
Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2023-2024

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr
et nathalie.chaput@universite-paris-saclay.fr)

I. Laboratoires d'accueil

Intitulé et n° : Institut Galien Paris-Saclay, UMR CNRS 8612

Adresse complète : Université Paris-Saclay, Faculté de Pharmacie, Bâtiment Henri Moissan, 17 avenue des Sciences, 91400 ORSAY

Thématique de recherche : Physico-chimie appliquée aux sciences pharmaceutiques – Pharmacotechnie-Biopharmacie

Ecole doctorale de rattachement : ED ITFA 569 (Innovation Thérapeutique : du Fondamental à l'Appliqué)

Responsable de l'équipe : Faivre Vincent

N° de téléphone : 01 80 00 61 12

Adresse électronique : vincent.faivre@universite-paris-saclay.fr

Intitulé et n° : Inflammation, Microbiome et Immunosurveillance, UMR INSERM 996

Adresse complète : Université Paris-Saclay, Faculté de Pharmacie, Bâtiment Henri Moissan, 17 avenue des Sciences, 91400 ORSAY

Thématique de recherche : Maladies nutritionnelles du foie et microbiote intestinal

Ecole doctorale de rattachement : ED ITFA 569 (Innovation Thérapeutique : du Fondamental à l'Appliqué)

Responsable de l'équipe : Cassard-Doulicier Anne-Marie

N° de téléphone : 06 68 13 66 29

Adresse électronique : cassard.doulicier@universite-paris-saclay.fr

II. Sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : LEGRAND François-Xavier

N° de téléphone : 01 80 00 61 15

Adresse électronique : francois-xavier.legrand@universite-paris-saclay.fr

Nom de l'encadrant : Cassard-Doulier Anne-Marie

N° de téléphone : 06 68 13 66 29

Adresse électronique : cassard.doulier@universite-paris-saclay.fr

Titre : Évaluation de la toxicité de nouvelles formulations pharmaceutiques et leurs effets sur le tractus digestif et le microbiote intestinal

Mots clefs : voie orale, microbiote intestinal, toxicologie, foie, formulation pharmaceutique

Résumé (en quelques lignes) :

Dans le cadre du projet MicroDES financé par l'action interdisciplinaire HEALTHI, nous travaillons à mieux comprendre l'effet de nouvelles formulations pharmaceutiques sur le tractus digestif et le microbiote intestinal lors de leur administration par voie orale. Ces nouvelles formulations, appelées solvants eutectiques profonds (DES pour deep eutectic solvents), sont des mélanges de deux solides à température ambiante ou d'un solide et d'un liquide à température ambiante, qui conduisent à un liquide à température ambiante. Ces solvants permettent d'augmenter la solubilité de molécules peu solubles ou leur stabilité et ont également été décrits comme promoteur d'absorption au niveau de différentes barrières biologiques comme la barrière cutanée ou la barrière intestinale. A ce jour, peu de données sont disponibles dans la littérature concernant les effets des DES in vivo après administration orale. Le projet du stage consiste à évaluer les effets des différents DES retenus à dose sub-toxique chez la souris. Après administration par voie orale des DES chez la souris, les différents tissus ainsi que le microbiote intestinal seront analysés par différentes techniques parmi lesquelles l'histologie et la PCR quantitative. Les résultats combinés permettront de choisir les meilleures formulations à la fois en termes de toxicité mais également en termes de moindres effets sur le microbiote intestinal et les différents organes du tractus gastro-intestinal.

