-apoptotiques qu'elles séquestrent et déclencher l'apoptose dans les cellules cancéreuses.

Nous étudions le réseau d'interactions entre les protéines de la famille BCL-2 dans des cellules entières et vivantes avec un outil BRET. Cet outil nous a permis de mettre en évidence la contribution de la dynamique intracellulaire de BCL-xL dans la résistance à la mort induite par les molécules BH3 mimétiques. Comprendre la régulation de la mobilité intracellulaire de BCL-xL est donc un élément clef dans l'utilisation thérapeutique des molécules BH3 mimétiques.

La dynamique intracellulaire de BCL-xL est notamment dépendante de son domaine transmembranaire. Nos résultats récents suggèrent que ce domaine interagit fonctionnellement avec les domaines transmembranaires des protéines pro-apoptotiques. Nous chercherons à comprendre quelles sont les conséquences de ces interactions sur les complexes formés par BCL-xL à la mitochondrie et la résistance aux molécules BH3 mimétiques. Dans ce but, des approches de microscopie de fluorescence seront développées pour étudier la dynamique de BCL-xL, et des approches de biochimie nous permettront de définir la contribution de ces interactions sur la stabilité des complexes.

Identifier les différents paramètres déterminant la dynamique de BCL-xL nous permettra d'envisager de nouvelles approches pour améliorer l'efficacité d'un traitement BH3 mimétique à déclencher la mort cellulaire des cellules cancéreuses.

Option à laquelle est associée ce projet

- ☐ Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- ☐ Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- ☐ Maladies infectieuses
- ☐ Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2018-19

Laboratoire : CRCINA – U1232

N° d'équipe : 8

Nom-Prénom de l'encadrant : Laurent Maillet et Sophie Barillé-Nion

Courriel de l'encadrant : laurent.maillet@inserm.fr

Candidat pressenti : aucun

Titre du stage : Etude des effets apoptotiques par des molécules inhibant l'activité de repliement des protéines exercée par les ribosomes dans les cellules cancéreuses

Résumé du projet proposé:

La dérégulation du processus apoptotique contribue largement à la progression tumorale et favorise les résistances aux chimiothérapies classiques. L'homéostasie apoptotique repose sur un réseau complexe d'interactions directes engageant principalement les membres pro et anti-apoptotiques de la famille de Bcl-2. Les protéines anti-apoptotiques, telles que Bcl-2, Bcl-xL et Mcl-1, séquestrent les protéines pro-apoptotiques (Bax, Bak, Puma, Bim, Noxa...) et préviennent ainsi la perméabilisation mitochondriale et l'activation subséquente de caspases. Le développement de molécules, appelées BH3 mimétiques, capable de rompre ces interactions, est une voie thérapeutique prometteuse en cancérologie. Un travail intensif autour de ces molécules est actuellement en cours, notamment dans notre équipe, afin d'évaluer les meilleures conditions d'utilisation de ces molécules dans le traitement des cancers.

Nos données actuelles montrent que le traitement de cellules cancéreuses avec des molécules interagissant avec de l'ARN ribosomal conduit à une mort cellulaire massive en réponse à l'inhibition des protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2. Ces molécules affectent notamment une activité de repliement de protéines portée par la grande sous unité du ribosome (PFAR pour Protein Folding Activity of the Ribosome). Elles induisent l'accumulation de p53 et de protéines de la famille Bcl-2 nécessaire à la réponse apoptotique.

Le but de ce projet est de caractériser la voie apoptotique mise en jeu avec ces molécules inhibant l'activité PFAR dans des cellules cancéreuses. Nous identifierons les membres de la famille BCL-2 impliqués avec des approches cellulaires et moléculaires (génération de KO cellulaire par la technique de CRISPR-Cas9, analyse de mort cellulaire par FACS). Nous chercherons à définir les mécanismes mis en jeu dans l'accumulation de p53 et Bcl-xL (analyse conformationnelle, modifications post traductionnelles).

