



Master Biologie Moléculaire et Cellulaire 'BMC',
Université de Paris - UFR Sciences du Vivant

Parcours : **Biologie et Développement Cellulaires 'BDC'**

<http://www.master2bdc.fr/>

Fiche de Projet de Stage M2, Année 2021-2022

Unité INSERM ou CNRS ou Université : Inserm U1134, Université de Paris	Responsable du Stage : Mélanie Franco
Intitulé Equipe : Biologie Intégrée du Globule Rouge-Physiologie du Globule Rouge Normal et Pathologique	Contacts Adresse : 6 rue Alexandre Cabanel 75015 Paris Email : melanie.franco@inserm.fr
ED d'appartenance : ED562-BioSPC	Tel : +33 1 44 49 38 03
Responsable de l'Equipe : Pr Caroline Le Van Kim	

Titre du projet :

Bases moléculaires de la dérégulation des protéines érythrocytaires à ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI, GPI-associated proteins, GPI-APs) dans la maladie de Gaucher

Résumé du Projet de Stage :

La **maladie de Gaucher** (MG) est une maladie génétique rare due à une déficience en **glucocérébrosidase** lysosomale (GBA), altérant le catabolisme des **sphingolipides** dans les **macrophages** qui se transforment en **cellules de Gaucher**. Ces cellules sont considérées comme les principaux responsables de la MG mais la survenue de certains symptômes tels que l'anémie et l'inflammation chronique pourraient impliquer les **globules rouges** (GRs).

Notre équipe a montré que la **protéine Sema-7A (protéine membranaire à ancre GPI, GPI-AP)** est un nouveau biomarqueur de la MG : Sem7A présente une expression diminuée à la surface des GRs issus de patients Gaucher, sa forme soluble est retrouvée augmentée dans leurs plasmas. Des résultats préliminaires suggèrent une dérégulation globale des GPI-APs dans la MG : les 2 autres GPI-APs (CD55 et CD59) érythrocytaires présentent aussi une expression diminuée.

Dans le but de mieux comprendre le rôle de GPI-APs dans cette pathologie, nous souhaitons déterminer les bases moléculaires expliquant leurs dérégulations.

Nos objectifs sont de tester :

- Si les GPI-APs érythrocytaires sont **clivés par des facteurs externes**, tels que la métalloprotéase ADAM17, l'hypoxie ou des forces de cisaillement (contraintes mécaniques).
- Si les faibles taux de GPI-APs à la surface des GRs Gaucher pourraient provenir d'un défaut de synthèse et/ou d'adressage lors de la formation des cellules érythroïdes : i) Le niveau d'expression des GPI-APs sera évalué au cours d'expériences **d'érythropoïèse *in vitro*** dans un contexte mimant la MG, ii) **L'expression, l'assemblage et la localisation subcellulaire** des GPI-APs seront étudiés dans un modèle **d'invalidation du gène GBA** dans une lignée cellulaire érythroblastique par **CRISPR-Cas9**.

A partir de sang provenant de l'EFS et d'une banque de GRs congelés issus de patients, l'étudiant participera à ce projet qui comprendra des techniques de cytométrie en flux, de qPCR, d'ELISA, de biologie cellulaire, de microscopie et des études rhéologiques.

<https://sites.google.com/view/umrs1134-team1/projects/gaucher-disease>

Publications de l'équipe relatives au projet de stage (max 5)

1. Franco, M. *et al. Blood* **121**, 546–555 (2013).
2. Reihani, N. *et al. Haematologica* **101**, 1489–1498 (2016).
3. Dupuis, L. *et al. J Cell Mol Med* **24**, 9726–9736 (2020).
4. Franco, M. *et al. Am J Hematol* **95**, 483–491 (2020).