

**Master 2 Biologie-Santé
2020/2021
Proposition de stage**

Rôle de l'extrémité carboxyle de la Connexine 43 dans la migration des cellules cancéreuses prostatiques dépendante du microenvironnement osseux	
<u>Coordonnées du Maître de stage</u>	<u>Coordonnées de l'équipe d'accueil</u>
Nom, Prénom: Cronier Laurent et Arnaud Monvoisin Fonction : MCU E-mail : laurent.cronier@univ-poitiers.fr Téléphone : 05 49 45 37 52	Intitulé de l'équipe : 4CS Laboratoire : Laboratoire Signalisation & Transports Ioniques Membranaires (STIM) ERL7003 - CNRS - Université de Poitiers
Encadrants : Cronier Laurent et Monvoisin Arnaud	
RESUME DU SUJET :	
<p>Le cancer prostatique est le plus fréquent chez l'homme et se complique fréquemment par la formation de métastases osseuses ostéocondensantes lors de ses stades tardifs. L'os constitue donc un site métastatique privilégié du fait notamment du dialogue entre la cellule cancéreuse et le microenvironnement osseux. La compréhension et l'identification des intervenants clés de cette communication représentent un enjeu scientifique majeur pouvant aboutir au développement de nouvelles options thérapeutiques. En plus des facteurs solubles et matriciels impliqués dans ce dialogue vicieux, la connexine 43 (Cx43), protéine constitutive de canaux intercellulaires (jonctions gap) et d'hémicanaux membranaires a été très clairement associée à la progression du cancer de la prostate (Boucher et al., 2018). Nos résultats antérieurs concernant la surexpression de la Cx43 dans des lignées prostatiques humaines indiquent que cette connexine est responsable <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> d'une augmentation d'agressivité des cellules tumorales lorsqu'elle est exportée à la membrane plasmique (Lamiche et al., 2012). Sa surexpression par les cellules tumorales semblerait également amplifier la sensibilité de ces cellules vis-à-vis du microenvironnement osseux. Ainsi, nous avons démontré que la surexpression tumorale de Cx43 potentialise l'effet pro-migratoire et pro-invasif du microenvironnement osseux sur les cellules cancéreuses. De plus, l'utilisation de modèles cellulaires présentant des défauts d'exportation à la membrane ou exprimant des formes tronquées de Cx43 montrent clairement que les mécanismes promigrateurs mis en jeu par le microenvironnement osseux dépendent de la localisation membranaire de la Cx43 et surtout de son extrémité carboxyle (Thèse Jonathan Boucher, 2019). Par ailleurs, nous avons également révélé qu'une forme courte de cette connexine 43 (GJA1-20 kDa) impliquée dans le trafic intracellulaire de la Cx43 totale dans d'autres modèles voit son expression modifiée par le conditionnement osseux.</p>	

Dans ce contexte, le projet de Master2 aura pour objectif de tester le rôle de la forme courte GJA1-20 kDa dans l'exportation de la Cx43 à la membrane dans les cellules cancéreuses prostatique et ainsi d'évaluer son rôle lors de la migration cellulaire. Pour cela, nous avons surexprimé de façon stable l'isoforme Gja1-20k dans les cellules PC-3 Cx43 présentant un défaut de trafic des connexines. Le but du stage de Master sera donc de caractériser les clones générés en termes de niveau d'expression et surtout de localisation de la forme totale de la Cx43. L'étude phénotypique des clones sera également envisagée par l'analyse de la communication intercellulaire et de la fonctionnalité des hémicanaux de Cx43 ainsi que des capacités migratoires des cellules PC-3 par vidéomicroscopie time-lapse. Enfin, la sensibilité au microenvironnement osseux des cellules tumorales transfectées sera évaluée *in vitro* par l'utilisation de milieux conditionnés ostéoblastiques.

Références:

Lamiche et al. (2012), *Clin. Exp. Metastasis*. 29: 111-122.

Boucher et al. (2018), *Biochim Biophys Acta*. 2736: 30229-38.

Mots clés :

Connexine43; métastases osseuses ; cancer prostatique ; migration cellulaire et dissémination ; trafic intracellulaire

Techniques envisagées :

- culture cellulaire (lignées tumorales et cultures primaires d'ostéoblastes)
- transfections, RT-qPCR, WB
- Analyse du phénotype tumoral (anoikis, migration, invasion, apoptose)

Parcours préférentiel(s) de l'étudiant : PPP ou BCGP