Option à laquelle est associée ce projet

- ☐ Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- ☐ Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- ☐ Maladies infectieuses
- ☐ Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
Parcours M2 BBRT 2018-19

Laboratoire : INSERM UMR 1089,
Thérapie génique translationnelle des maladies génétiques

N° d'équipe : Groupe « Innovation Vectorology »
Nom-Prénom de l'encadrant : AYUSO Eduard
Courriel de l'encadrant : eduard.ayuso@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : -

Titre du stage : Identification des partenaires protéiques de Rep impliqués dans la production des vecteurs viraux AAV en cellule d'insecte.

Résumé du projet proposé:

Les vecteurs viraux dérivés du virus AAV (adeno-associated virus) sont des outils de choix pour le transfert de gène *in vivo*. Le développement de ces vecteurs a permis le succès de plusieurs essais cliniques de thérapie génique. Cependant, de nombreux défis restent à relever afin d'étendre l'utilisation de ces vecteurs au plus grand nombre d'applications thérapeutiques, en particulier la fabrication de vecteurs de grade pharmaceutique à grande échelle. Le système de production en cellules d'insecte par infection avec des baculovirus recombinants peut répondre à ce défi (Urabe et al., 2002). Cependant, la biologie de l'AAV, virus d'origine mammifère, est peu connue dans les cellules d'insecte d'où l'apparition de problèmes tels que la présence de particules vides (ne contenant pas le gène thérapeutique) dans les lots de vecteurs. L'AAV est un virus qui nécessite la co-infection avec un virus « helper » tel que l'adénovirus pour se répliquer en cellule de mammifère. Malgré un recul de 16 ans sur la technologie Sf9/baculovirus, ces fonctions auxiliaires sont inconnues en cellule d'insecte. Le but de ce stage est donc d'identifier les protéines associées aux protéines de Rep de l'AAV, protéines jouant un rôle central dans la réplication et l'encapsidation du génome viral. Nous anticipons qu'inhiber ou activer l'expression de ces protéines pourraient améliorer le rendement de production des vecteurs AAV et leur qualité. Les techniques nécessaires pour la réalisation de ce projet seront :

- biologie moléculaire : clonage, préparation de plasmide
- culture cellulaire : transfection, infection de cellules d'insecte
- caractérisation des complexes protéiques : coimmunoprécipitation, spectrométrie de masse
- les méthodes nécessaires à l'étude de la réplication et l'encapsidation du génome viral : qPCR, ELISA, électrophorèse en gel natif

Mots clés : thérapie génique, AAV, baculovirus, colP, clonage

Option à laquelle est associée ce projet :

- ☒ Biothérapies de l'appareil locomoteur ☐ Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
☐ Immunologie-Cancérologie
☒

Formulaire de stage
Parcours M2 BBRT 2018-19

Laboratoire : CRCINA/INSERM U1232/CNRS ERL 6001

N° d'équipe : Equipe 13 : Oncologie Nucléaire dirigée par Michel CHEREL

Nom-Prénom de l'encadrant : RBAH-VIDAL Latifa

Courriel de l'encadrant : latifa.rbah-vidal@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Application théranostique du Cuivre-64 dans un modèle murin du myélome multiple

Résumé du projet proposé:

En médecine nucléaire, le concept de « théranostique » consiste en l'utilisation de molécules de ciblage pour le diagnostic et la radiothérapie d'un cancer. Le principe est basé sur l'utilisation d'une molécule de ciblage marquée avec un radionucléide émetteur de rayonnement β^+ ou γ pour une utilisation en imagerie afin de diagnostiquer les patients éligibles à une radiothérapie vectorisée. La même molécule est ensuite radiomarkée avec un radionucléide émetteur de rayonnement β^- ou α pour un traitement en radiothérapie interne vectorisée. L'imagerie moléculaire et le diagnostic de la maladie peuvent ainsi être suivis efficacement par un traitement personnalisé utilisant les mêmes composés de ciblage moléculaire, réduisant ainsi le coût de la prise en charge des patients en évitant les traitements inutiles et coûteux.

