

10-12  
MAI  
2023



# La taline: acteur moléculaire clé dans les thrombopathies liées à FLI1

**Elisa GABINAUD, Marseille**

Doctorante en sciences - deuxième année

Encadrée par le Dr Marjorie POGGI et le Pr Marie-Christine ALESSI

# Déclaration de liens d'intérêts

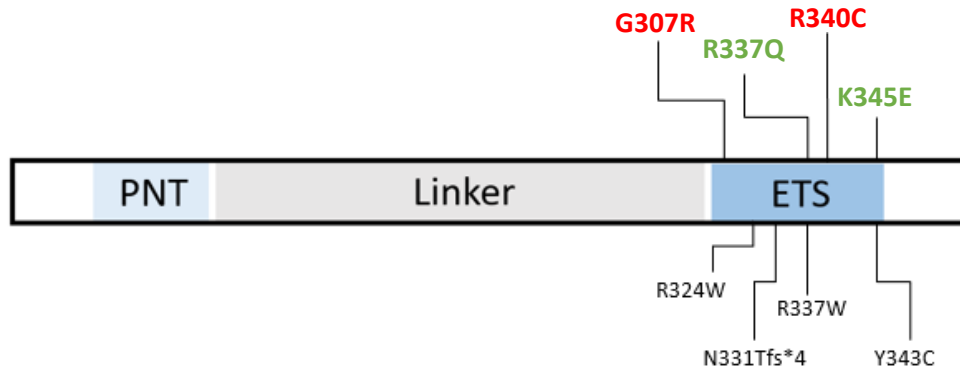
Pas de conflit d'intérêt

# Le facteur de transcription FLI1



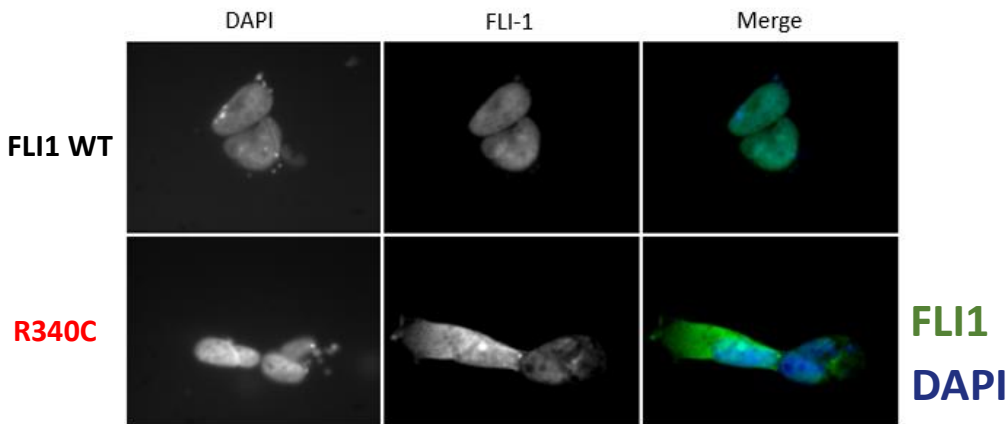
- Exprimé dans les **cellules endothéliales** et **hématopoïétiques**
- Rôles
  - **Angiogenèse, mégacaryopoïèse** et **fonction plaquettaire** (Hart *et al. Immunity*. 2001; Starck *et al. Blood*. 2010; Moussa *et al. Mol Cell Biol*. 2010; Raslova *et al. J Clin Invest*. 2004)
- Implication dans les **thrombopathies héréditaires** (Stockley *et al. Blood*. 2013; Stevenson *et al. Blood*. 2015; Saultier *et al. Haematologica*. 2017)