Evaluation *in vitro* et *in vivo* des nano-objets hybrides pour la thérapie des maladies cardiaques

Résumé du sujet de stage

Les maladies cardiaques ischémiques représentent une des principales causes de mortalité et d'invalidité en France et dans le monde¹. Après une ischémie, le myocarde endommagé relativement peu régénérateur, subit un processus de remodelage dégénératif qui conduit à l'insuffisance cardiaque. Depuis quelques années, il a été démontré dans des modèles précliniques^{2,3,4}, le rôle protecteur des vésicules extracellulaires (VEs) dans les maladies ischémiques cardiaques. Les VEs sont des particules de très petite taille (~40-160nm) formées d'une membrane plasmique entourant un contenu riche en lipides, protéines, carbohydrates, acides nucléiques (DNA, mRNA et miRNA) ainsi que divers facteurs de croissance⁵. Mais des limitations à leurs applications cliniques existent, celles-ci étant liées d'une part, à la diversité des protéines exprimées à leur surface et qui peuvent rendre les VEs immunogènes. D'autre part, les quantités de VEs qui peuvent être obtenues à un instant donné sont relativement limitées et consommatrices de temps, ce qu'empêche leur utilisation en situation d'urgence telle que l'ischémie cardiaque.

Pour contourner ces limitations nous allons développer des VEs modifiées (nano-objets hybrides). Les VEs avant et après modification, seront préalablement caractérisées en physico-chimie.

Pour **ce projet de Master 2**, l'étudiant(e) aura la charge d'évaluer *in vitro* et *in vivo* les différents lots de nano-objets :

Etudes *in vitro* :

- Caractériser les nano-objets avant et après modification en utilisant des techniques de Biologie moléculaire (Western Blot, Facs, qRTPCR).
- Evaluer la toxicité sur des lignées cellulaires, ainsi que sur des cellules primaires cardiaques de rat, avec les tests de MTT, LDH.
- Evaluer le captage cellulaire à différents intervalles de temps après incubation avec les nano-objets.
- Evaluer la toxicité *ex vivo*.

Etudes *in vivo* :

- Evaluer la biodistribution des nano-objets hybrides (organisme entier, organes).
- Evaluer la présence des marqueurs d'inflammation après administration des nano-objets, en utilisant le test Elisa

Contexte du stage : Le stage bénéficie d'un financement de l'objet interdisciplinaire HEALTHI de l'Université Paris Saclay. Les travaux se dérouleront dans l'Unité UMR_1180 (Dr. Mathias MERICKSKAY) ainsi qu'à l'Institut Galien UMR_8612 (Dr. Mariana VARNA), équipes situées dans le bâtiment de recherche Henri Moissan (17 avenue des Sciences, 91 400 Orsay). L'étudiant(e) bénéficiera de l'accès à des appareils de pointe de deux équipes, mais aussi à des équipements de l'IPSIT (Ingénierie et Plateformes au Service de l'Innovation Thérapeutique).

Des réunions hebdomadaires seront organisées afin d'évaluer l'avancement des travaux. De plus, des présentations orales seront également faites devant les deux équipes.

Contacts : Adresser CV et lettre de motivation à :

Dr. Mariana Varna : mariana.varna-pannerec@universite-paris-saclay.fr

DR. Mathias MericksKay : merickskay.merickskay@inserm.fr

Références

- ¹ Francis K.L. *et al.*, Global, regional, and national mortality among young people aged 10-24 years, 1950-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019, **Lancet**. 2021;398(10311):1593-1618. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01546-4
- ² Khan K. *et al.*, Extracellular Vesicles as a Cell-free Therapy for Cardiac Repair: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Preclinical Trials in Animal Myocardial Infarction Models. **Stem Cell Reviews and Reports**, 2022, 18(3):1143-1167, doi: 10.1007/s12015-021-10289-6
- ³ Teng X. *et al.*, Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Improve the Microenvironment of Infarcted Myocardium Contributing to Angiogenesis and Anti-Inflammation, **Cell Physiol Biochem**, 2015;37(6):2415-24. doi: 10.1159/000438594. doi: 10.1159/000438594
- ⁴ Arslan F. *et al.*, Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury, **Stem Cell Res**. 2013 May;10(3):301-12. doi: 10.1016/j.scr.2013.01.002.
- ⁵ Gandham S. *et al.* Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles, **Trends in Biotechnology**, 2020, Volume 38, Issue 10, Pages 1066-1098, doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.012
- ⁶ Gendron A, ..., Desmaële D, Varna M., Development and Characterization of Innovative Multidrug Nanoformulation for Cardiac Therapy, **Materials** (Basel). 2023 Feb 22;16(5):1812. doi: 10.3390/ma16051812
- ⁷ Gendron A, ..., P Chaminade, S Abreu, D Desmaële, M Varna, New Nanoparticle Formulation for Cyclosporin A: In Vitro Assessment, **Pharmaceutics** 2021, 13, 91, doi: 10.3390/pharmaceutics13010091