Le Cuivre-64 (^{64}Cu) est un radionucléide innovant pouvant être utilisé à la fois comme outil diagnostique par tomographie par émission de positons (TEP) et potentiellement comme agent de radiothérapie interne, en raison de sa demi-vie intermédiaire ($T_{1/2} = 12,7\text{h}$) et de ses propriétés de désintégration. En effet, le ^{64}Cu présente une désintégration β^+ (0,653 MeV, 17,4%) ainsi qu'une désintégration β^- (0,574 MeV, 40%) et une capture électronique (42,6%). Les photons provenant de l'annihilation électron-positon peuvent être détectés par imagerie TEP. D'autre part, les particules β^+ , β^- et les électrons Auger émis par ce radionucléide peuvent endommager les cellules tumorales par induction de lésions d'ADN, inhibition de la prolifération et induction de l'apoptose. Le présent projet vise à évaluer le potentiel théranostique du ^{64}Cu dans un modèle murin du myélome multiple, en utilisant un anticorps monoclonal ciblant le CD138 (marqueur standard des cellules myélomateuses), radiomarké au ^{64}Cu dans des études *in vivo* par imagerie TEP et de radiothérapie interne vectorisée.

Option à laquelle est associé 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 2018-19

Laboratoire : Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie de Nantes - Angers (CRCINA)

INSERM U1232

Intitulé/N° d'équipe : Oncogénomique intégrative de la pathogénicité et de la progression du myélome multiple (CRCINA équipe 11 dirigée par Stéphane Minvielle DR CNRS)

Nom-Prénom de l'encadrant : Aurélien Sérandour (MC, Ecole Centrale de Nantes - chaire Inserm)

Courriel de l'encadrant : aurelien.serandour@ec-nantes.fr

Candidat pressenti : pas de candidat pressenti

Titre du stage : Analyse du réseau de régulation transcriptionnelle dans le myélome multiple

Résumé du projet proposé :

La plupart des études concernant le myélome multiple (cancer des plasmocytes) s'est focalisée sur le génome codant. Pourtant les régions régulatrices non-codantes sont impliquées dans le processus de cancérisation (revue dans Khurana et al., Nature Review Genetics 2016) et leur rôle reste à éclaircir dans le myélome multiple. L'avènement des méthodes d'épigénomique permet désormais de cartographier à l'échelle du génome entier les régions génomiques actives, en particulier les enhancers actifs et d'élucider les processus transcriptionnels impliqués dans la pathogénicité.

L'équipe développe des outils d'études de la chromatine (ChIP-seq, ATAC-seq) et du transcriptome (RNA-seq) afin d'identifier les enhancers impliqués dans la pathogénicité et la progression du myélome. Ces enhancers sont liés par des facteurs de transcription et des cofacteurs transcriptionnels et leur identification est indispensable pour comprendre le processus de pathogénicité du myélome (survie, prolifération, envahissement).

En particulier les facteurs de transcription IRF4, MAF, MYC, PRDM1 et XBP1 sont impliqués dans le MM et fonctionnent en réseau de régulation transcriptionnelle.

L'objectif du stage sera de produire une lignée de myélome MM1S qui exprime stablement la Cas9 par infection lentivirus. Ensuite l'étudiant fera des Knock-Out dans cette lignée par transfection de sgRNA ciblant des facteurs de transcription d'intérêt. Si les Knock-Out fonctionnent, il sera amené à faire du ChIP-seq H3K27ac et du RNA-seq pour étudier la chromatine et le transcriptome après invalidation de chaque facteur transcription.

