

Titre du projet : Rôle de la traduction et de RPS6 dans la thrombopénie liée à ETV6

Laboratoire : C2VN

Equipe : Thrombose et désordre vasculaire (Equipe 2)

Adresse : FSMP, 27 bd Jean Moulin, 13385 Marseille Cedex 05

Tuteur de stage : Marjorie Poggi

Contact : 04 91 32 44 52, marjorie.poggi@univ-amu.fr

Contexte

Les thrombopénies constitutionnelles (TC) sont des maladies rares et hétérogènes, souvent marquées par un diagnostic tardif et des erreurs thérapeutiques. Grâce aux avancées en séquençage, les anomalies génétiques à l'origine de ces thrombopénies sont mieux caractérisées¹. Notre projet concerne la TC associée à des variants du gène ETV6, un facteur de transcription clé dans l'hématopoïèse, pour laquelle nous avons déjà une expertise^{2,3}. Les mutations germinales du gène ETV6 sont responsables d'une thrombopénie et entraîne un risque accru de développer une hémopathie maligne. Bien que les études menées jusqu'à présent aient fourni des informations importantes sur le rôle joué par ETV6 dans la mégacaryopoïèse et la formation des plaquettes, les mécanismes moléculaires qui sous-tendent cette maladie ne sont pas connus. Dans notre première étude sur l'impact des variants ETV6, nous avons observé une augmentation de la prolifération des précurseurs des plaquettes, un défaut de leur ploïdisation et de la production des plaquettes². Nos récents travaux d'analyse du transcriptome à l'échelle cellulaire (scRNAseq) mettent évidence une augmentation de la traduction dans les mégacaryocytes (MK) porteurs de variants ETV6 par rapport aux cellules contrôles. A l'inverse, la voie de réparation de l'ADN est diminuée³ (figure).

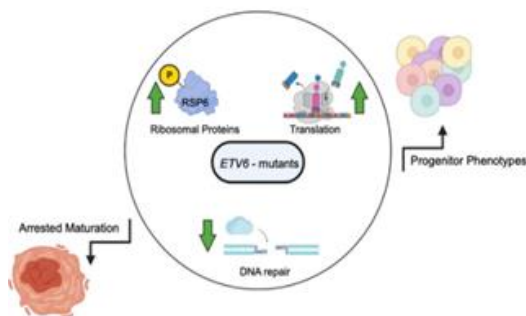


Figure 1 Single-cell RNA sequencing has shed light on the transcriptional landscape of ETV6-related thrombocytopenia. Cells carrying ETV6 variants exhibited heightened translation capacity, particularly evident in increased expression of ribosomal proteins, notably ribosomal protein RPS6, alongside impaired DNA repair pathways. Simultaneously, these transcriptomic alterations correlated with a reduction in megakaryocyte maturation and platelet production. Figure from Camacho *et al.*, 2023³ (comment on Bigot *et al.*, 2023)

Hypothèse et Objectif

Nous émettons l'hypothèse que les variants d'ETV6 induisent une dysrégulation de la traduction et affectent l'expression des protéines ribosomales, notamment RPS6, pendant la mégacaryopoïèse, entraînant des défauts de maturation des MK et de formation de proplaquettes. Étant donné le rôle des protéines ribosomales dans la régulation de l'intégrité génomique, des niveaux élevés de RPS6 pourraient aussi contribuer à la prédisposition à la leucémie chez les porteurs de variants d'ETV6. L'objectif est d'étudier la régulation de la traduction et le rôle de RPS6 dans la mégacaryopoïèse normale et déficiente en ETV6.

Méthodologie et Techniques envisagées

1) **Analyse de la traduction globale et des niveaux de RPS** : Utilisation de séquençage à haut débit et de cytométrie de flux.

2) **Impact de RPS6 et de sa phosphorylation** : Étude de la mégacaryopoïèse et de la formation des plaquettes en modulant l'expression/phosphorylation de RPS6 par des approches génétiques et pharmacologiques, in vitro et in vivo.

3) **Évaluation des lésions de l'ADN et des voies de réparation** : Analyse des liens entre niveaux élevés de RPS6 et dommages de l'ADN dans les cellules mutées pour ETV6.

Durée de stage et perspectives : 6 mois à partir janvier 2025 ; indemnités de stage fixées par l'université. Le stage pourra déboucher sur la préparation d'un projet de thèse (à démarrer à la rentrée universitaire 2025).

Profil attendu du candidat : Nous recherchons un/e candidat/e motivé/e souhaitant s'investir dans la recherche et poursuivre en **thèse de science**. Des connaissances en hématologie et biologie cellulaire seraient appréciées, une première expérience en culture cellulaire serait un plus.

Bibliographie

1. Warren, J. T. & Di Paola, J. Genetics of inherited thrombocytopenias. *Blood* **139**, 3264–3277 (2022).
2. Poggi, M. *et al.* Germline variants in ETV6 underlie reduced platelet formation, platelet dysfunction and increased levels of circulating CD34+ progenitors. *Haematologica* **102**, 282–294 (2017).
3. Bigot, T. *et al.* Single-cell analysis of megakaryopoiesis in peripheral CD34+ cells: insights into ETV6-related thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* S1538-7836(23)00321–5 (2023) doi:10.1016/j.jtha.2023.04.007.

Envoyer CV et lettre de motivation ainsi que notes du M1 à marjorie.poggi@univ-amu.fr avant le 30 septembre 2024.