Projet M2 2023-2024

Titre du projet : Caractérisation du rôle de l'autophagie et de son contrôle moléculaire dans la production des interférons de type 1 des cellules infectées par le virus respiratoire syncytial

Nom de l'encadrant : DESCAMPS DELPHYNE

Adresse mail de l'encadrant : delphyne.descamps@inrae.fr

Equipe d'accueil : Unité Virologie et Immunologie Moléculaires, équipe Vaccin, Immunomodulation Immunopathologie – Jouy-en-Josas - INRAE

Résumé du projet :

Originellement connue comme un processus physiologique d'homéostasie cellulaire en cas de carence énergétique, l'autophagie joue également un rôle clé dans l'élimination de pathogènes intracellulaires, le contrôle de l'inflammation ou la sécrétion de médiateurs immunitaires. Différentes études associent notamment l'induction de l'autophagie à la production des interférons de type I (IFN-I) par les cellules immunitaires dans plusieurs modèles d'infections virales. La production des IFN-I est importante pour développer chez l'hôte une réponse efficace contre les virus. Toutefois, l'implication et le rôle de ce processus physiologique restent peu décrits dans le contexte de l'infection par le virus respiratoire syncytial (VRS), principal agent pathogène responsable des bronchiolites chez le jeune. La littérature s'accorde sur le fait que l'infection par le VRS suscite une réponse immunitaire innée remarquablement faible associée en particulier à des productions basses d'IFN-I. Si certaines protéines du VRS sont reconnues comme acteurs de premier plan pour l'échappement immunitaire par antagonisme de la voie des IFN-I, ces mécanismes restent mal caractérisés. Outre les aspects fondamentaux, la compréhension des mécanismes moléculaires contrôlant la production des IFN-I devrait faciliter le développement de nouvelles approches antivirales ou immunomodulatrices de la réponse de l'hôte contre l'infection par le VRS.

Nos données préliminaires d'imagerie confocale de macrophages alvéolaires murins infectés par le VRS montrent une mobilisation du processus autophagique en association avec une production des IFN-I plus importante. Par ailleurs, nous avons démontré que l'interaction de la protéine virale N avec la protéine cellulaire TAX1BP1 participe au contrôle des IFN-I par les macrophages alvéolaires. Dans la logique d'une implication de l'autophagie dans la production des IFN-I par les macrophages alvéolaires, nous avons constaté que l'infection par le VRS des souris TAX1BP1^{KO} entraîne une expression plus importante des transcrits des gènes de l'autophagie post-infection (données non publiées). Ces données suggèrent que l'interaction de la protéine virale N avec TAX1BP1 est un moyen pour le VRS de limiter l'induction de l'autophagie afin de limiter la réponse antivirale de l'hôte. Cette hypothèse fait l'objet du sujet de stage de Master 2 qui, à travers des techniques de culture cellulaire, de biochimie et de biologie moléculaire, essaiera de caractériser l'implication de l'autophagie et de préciser le rôle de TAX1BP1 dans la production des IFN-I par les macrophages alvéolaires infectés par le VRS, et comment l'interaction de cette molécule avec la protéine virale N perturbe cette fonction.