# Caractérisation fonctionnelle des variants FLI1

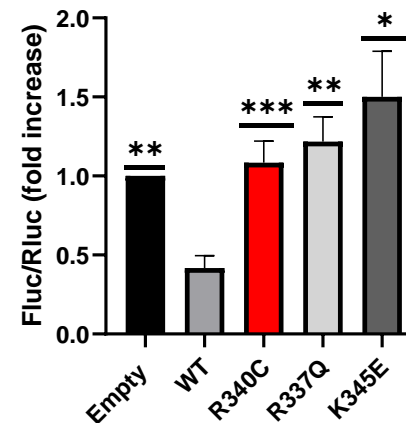


- Défaut d'accumulation nucléaire et d'activité transcriptionnelle des variants FLI1
- Saignements d'intensité variable
- Défaut d'agrégation plaquettaire
- Défaut de granules denses
- Granules α géants

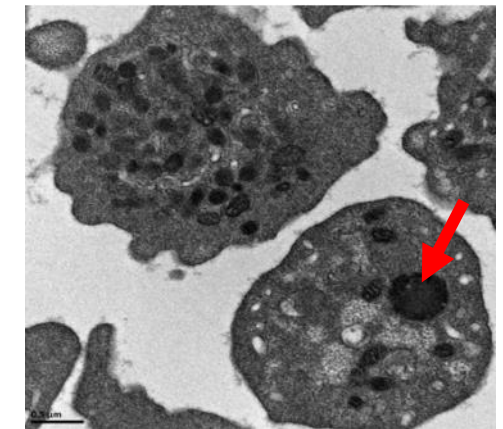
## Défaut d'accumulation nucléaire



## Défaut d'activité transcriptionnelle



## Granules alpha géants



# Objectifs

Quels sont les mécanismes impliqués dans les thrombopathies liées à des variations dans FLI1?

