Laboratoire: UMR CNRS 7275 / Université Côte d’Azur – IPMC

Responsable du Laboratoire/Equipe : Dr Pascal BARBRY

Encadrants : Laure-Emmanuelle Zaragosi et Elisa Redman

**Mise en place d’un modèle de mémoire inflammatoire dans l’épithélium des voies respiratoires**

Le but de ce projet est d'établir un modèle *in vitro* de mémoire inflammatoire dans l'épithélium des voies respiratoires.

La coordination existant dans cet épithélium entre les cellules caliciformes, qui sécrètent un mucus protecteur, et les cellules multiciliées, qui évacuent ce mucus, contribue à mettre en place le mécanisme de clairance mucociliaire. Cette clairance est altérée dans les maladies respiratoires chroniques comme l'asthme, où un excès de cellules à mucus et une diminution de la proportion de MCC sont observés. Les mécanismes régulant ce remodelage ont déjà été documentés in vivo chez la souris et in vitro grâce à l’utilisation d’un modèle de culture en 3D de l'épithélium des voies aériennes.

Les cellules isolées de patients asthmatiques et cultivées en 3D à l'interface air-liquide conservent certaines caractéristiques de la maladie, indiquant ainsi que (1) les défauts épithéliaux observés dans l'asthme peuvent être préservés puis étudiés in vitro et (2) les cellules isolées des patients conservent une mémoire du remodelage pathologique. Alors que les mécanismes responsables de cette mémoire ont commencé à être identifiés dans d'autres épithéliums comme la peau ou l'intestin, ce n'est pas le cas pour l'épithélium des voies aériennes. Parce que cette mémoire contribue probablement à la persistance de la maladie, l'établissement d'un modèle in vitro permettrait d’étudier les mécanismes qui en sont responsables et ouvrirait la voie à des études permettant de modifier cette mémoire par des composés pharmacologiques.

Notre objectif est de développer un tel modèle à partir de cultures épithéliales saines en interface air-liquide que nous traiterons avec l'IL-13, un composant majeur de la réponse épithéliale dans les maladies respiratoires allergiques de type Th2. Des conditions de traitements ont dès à présent été choisies pour établir cette mémoire inflammatoire dans l'épithélium. Nous les validerons en mesurant les changements de composition cellulaire par immunofluorescence, par des études transcriptomiques sur cellule unique, et en suivant les marques épigénétiques de cette mémoire.

Le/la stagiaire contribuera à mettre en place ce modèle in vitro de mémoire inflammatoire de l’épithélium des voies respiratoires en :

1. Réalisant des cultures 3D de régénération de l'épithélium des voies respiratoires à l'interface air-liquide (ALI).
2. Traitant les épithéliums reconstitués avec de l’IL-13, cytokine produite lors de la réponse de type Th2 qui est nécessaire et suffisante pour produire un remodelage épithélial, à travers une séquence permettant de mettre en place une mémoire inflammatoire dans l’épithélium.
3. Validant le modèle en mesurant les modifications de composition cellulaire (imagerie et single-cell RNAseq) et les marques épigénétiques induites (CUT&TAG).

Le stagiaire bénéficiera d’un environnement maitrisant à la fois des méthodes de biologie cellulaire, culture 3D, mais également les techniques de génomique de pointe comme le single-cell RNAseq et des méthodes d’analyse épigénétiques récentes.

**Setting up a model of inflammatory memory in airway epithelium**

The aim of this project is to establish an in vitro model of inflammatory memory in the airway epithelium.

The coordination existing in this epithelium between goblet cells, which secrete protective mucus, and multiciliated cells, which evacuate this mucus, contributes to setting up the mucociliary clearance mechanism. This clearance is impaired in chronic respiratory diseases such as asthma, where an excess of mucus cells and a reduced proportion of MCCs are observed. The mechanisms regulating this remodeling have already been documented in vivo in mice and in vitro in a 3D culture model of airway epithelium.

Cells isolated from asthmatic patients and cultured in this 3D model retain certain features of the disease, indicating that (1) epithelial defects observed in asthma can be preserved and then studied in vitro, and (2) cells isolated from patients retain a memory of pathological remodeling. While the mechanisms responsible for this memory have begun to be identified in other epithelia such as the skin or intestine, this is not the case for the airway epithelium. Because this memory probably contributes to the persistence of the disease, the establishment of an in vitro model would pave the way for the modification of this memory by pharmacological compounds.

Our aim is to develop such a model using 3D cultures, which we will treat with IL-13, a major component of the epithelial response in Th2-type allergic respiratory diseases. The sequence of treatments has been chosen to establish an inflammatory memory in the epithelium, which we will validate by measuring changes in cell composition using immunofluorescence and single-cell transcriptomics, and by tracking the epigenetic hallmarks of this memory.

The trainee will help set up this in vitro model of inflammatory memory in the airway epithelium by:

1) Producing 3D cultures of regenerating airway epithelium at the air-liquid interface.

2) Treating the reconstituted epithelia with IL-13, a cytokine produced during the Th2-type response which is necessary and sufficient to produce epithelial remodeling, through a sequence enabling the establishment of an inflammatory memory in the epithelium.

3) Validating the model by measuring changes in cell composition (imaging and single-cell RNAseq) and induced epigenetic marks (CUT&TAG).

The trainee will benefit from an environment that combines cell biology and 3D culture methods with cutting-edge genomics techniques such as single-cell RNAseq and recent epigenetic analysis methods.