Publications significatives de l'encadrant depuis 2018 (5 maximum)

1. **Descamps D**, Peres de Oliveira A, Gonnin L, Madrières S, Fic D, Drajac C, Marquant Q, Bouguyon E, Pietralunga V, Iha H, Morais Ventura A, Tangy F, Vidalain P-O, Eléouët J-F & Galloux M. Depletion of TAX1BP1 amplifies innate immune responses during respiratory syncytial virus infection. **J Virol.** **2021**, Aug 25;JV10091221. [https://doi: 10.1128/JVI.00912-21](https://doi.org/10.1128/JVI.00912-21). PMID: 34431698.
2. Jacque E, Chottin C, Laubretton D, Nogre M, Ferret C, de Marcos S, Baptista L, Drajac C, Mondon P, De Romeuf C, Rameix-Welti M-A, Eléouët J-F, Chtourou S, Riffault S, Perret G & **Descamps D**. *Hyper-enriched anti-RSV Immunoglobulins nasally administered: a promising approach for Respiratory Syncytial Virus prophylaxis.*

Front. Immunol. **2021**, Jun 7;12:683902. [https://doi: 10.3389/fimmu.2021.683902](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.683902). eCollection 2021. PMID: 34163482.

3. Drajac C, Laubreton D, Marquant Q, Chottin C, Ferret C, Bouguyon E, Schwartz-Cornil I, Saveanu L, Riffault S, **Descamps D**. Control of IFN-I responses by the aminopeptidase IRAP in neonatal C57BL/6 alveolar macrophages during RSV infection. **Mucosal Immunol.** **2021**, Apr 12. <https://doi.org/10.1038/s41385-021-00402-w>. PMID: 3846534.
4. **Descamps D**, Evnouchidou I, Caillens V, Drajac C, Riffault S, Van Ender P & Saveanu L. The Role of Insulin Regulated Aminopeptidase in Endocytic Trafficking and Receptor Signaling Immune Cells. **Front. Mol. Biosci.** **2020**, 7:583556. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.583556>. PMID:33195428.
5. Laubreton D, Drajac C, Eléouët JF, Rameix-Welti MA, Lo-Man R, Riffault S*, **Descamps D***. Regulatory B Lymphocytes Colonize the Respiratory Tract of Neonatal Mice and Modulate Immune Responses of Alveolar Macrophages to RSV Infection in IL-10-Dependant Manner. **Viruses.** **2020** Jul 29;12(8):822. <https://doi.org/10.3390/v12080822>. PMID: 32751234

Nom des étudiants de M2 encadrés durant les 3 dernières années

Marion Prost 2019, Andréa Mialet 2020, Anneline Dubard 2023.

The possibility to **control the activation of treatment in space and time *in vivo*** has garnered significant attention and efforts over the past 30 years. **Externally triggered theranostic prodrugs** are one of the most promising tools in this field. However, most of the currently described systems can only be activated by lights that cannot penetrate deeply inside the tissues (UV to near-infrared), which hugely restrains clinical applications, mainly to ophthalmology or skin treatment. **We have recently uncovered an innovative method for triggering therapeutic effects using radiotherapy lights**, that can penetrate tissues without any depth restriction.¹ A new class of theranostic compounds named “*Radioswitches*” has been developed and opens a groundbreaking avenue for therapeutic approaches with **space- and time-controlled resolution**. This project aligns with the perspective of future clinical applications by relying on activation techniques utilizing already-available clinical infrastructures. It is laying at the interface of chemistry, physics, radiobiology and biology and is supported by several collaborations.

The Master project takes part in the development of *Radioswitches* to study their biological effects. The candidate will develop several stability and cell culture assays associated to different conditions such as radiation, hypoxia, etc. Techniques such as microscopy or flux cytometry may also be used.² The candidate will be integrated to a multidisciplinary group working on the development of *Radioswitches* and will regularly report results to collaborators from different backgrounds.