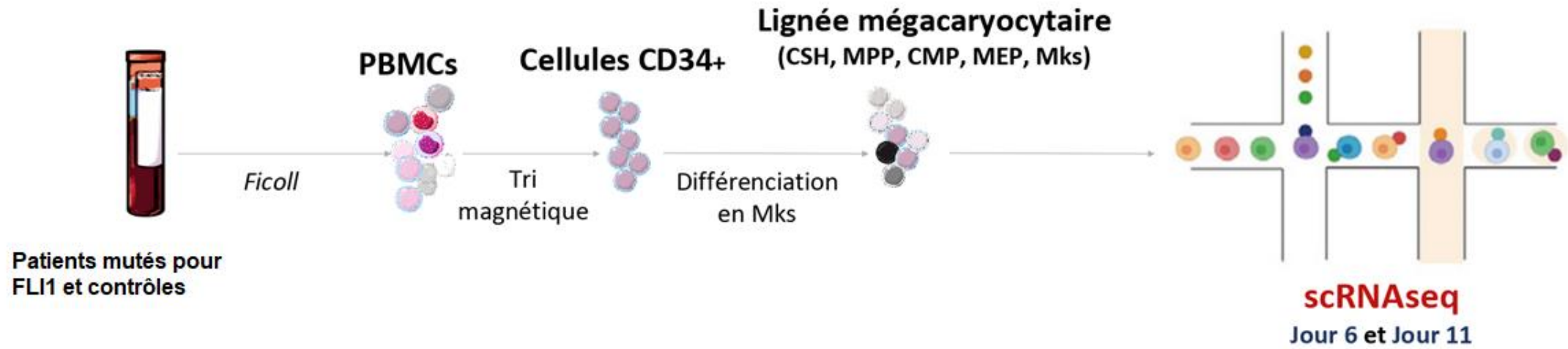


Identifier les mécanismes impliqués dans le défaut d'agrégation plaquettaire

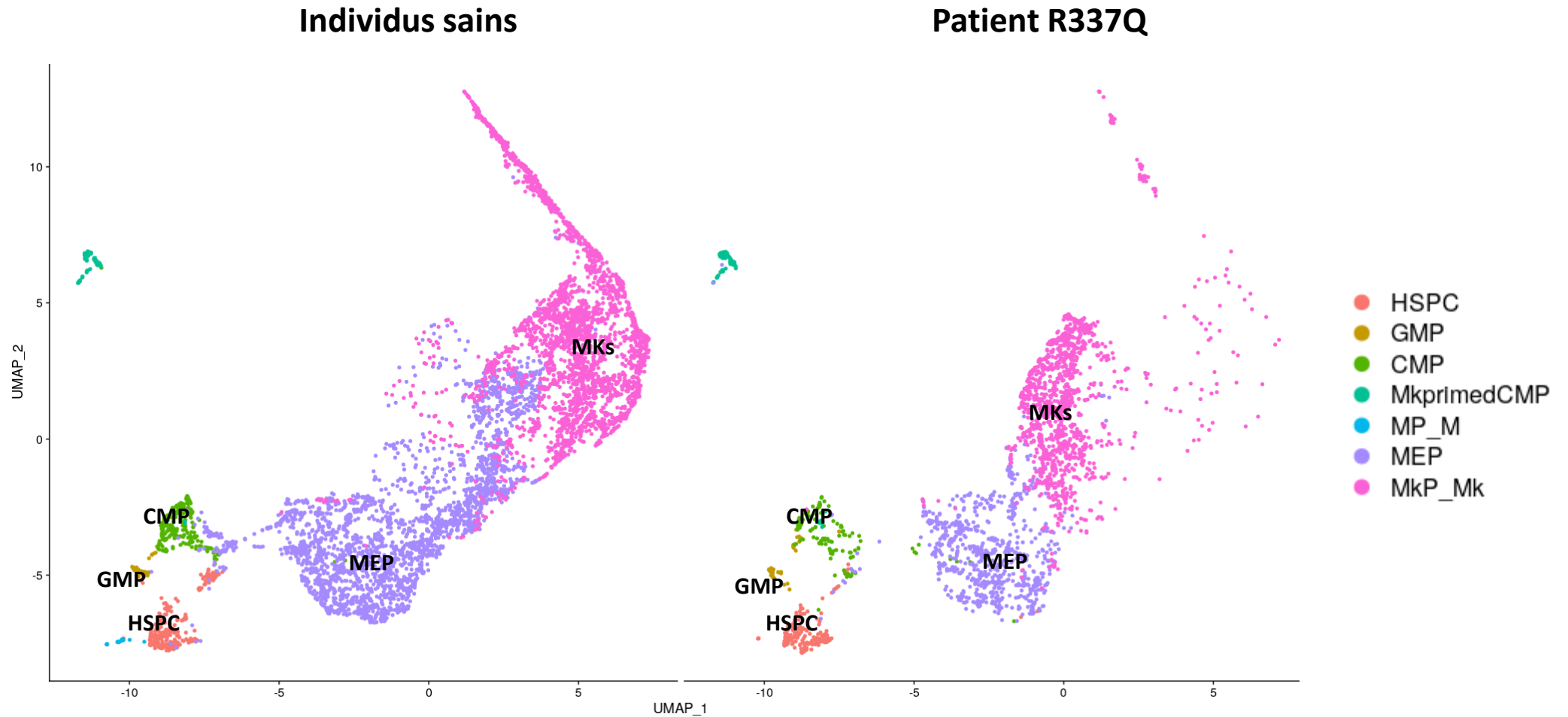


Identifier les mécanismes impliqués dans le défaut de granules denses

