

Offre de stage de Master 2

Laboratoire d'accueil :

Encadrante du stage (principal) : **Céline Schmitter**, doctorante, celine.schmitter@univ-lyon1.fr , +33(0)4.72.72.26.77

Encadrante du stage (secondaire) : **Elise Lambert**, Maitre de Conférence, elise.lambert@ibcp.fr, +33(0)4.72.72.26.77



Laboratoire : **Laboratoire de Biologie Tissulaire et Ingénierie Thérapeutique**

Chef d'équipe : **Ulrich Valcourt**, Professeur, ulrich.valcourt@ibcp.fr, +33(0)4.72.72.26.53

Adresse du stage : 7 Passage du Vercors, Lyon 69367

Site internet de l'équipe : https://lbt.iibcp.fr/?page_id=4100

Langues parlées dans l'équipe : **Français** majoritairement / **Anglais**

Projet de recherche :

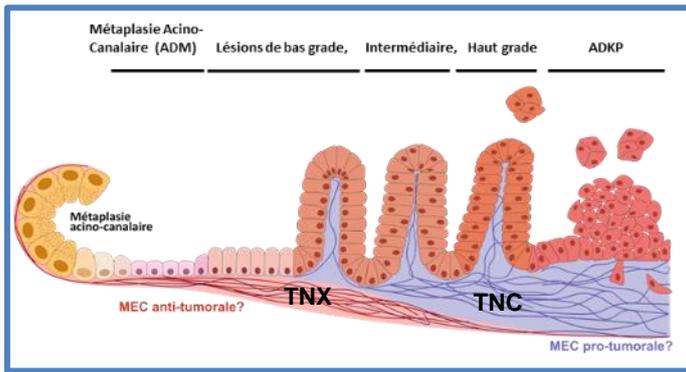
Titre : **Détermination du potentiel thérapeutique de la Ténascine-X par reprogrammation cellulaire dans le microenvironnement tumoral pancréatique.**

Mots clés : Adénocarcinome canalaire pancréatique, stroma, matrice extracellulaire (MEC), Ténascine-X, CRISPR

Description du projet :

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (ADKP) est le 6^{ème} cancer le plus mortel dans le monde avec une survie à 5 ans inférieur à 10% après diagnostic. Cela s'explique par un manque de symptômes des patients conduisant à une détection tardive de la tumeur mais également par la faible efficacité des traitements disponibles. En cela il est important de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques pour ce cancer.

Les Ténascines représentent une famille de quatre glycoprotéines de la matrice extracellulaire (TNX, TNC, TNW, TNR) qui partagent une structure modulaire commune mais sont différenciellement exprimées selon le contexte ¹. La TNC est généralement surexprimée lors de cancers et associées à un mauvais pronostic alors que la TNX est exprimée dans les tissus conjonctifs chez l'adulte et disparaît dans les six tumeurs solides les plus fréquentes au monde ^{2,3}. Concernant l'ADKP, la TNC est considérée comme un acteur pro-tumoral alors que le rôle de la TNX reste à élucider.



Le projet que nous développons depuis plusieurs années a permis de montrer 1) que le dépôt de TNX est augmenté dans les lésions précurseurs de l'ADKP avant de disparaître totalement dans la tumeur établie, 2) qu'un faible dépôt de TNX autour des lésions précurseurs est corrélé à une forte prolifération cellulaire et 3) qu'une faible expression de TNX dans les échantillons tumoraux humains est corrélée à une survie plus faible des patients ainsi qu'à une

augmentation des processus liés à la prolifération cellulaire. Nous supposons donc que la TNX aurait un rôle antitumoral dans les premières étapes de développement de l'ADKP et cherchons un(e) stagiaire pour nous accompagner sur ce projet.

Les cellules pancréatiques étoilées (PSC) correspondent aux cellules résidentes du tissu conjonctif pancréatique. Elles sont activées au cours de la carcinogenèse pancréatique et deviennent ainsi des Fibroblastes Associés au Cancer (CAF) responsables d'un dépôt excessif de MEC (desmoplasie). Nous disposons de CAF immortalisés provenant d'un patient atteint d'un cancer du pancréas. Ils produisent la TNC mais pas la TNX (en présence de sérum). La suite du projet, auquel le/la stagiaire sera amené(e) à participer visera à utiliser des techniques de CRISPR activateur pour ré-induire l'expression de Ténascine-X et de CRISPR Knockout pour empêcher la production de Ténascine-C dans ces CAF. Selon l'avancée du projet, le/la stagiaire pourra être amené(e) à faire de la **culture cellulaire** et des **transfections** pour obtenir des CAF modifiés puis à réaliser des **Western Blots** (pour confirmer la production de TNX et/ou TNC) et des **immunofluorescences** (pour confirmer le dépôt de TNX et/ou TNC dans la MEC). Une fois les cellules obtenues, le/la stagiaire pourra réaliser diverses expériences pour attester du rôle de la TNX :

- **Matrices dérivées de cellules** : Production d'une matrice extracellulaire par les CAF reprogrammés, élimination des CAF (sans déranger la matrice déposée) et ajout de cellules tumorales pancréatiques avec analyse de leur adhésion et prolifération (via l'utilisation d'un **incucyte**).
- **Culture cellulaire 3D** : Culture de CAF reprogrammés dans un gel de collagène puis ajout de cellules tumorales pancréatiques avec analyse de leur pouvoir invasif dans ce gel. L'invasion des cellules tumorales et la composition du gel seront analysées par **immunohistochimie**.
- **Participation à des analyses in-vivo** : Co-injection orthotopique (dans le pancréas de souris Nude) de CAF modifiés avec des cellules tumorales pancréatiques et analyse de la progression de la tumeur (taille, élasticité, métastases).

Publications du laboratoire ou revue recommandée sur le sujet :

1. Chiquet-Ehrismann, R. & Tucker, R. P. Tenascins and the importance of adhesion modulation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **3**, (2011).
2. Liot, S. *et al.* Loss of Tenascin-X expression during tumor progression: A new pan-cancer marker. *Matrix Biol. Plus* **6–7**, 100021 (2020).
3. Liot, S. *et al.* Stroma involvement in pancreatic ductal adenocarcinoma: an overview focusing on extracellular matrix proteins. *Front. Immunol.* **12**, (2021).