We are seeking a motivated individual with a passion for tackling technical and scientific challenges to potentially make breakthrough innovations in medical treatments, and with a **strong interest in multidisciplinary approaches**. Proficiency in English oral communication and a great team spirit are essential. This project offers excellent opportunities to **develop skills** in cell biology and associated characterization techniques such as radiation physics. Candidates are expected to be **highly motivated** to take advantages to work in a leading research environment and to benefit from a **multi-collaboration context**.

If you need more details, please contact Dr Pierre-Marie Girard (pierre-marie.girard@curie.fr) or Dr Guillaume Bort (guillaume.bort@curie.fr). The applications should include at least the contact details of one referee.

Hosting laboratory: Institut Curie – Centre de Recherche – Université Paris-Saclay – Rue Henri Becquerel – Bâtiments 110-111-112 – UMR3347 U1021 - 91400 Orsay

¹ Guesdon-Vennerie A, Couvreur P, Ali F, Pouzoulet F, Roulin C, Martínez-Rovira I, Bernadat G, Legrand F-X, Bourgaux C, Mazars CL, Marco S, Trépout S, Mura S, Mériaux S, Bort G. *Nat. Commun.* 13, 4102 (2022).

² Berthault N, Bergam P, Pereira P, Girard PM and Dutreix M. *Cells* 2022, 11(14), 2149; <https://doi.org/10.3390/cells11142149>

Stage à l'INEM (Institut Necker-enfant Malade) équipe "**Voies de l'immunité innée et adaptative dans l'autoimmunité et l'autoinflammation**" sous la direction du Pr Pascale de Lonlay et du Dr Hrentense Calbiac

hortense.de-calbiac@institutimagine.org

pascale.delonlay@aphp.fr

The overall aim of this ANR-funded project is to investigate the role of autophagy and the underlying mechanisms linking autophagy, calcium and lipid metabolism in acute rhabdomyolysis (RM) triggered by fasting and viral illness, in patients with five types of hereditary RM: LPIN1, TANGO2, RYR3, VPS13C and ANXA6 mutations, by taking advantage of the combination of cellular (primary myoblasts from patients, Team de Lonlay) and animal (zebrafish, Team Kabashi) models. Having already been able to prevent RM and improve autophagy defects in TANGO2-deficient zebrafish and myoblasts, we hope to identify common applicable treatments that prevent RM decompensations in all these diseases. Our key hypothesis postulates that gene-specific pathogenic mechanisms converge to autophagy insufficiency, making it a critical event in RM outbreak that could be restored to prevent acute episodes. In genetic RM, fasting and viral illnesses are the most common triggers of RM^{8,11}. Muscle possesses a remarkable plasticity (variations in contractile activity) and needs to be able to rapidly adapt to changes in energetic demands and in response to metabolic stress. Autophagy functioning is substantial to muscle cells maintenance and adaptation to stress. Defects in all steps of autophagy have been associated with skeletal muscle diseases¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ such as Vici syndrome¹¹⁰. Considering that i) starvation affects lipid metabolism and autophagy; ii) calcium regulates autophagy; iii) membrane lipid composition is critically involved in autophagy regulation and processing; iv) the ER-ERGICGolgi axis provides membranes to form autophagosomes, thereby connecting vesicular forward transport with autophagy; v) defective lipid or calcium metabolism is reported in lipin-1, TANGO2 or RyR3-deficient cells, respectively; vi) and finally defective autophagy is reported in lipin-1, TANGO2 and RyR3-deficient cells or TANGO2-zebrafish model, it is likely that these proteins participate in autophagy presumably through lipid and calcium composition and transfer between organelles⁴⁴ and that RM are the consequence of insufficient autophagy in patients exposed to stress condition such as starvation. These findings offer new therapeutic perspectives in RM prevention. Our general objective is to delineate RM physiopathology associated with predisposing mutations in LPIN1, RYR3, TANGO2, VPS13C or ANXA6 genes, notably the underlying mechanisms linking autophagy, calcium and lipid metabolism which remain unclear, and to identify targeted therapeutic candidates for these life-threatening diseases^{8,111} by taking advantage of a defect in the autophagy pathway as a common denominator for these genetic factors, and the combination of primary myoblasts from patients (Team de Lonlay) and zebrafish models for all these genes (Team Kabashi).