# Matériels et méthodes

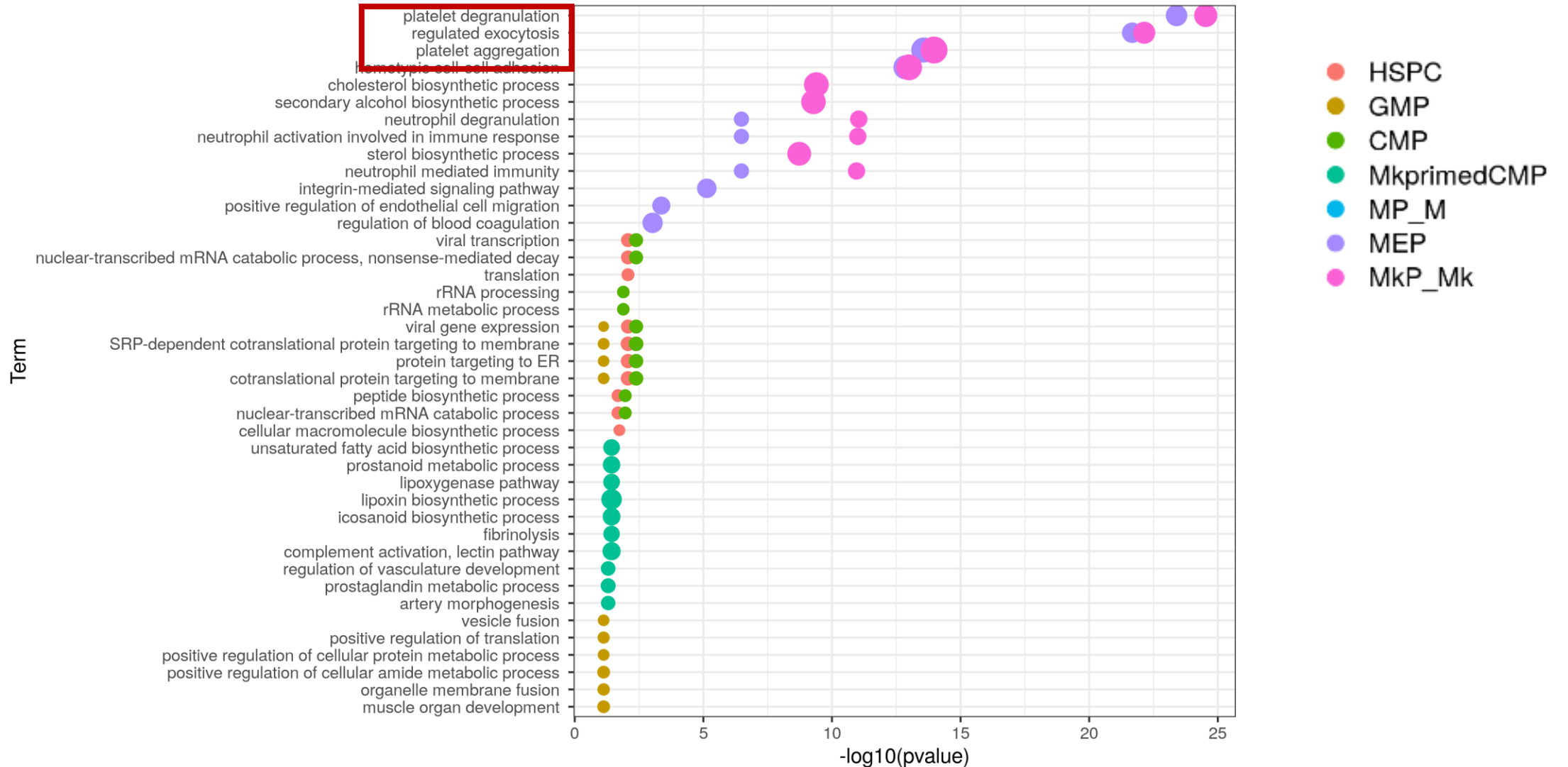


# Dérégulation transcriptionnelle au stade des MEP et des mégacaryocytes (MKs) des patients



# Dérégulation de la voie de signalisation de l'agrégation