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 2018-19

Laboratoire : CRCINA, INSERM U1232, IRS-UN quai Moncousu Nantes

N° d'équipe : Equipe 8, Adaptation au stress et échappement tumoral

Nom-Prénom de l'encadrant : Souazé Frédérique

Courriel de l'encadrant : frederique.souaze@inserm.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Rôle de MCL-1 et BCL-xL dans les capacités invasives et le métabolisme des cellules cancéreuses de sein sous influence des fibroblastes du microenvironnement

Résumé du projet proposé:

Dans le cancer du sein, les fibroblastes associés au cancer (CAFs) sont des acteurs majeurs du microenvironnement qui participe largement au devenir de la tumeur par des échanges dynamiques avec les cellules tumorales. Il existe une corrélation entre la proportion de CAFs au sein de la tumeur et le pronostic de survie des patientes notamment via des phénomènes de résistance aux chimiothérapies. Il est donc primordial d'étudier les mécanismes cellulaires du dialogue CAFs/cellules cancéreuses à l'origine des effets pro-tumoraux, dans le but de les cibler en thérapie.

Dans ce contexte, nous avons montré que des cultures primaires de CAFs humains provenant d'exérèse tumorale de cancer du sein augmentent la résistance à l'apoptose de lignées cellulaires de cancer du sein. Des résultats récents indiquent également que les CAFs modifient le métabolisme des cellules cancéreuses mammaires MDA-MB-468 et dans le même temps, induisent l'expression des protéines anti-apoptotiques MCL-1 et BCL-xL. **La chronologie des évènements induits par les CAFs (métabolisme/induction des protéines MCL-1/BCL-xL) et conduisant à la survie des cellules reste à déterminer.** Nos résultats indiquent que ces évènements sont dépendants de l'activité de COX-2 des CAFs, activité liée à une induction importante de métastases. Nous avons ainsi montré que l'extinction de la protéine BCL-xL diminue la capacité invasive de cellules MDA-MB-468.

Le projet proposé a pour but de vérifier si les CAFs stimulent ces fonctions non apoptotiques (métabolisme/invasion) des protéines BCL-xL et MCL-1, et de s'assurer que les BH3-mimétiques ciblant ces protéines contrecarrent ces fonctions. Nous utiliserons notamment un modèle de co-culture tridimensionnelle en matrice de collagène. Les mesures de survie cellulaire sont réalisées par cytométrie en flux, l'invasion cellulaire par imagerie Time-Lapse et les mesures d'expression de marqueurs d'intérêt par RT-PCR quantitative et immunocytochimie.

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 2018-19

Laboratoire : INSERM UMR1238

N° d'équipe : 1

Nom-Prénom de l'encadrant : Verrecchia Franck

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

Candidat pressenti :

Titre du stage : Canaux SKCa dans les sarcomes d'Ewing: nouvelles cibles thérapeutiques ?

Résumé du projet proposé:

Les sarcomes d'Ewing (SE) sont les deuxièmes tumeurs osseuses primitives malignes les plus fréquentes chez les enfants, les adolescents et les jeunes adultes. Malgré des progrès dans la prise en charge des patients, le taux de survie des personnes ayant des métastases au diagnostic reste faible, de l'ordre de 15-20% à 5 ans, et n'a pas baissé depuis 20 ans.

Les canaux ioniques sont des structures qui assurent le passage des ions au travers des membranes cellulaires. Ces dernières années, émergent dans la littérature plusieurs études innovantes sur le rôle de ces structures dans le développement tumoral. En effet, une expression aberrante de ces canaux ioniques a été montrée dans divers cellules tumorales où leurs fonctions originales sont détournées pour promouvoir le développement tumoral. En particulier il a été montré qu'une expression augmentée d'une conductance potassique activée par le calcium, la conductance SK3, est impliquée dans le développement des métastases osseuses issus du cancer de la prostate.

Dans ce contexte, nous amorçons une étude pilote sur le rôle des canaux ioniques, en particulier les canaux potassiques activés par le calcium, dans le développement des SE. Pour ce faire, nous utiliserons, une double stratégie ; une approche moléculaire et une approche pharmacologique.

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