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2023-2024

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr
et nathalie.chaput@universite-paris-saclay.fr)

I. Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Unité interdisciplinaire Lip(Sys)2-EA 7357, Equipe de Biologie « athérosclérose et macrophages : impact des phospholipides et des fonctions mitochondriales sur l'efflux du cholestérol »

Adresse complète : UFR de Pharmacie (Université Paris Saclay)
Bâtiment Henri Moissan (HM1)
19 avenue des Sciences

Thématique de recherche : Impact des acides gras sur la fonctionnalité des macrophages

Ecole doctorale de rattachement : ED 569 « innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué »

Responsable de l'équipe : Natalie FOURNIER

N° de téléphone : 01 80 00 62 11

Adresse électronique : natalie.fournier@universite-paris-saclay.fr

II. Sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant.e : Natalie FOURNIER et Maxime NOWAK

N° de téléphone : 01 80 00 62 11 (N. FOURNIER) et 01 80 00 62 15 (M. NOWAK)

Adresse électronique : natalie.fournier@universite-paris-saclay.fr, maxime.nowak@universite-paris-saclay.fr

Titre : Impact de l'EPA sur le phénotype de macrophages humains activés (pro-inflammatoires M1 ou anti-inflammatoires M2)

Mots clefs : Macrophages THP-1 ; acide eicosapentaénoïque (acide gras poly-insaturé oméga 3) ; polarisation ; cytométrie de flux (FACS) ; dosage de cytokines (ELISA)

Résumé (en quelques lignes) :

Les mécanismes par lesquels les acides gras polyinsaturés de la famille oméga 3 (AGPI n-3), notamment l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20 : n-3) exercent un effet cardio-protecteur ne sont pas tous connus. L'athérosclérose est un phénomène inflammatoire caractérisé par un dépôt sur les artères de macrophages gorgés de cholestérol appelés cellules spumeuses. La seule possibilité pour les macrophages spumeux de se débarrasser du cholestérol en excès est la sortie ou efflux du cholestérol, processus anti-athérogène.

A l'aide de la lignée monocytaire-macrophagique humaine THP-1, nous avons démontré que l'EPA stimule l'efflux du cholestérol par le transporteur ABCA1 [*Dakroub H et al, 2021 Biochim Biophys Acta*] et cet effet est exacerbé après ajout de LPS. Or, dans ces conditions inflammatoires, les macrophages témoins présentent des capacités d'efflux réduites probablement dues à une moindre production d'ATP indispensable au fonctionnement de l'ABCA1. Nous émettons l'hypothèse que l'EPA exerce ses effets bénéfiques sur l'efflux du cholestérol en modifiant la reprogrammation des macrophages activés, en particulier leur métabolisme énergétique.

Les cellules THP-1 seront enrichies (ou pas : macrophages témoins) en EPA puis différenciées en phénotype M0 (non polarisé), M1 pro-inflammatoires (LPS et IFN γ) ou M2 anti-inflammatoires (IL-4 et IL-13). Dans ces expériences où la concentration des agents polarisants ainsi que le temps de stimulation seront variables, la détermination par cytométrie de flux des marqueurs de surface CD80 et CD206 associée à la mesure par technique ELISA d'un panel de cytokines sécrétées (IL-6, IL-10, IL-1 β , IFN γ et TNF α) permettront de décrire de manière complète le phénotype des macrophages.