plaquettaire

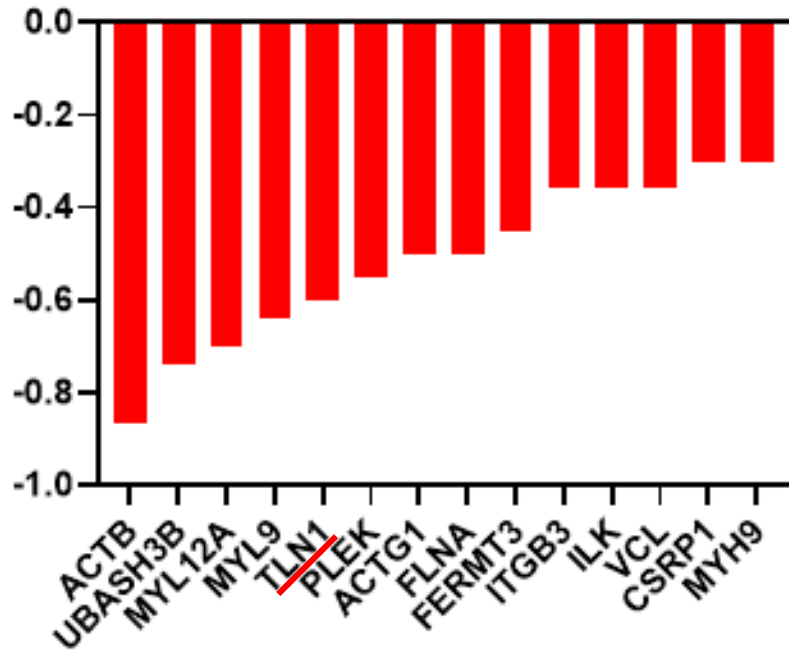
GO\_Biological\_Process\_2018 enrichment DOWN





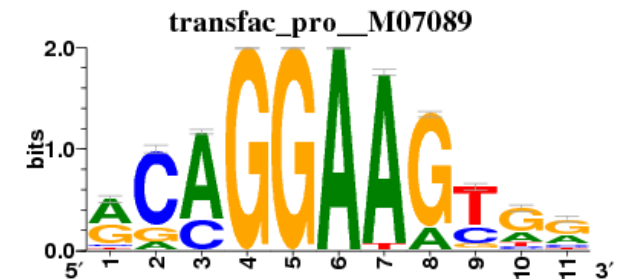
# Dérégulation de la voie de signalisation de l'agrégation plaquettaire

