

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	<b>FINANCEMENT :</b> <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement :
Titre de la thèse : C-NU Caractérisation et potentialisation de l'activité anti-tumorale d'effecteurs cellulaires T humains par induction de l'expression de la protéine kinase Syk		3 mots-clés : protéine kinase Syk immunothérapie lymphocytes T
Unité/équipe encadrante : CRCI2NA, INSERM UMR1307, CNRS UMR 6075, équipe 12 MITIC		
Directeur de thèse : Dr Laetitia Gautreau-Rolland		N° de tél : 02-28-08-02-65 Mail : laetitia.gautreau@univ-nantes.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u>          Notre équipe s'intéresse depuis de nombreuses années à la biologie des lymphocytes T humains conventionnels et non conventionnels et à leur exploitation en immunothérapie. L'expertise de l'équipe repose notamment sur l'isolement de populations lymphocytaires rares de spécificité connue, sur leur maintien <i>in vitro</i> grâce à une amplification non spécifique et sur leur manipulation pour moduler leurs fonctions effectrices.          L'activation des lymphocytes T implique la phosphorylation de la kinase Zap-70, qui contrôle plusieurs voies de signalisation aboutissant au réarrangement du cytosquelette, à l'augmentation du Ca<sup>2+</sup> libre intracellulaire et à l'activation des MAPK (Hivroz et al., 2005). La protéine kinase Syk, appartenant à la même famille que Zap-70, est impliquée dans l'activation des lymphocytes B mais aussi dans le développement intrathymique des lymphocytes T. L'expression de Syk est complètement abolie dans les cellules T matures chez la souris mais pas chez l'homme (Chu et al., 1999). Une augmentation de la fréquence de cellules T CD4<sup>+</sup> Syk<sup>+</sup> dans le sang a été reportée chez des patients déficients en Zap-70 (Elder et al., 2001).</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u>          Un des axes de notre équipe se porte sur l'étude des cellules iNKT, des lymphocytes T non conventionnels caractérisés par une forte production de cytokines et qui participent à l'élimination des pathogènes et des cellules cancéreuses. L'analyse du potentiel auto-réactif de cellules iNKT humaines, c'est-à-dire leur potentiel à reconnaître des cellules du soi, a mis en évidence l'expression de la protéine kinase Syk dans les cellules iNKT les plus auto-réactives (Perroteau et al., 2020). Nous avons récemment montré que l'expression de Syk diminue de manière significative le seuil de réactivité des cellules iNKT mais aussi des cellules T conventionnelles. Nous émettons l'hypothèse que la signalisation du TCR potentialisée par l'activation de Syk augmente leur réactivité. Nous envisageons d'induire l'expression de Syk dans des effecteurs cellulaires T utilisés en immunothérapie adoptive afin d'augmenter leur réactivité et ainsi leur potentiel anti-tumoral.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u>          Le projet de thèse a pour objectifs principaux :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• De décrypter en profondeur les <b>mécanismes à l'origine de l'auto-réactivité</b> des cellules iNKT ainsi que d'autres lymphocytes T conventionnels ou non conventionnels et de soupeser chacun de ces mécanismes (antigène du soi reconnu, séquence du TCR, expression de Syk, métabolisme intrinsèque...) dans la réactivité de plusieurs lignées T auto-réactives.</li> <li>• De finaliser <b>l'extinction du gène Syk dans les cellules iNKT Syk<sup>+</sup></b> par la technologie Crispr-Cas9. L'extinction de Syk permettrait de diminuer l'activité de ces cellules T et ainsi de confirmer le rôle direct de l'implication de Syk dans l'activité des lymphocytes T.</li> </ul>		

- **D'induire l'expression de Syk dans des effecteurs cellulaires T** dont le rôle anti-tumoral a déjà été démontré (e.g : lymphocytes T  $\gamma\delta$ , lymphocytes T  $\alpha\beta$  spécifiques d'antigènes tumoraux). La manipulation génétique pourra se faire par transfection transitoire soit par nucléo-transfection, soit par un système viral. Les cellules T ainsi rendues plus réactives seront plus aptes à reconnaître et à tuer des cellules cancéreuses. Ainsi **la réactivité** de ces effecteurs T modifiés *in vitro* sera étudiée face à des lignées tumorales humaines *et in vivo* face à une tumeur humaine dans un modèle murin immunodéficient. De plus, la **cascade de signalisation** induite par Syk dans ces effecteurs T modifiés sera analysée par cytométrie en flux ou par Western-Blot.

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :

Le candidat doit avoir une solide formation en immunologie et avoir les compétences techniques suivantes : culture *in vitro* de cellules humaines, cytométrie en flux et biologie moléculaire.

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

Perroteau J, et al . Eur J Immunol 2020 - Contribution of the SYK Tyrosine kinase expression to human iNKT self-reactivity.

Chauvin C et al., Clin Cancer Res. 2019 - NKG2D Controls Natural Reactivity of V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T Lymphocytes against Mesenchymal Glioblastoma Cells

Devilder MC et al. BMC Biotechnol 2019 - Ex vivo evolution of human antibodies by CRISPR-X: from a naive B cell repertoire to affinity matured antibodies.

Collaborations nationales et internationales :