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2023-2024

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr
et nathalie.chaput@universite-paris-saclay.fr)

I. Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : UMR_S1176 - Hémostase, Inflammation, Thrombose (HITH)

Adresse complète : Hôpital Bicêtre, bat Pincus, sect marron, pte 47, 78 rue du Général Leclerc,
94276 Le Kremlin Bicêtre cedex

Thématique de recherche : Hémostase, coagulation, inflammation

Ecole doctorale de rattachement : ITFA (ED569)

Responsable de l'équipe : Dr Cécile Denis (responsable groupe de recherche Pr Delphine
Borgel)

N° de téléphone :

Adresse électronique : delphine.borgel@universite-paris-saclay.fr

II. Sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant.e : Dr Elsa BIANCHINI

N° de téléphone : 33 1 49 59 56 46

Adresse électronique : elsa.bianchini@universite-paris-saclay.fr

Titre : Etude du rôle du ZPI dans la régulation de la coagulation et de la thrombo-inflammation

Mots clefs : Hémostase, inflammation, anticoagulant, cible thérapeutique

Résumé (en quelques lignes) :

Le ZPI est un inhibiteur de la coagulation dont le rôle dans la régulation de l'équilibre hémostatique en conditions physiologiques et surtout pathologiques reste encore mal connu. Contrairement aux autres anticoagulants physiologiques son déficit ne semble pas majorer le risque de thrombose, en revanche son inhibition permet de corriger un défaut de coagulation (au moins partiellement). Ceci fait du ZPI une cible thérapeutique potentielle pour le traitement des maladies hémorragiques telles que l'hémophilie. Par ailleurs, des travaux, menés entre-autre dans notre équipe, suggèrent que le ZPI est un marqueur de l'inflammation dont la concentration plasmatique augmente en condition inflammatoire, ce qui pourrait participer à la régulation du processus d'immunothrombose ou de thrombo-inflammation. Cependant, à ce jour, le mécanisme impliqué dans la régulation de la réponse inflammatoire par le ZPI n'a pas encore été élucidé et fait l'objet d'un projet de recherche actuellement développé dans notre équipe.

L'étudiant qui sera recruté pour un stage de M2 dans notre équipe participera à ce projet avec pour objectif de conduire une étude de relation structure-activité du ZPI afin d'identifier les déterminants structuraux impliqués dans les fonctions anti-coagulantes et anti-inflammatoires du ZPI.

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2023-2024

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr
et nathalie.chaput@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut de Chimie Physique, UMR 8000

Adresse complète : bât350, Av Jean Perrin, 91405 Orsay

Thématique de recherche : Signalisation dans les phagocytes

Ecole doctorale de rattachement : ED568 Biosigne

Responsable de l'équipe : Oliver Nüsse

N° de téléphone : 0169157644

Adresse électronique : oliver.nusse@universite-paris-saclay.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Oliver Nüsse

N° de téléphone : 0169157644

Adresse électronique : oliver.nusse@universite-paris-saclay.fr

Titre du sujet :

Imagerie dynamique de la NADPH oxydase des phagocytes

Mots clefs : imagerie, production de ROS,

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

La phagocytose est un mécanisme central dans la défense contre les infections bactériennes. La production phagosomale de formes réactives de l'oxygène (ROS) par la NADPH oxydase du phagocyte est critique pour tuer les bactéries internalisées. L'absence de la NADPH-oxydase dans les phagocytes conduit à des infections bactériennes sévères et récurrentes (Granulomatose Septique Chronique).

La NADPH oxydase active est constitué de 2 protéines membranaires et 4 protéines cytosoliques qui doivent former un complexe à la membrane du phagosome. Notre laboratoire étudie l'assemblage de ce complexe à l'aide de sous-unités de l'oxydase marquées avec une protéine fluorescente. Nous avons des cellules phagocytaires qui expriment la sous-unité membranaire de la NADPH oxydase fusionnée à une protéine fluorescente. L'objectif est d'étudier l'assemblage de la NADPH oxydase par imagerie FRET-FLIM.