Top 15 des gènes dérégulés de la voie de l'agrégation plaquettaire

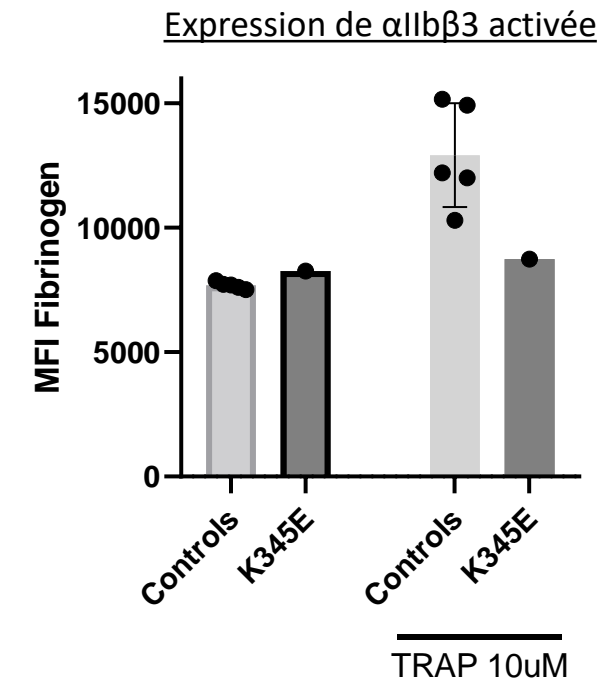
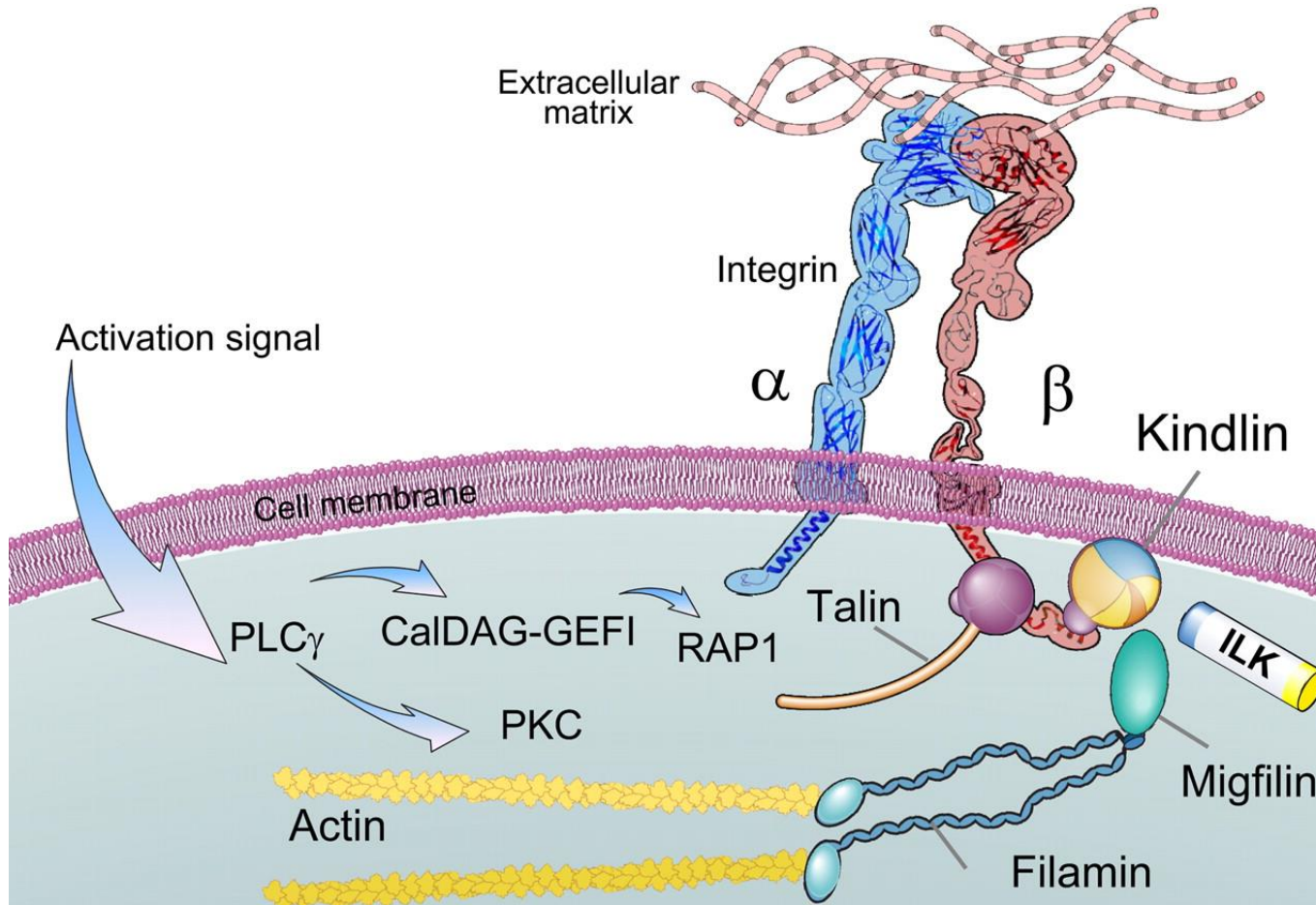


