

## Offre d'accueil d'un doctorant à l'UMR\_S949 INSERM (EFS-Alsace)

### Influence du microenvironnement cellulaire sur la mégacaryopoïèse et la biogenèse des plaquettes sanguines

Les plaquettes sanguines ont comme rôle principal d'arrêter les saignements. Les plaquettes sont produites dans la moelle osseuse à partir de précurseurs, les mégacaryocytes (MK), eux-mêmes différenciés à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH). L'objectif sera **d'identifier les éléments cellulaires de la niche hématopoïétique favorisant la mégacaryopoïèse** et au final d'améliorer la production des plaquettes en culture.

Nous proposons d'évaluer l'influence des cellules stromales et endothéliales vasculaires obtenues à partir de moelle osseuse adulte (homme et souris) et de foie fœtal (souris) dans des co-cultures avec les CSH. L'effet sera évalué sur la prolifération des CSH et leur différenciation en MKs en analysant différents marqueurs : ploïdie, expression de CD41 et CD42, ultrastructure et capacité à libérer des plaquettes. Ces analyses feront appel à des techniques, toutes disponibles au laboratoire, de cytométrie en flux, de microscopie confocale et de microscopie électronique. Ces études ouvriront la voie à l'identification des molécules impliquées, d'origine cellulaires ou sécrétées, par des approches transcriptomiques et protéomiques. Ces données permettront d'identifier les éléments requis pour une maturation optimale des mégacaryocytes et d'établir des conditions de culture permettant une augmentation de la libération des plaquettes.

Pour cette dernière étape les mégacaryocytes seront soumis à des forces hydrodynamiques mimant le flux sanguin dans des chambres de culture développées au laboratoire. Elles permettront de visualiser la libération des plaquettes par analyse microscopique en temps réel et de récupérer les plaquettes libérées. Celles-ci seront analysées biologiquement et fonctionnellement en comparaison avec les plaquettes isolées du sang. La réalisation de ce travail permettra de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la production des plaquettes sanguines *in vivo*, et de développer des conditions de culture pour une production efficace de plaquettes à partir de cellules souches.

**Techniques utilisées :** Isolement de cellules souches hématopoïétiques CD34+; culture et différenciation sur cellules stromales et endothéliales (murines ou humaine); microscopie confocale et microscopie électronique, cytométrie en flux (identification et tri de population); dosage de cytokines, analyses du transcriptome et du protéome.

**Le (la) candidat(e)** devra avoir une formation théorique solide dans le domaine de la biologie cellulaire ainsi que des connaissances théoriques en fluorescence. Il devra avoir une bonne maîtrise des conditions de culture de cellules en conditions stériles et être capable de travailler avec la souris. Nous recherchons un candidat motivé, travaillant avec précision et rigueur.

**Co-financement région Alsace-INSERM.**

**Contact :** François Lanza, UMR\_S949, EFS-Alsace, 10 rue Spielmann, Strasbourg.

e-mail: [francois.lanza@efs-alsace.fr](mailto:francois.lanza@efs-alsace.fr)

tél. 03 88 21 25 25