Ce projet de master 2 consisterait à caractériser cette lignée sur le plan de l'expression de la sous-unité marquée, sa fonctionnalité et sa localisation pendant la phagocytose. Ensuite, les expériences de FRET-FLIM seront initiées. Les techniques vont de la culture cellulaire, la cytométrie en flux, le western blot, le dosage de ROS par luminescence et la microscopie à fluorescence.

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2023-2024

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr
et nathalie.chaput@universite-paris-saclay.fr)

I. Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Unité interdisciplinaire Lip(Sys)2-EA 7357, Equipe de Biologie « athérosclérose et macrophages : impact des phospholipides et des fonctions mitochondriales sur l'efflux du cholestérol »

Adresse complète : UFR de Pharmacie (Université Paris Saclay)
Bâtiment Henri Moissan (HM1)
19 avenue des Sciences

Thématique de recherche : Impact des acides gras sur la fonctionnalité des macrophages

Ecole doctorale de rattachement : ED 569 « innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué »

Responsable de l'équipe : Natalie FOURNIER

N° de téléphone : 01 80 00 62 11

Adresse électronique : natalie.fournier@universite-paris-saclay.fr

II. Sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant.e : Natalie FOURNIER et Maxime NOWAK

N° de téléphone : 01 80 00 62 11 (N. FOURNIER) et 01 80 00 62 15 (M. NOWAK)

Adresse électronique : natalie.fournier@universite-paris-saclay.fr, maxime.nowak@universite-paris-saclay.fr

Titre : Impact de l'EPA sur le phénotype de macrophages humains activés (pro-inflammatoires M1 ou anti-inflammatoires M2)

Mots clefs : Macrophages THP-1 ; acide eicosapentaénoïque (acide gras poly-insaturé oméga 3) ; polarisation ; cytométrie de flux (FACS) ; dosage de cytokines (ELISA)

Résumé (en quelques lignes) :

Les mécanismes par lesquels les acides gras polyinsaturés de la famille oméga 3 (AGPI n-3), notamment l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20 : n-3) exercent un effet cardio-protecteur ne sont pas tous connus. L'athérosclérose est un phénomène inflammatoire caractérisé par un dépôt sur les artères de macrophages gorgés de cholestérol appelés cellules spumeuses. La seule possibilité pour les macrophages spumeux de se débarrasser du cholestérol en excès est la sortie ou efflux du cholestérol, processus anti-athérogène.

A l'aide de la lignée monocytaire-macrophagique humaine THP-1, nous avons démontré que l'EPA stimule l'efflux du cholestérol par le transporteur ABCA1 [Dakroub H et al, 2021 *Biochim Biophys Acta*] et cet effet est exacerbé après ajout de LPS. Or, dans ces conditions inflammatoires, les macrophages témoins présentent des capacités d'efflux réduites probablement dues à une moindre production d'ATP indispensable au fonctionnement de l'ABCA1. Nous émettons l'hypothèse que l'EPA exerce ses effets bénéfiques sur l'efflux du cholestérol en modifiant la reprogrammation des macrophages activés, en particulier leur métabolisme énergétique.

Les cellules THP-1 seront enrichies (ou pas : macrophages témoins) en EPA puis différenciées en phénotype M0 (non polarisé), M1 pro-inflammatoires (LPS et IFN γ) ou M2 anti-inflammatoires (IL-4 et IL-13). Dans ces expériences où la concentration des agents polarisants ainsi que le temps de stimulation seront variables, la détermination par cytométrie de flux des marqueurs de surface CD80 et CD206 associée à la mesure par technique ELISA d'un panel de cytokines sécrétées (IL-6, IL-10, IL-1 β , IFN γ et TNF α) permettront de décrire de manière complète le phénotype des macrophages.