



OFFRE DE STAGE MASTER 2

LE ROLE DE LA GLYCOSYLATION DANS L'ACQUISITION DES FONCTIONS REGULATRICES DU LYMPHOCYTE B

INSERM U1227 Lymphocytes B, Auto-immunité et Immunothérapies (LBAI)

CONTEXTE

Le système immunitaire repose sur des mécanismes complexes permettant de reconnaître et d'éliminer les agents étrangers, tout en maintenant un équilibre immunitaire. Il est composé d'un ensemble de cellules dont les lymphocytes B jouent un rôle essentiel par la production d'anticorps. Récemment, il a été mis en évidence que ces cellules étaient capables de réguler l'activité du système immunitaire par la sécrétion de cytokines telles que l'IL-10, le TGF β ou le biais d'un contact cellulaire impliquant divers marqueurs membranaires (molécules de costimulation etc). Ces lymphocytes B sont définis comme étant « régulateurs ». Leurs dysfonctionnements entraînent l'émergence de pathologies telles que l'allergie ou des maladies auto-immunes. Il est donc essentiel de comprendre les mécanismes impliqués dans l'acquisition, le maintien et la manifestation de leurs fonctions régulatrices. Dans ce contexte, notre attention s'est portée sur la glycosylation. C'est un processus biochimique ubiquitaire consistant à lier des chaînes osidiques aux protéines cellulaires. Ces modifications post-traductionnelles sont essentielles pour la manifestation de leurs fonctions et donc de diverses activités physiologiques de la cellule (signalisation intracellulaire, communication intercellulaire, l'adhérence). Certains de nos travaux ont mis en exergue des signatures glycosidiques atypiques associées à certaines pathologies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminés, le syndrome de Goujerot-Sjögren, la polyarthrite rhumatoïde. En parallèle, il a été montré dans ces maladies des dysfonctionnements de l'activité régulatrice des lymphocytes B. Ces observations concomitantes, nous ont permis de formuler l'hypothèse que les défauts glycosidiques observés pourraient être à l'origine des perturbations des fonctions régulatrices des LB.

PREAMBULES et OBJECTIFS

Dans le cadre de ce projet de recherche, un modèle *in vitro* de coculture (avec des lymphocytes T) a permis d'induire des lymphocytes B ayant des propriétés régulatrices. Grâce à lectines biotinyllées, reconnaissant spécifiquement des motifs glycosylés, il a été possible d'étudier la glycosylation de ces cellules par cytométrie en flux ou par western blot. Une signature glycosidique spécifique des B ayant une activité régulatrice a pu être mise en évidence. L'utilisation d'inhibiteurs contre les enzymes impliquées dans la mise en place de

cette signature montre une perturbation importante des fonctions régulatrices des lymphocytes B exercées sur la prolifération des lymphocytes T.

L'objectif de ce stage est d'établir une corrélation entre l'acquisition d'une activité régulatrice ou effectrice les lymphocytes B et le profil transcriptomique des gènes impliqués dans le développement de la signature glycosidique observée.

Le/La futur(e) candidat(e) aura pour mission d'établir avec l'aide de ces encadrants et de la plateforme de cytométrie en flux « HYPERION » :

- D'établir une cinétique pour l'appréciation de la signature moléculaire.
- L'optimisation d'une approche de tri cellulaire pour isoler les lymphocytes B régulateurs (magnétique ou par cytométrie en flux).
- L'extraction d'ARNm de ces cellules.
- La réalisation de RT-qPCR pour obtenir le profil d'expression des gènes impliqués dans la glycosylation.

TECHNIQUES MISES EN ŒUVRE pendant le stage :

- **Biologie Cellulaire (Isolation et culture de cellules humaines primaires, Phénotypage par cytométrie en flux).**
- **Biologie Moléculaire (Extraction d'ARNm et réalisation de RT-qPCR)**

Période du stage : 6 mois à partir de Janvier 2025

Gratification : 15% du plafond horaire

Merci de prendre contact avec l'équipe encadrante par l'envoi d'un Curriculum Vitae et d'une lettre de motivation adressée à Anne Bordron anne.bordron@univ-brest.fr ; Pierre Pochard pierre.pochard@chu-brest.fr ; Pauline Kerleroux-Trebaol pauline.kerleroux@univ-brest.fr