Analyse bio-informatique *i-cis target*

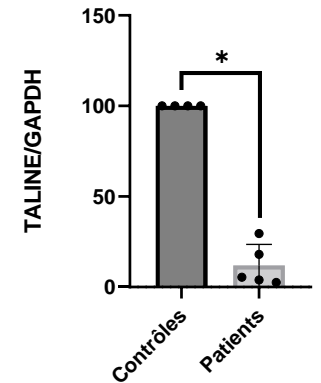
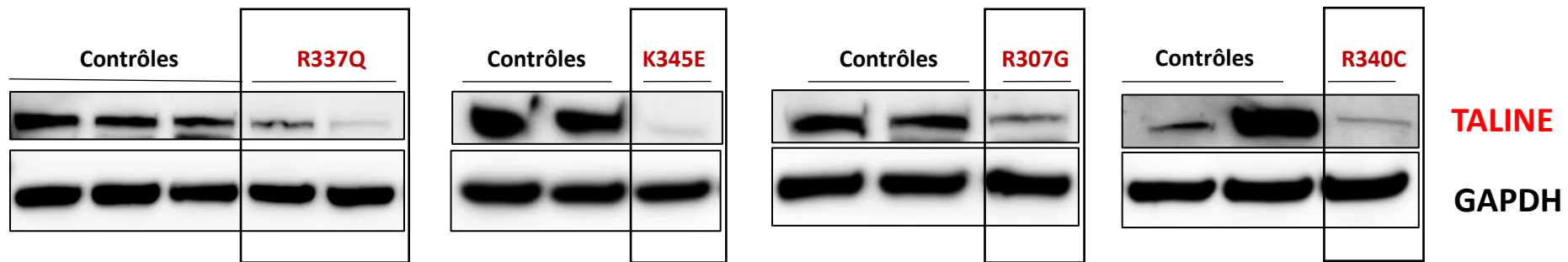
TLN1 possède des sites de fixation pour Fli1



# La taline: un acteur clé de l'agrégation plaquettaire



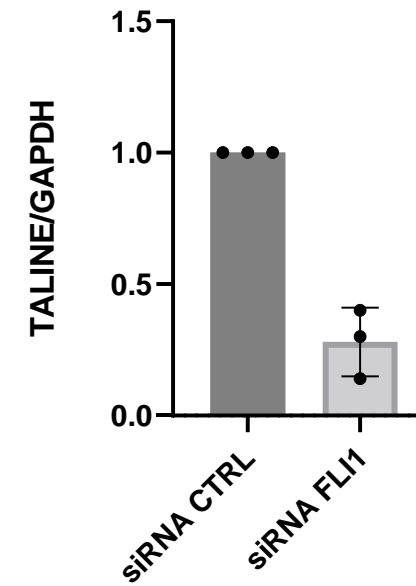
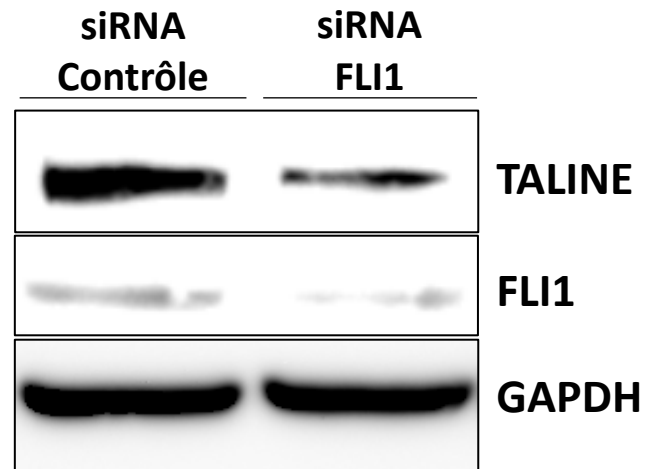
# Expression de la taline dans les plaquettes des patients



→ La taline est significativement diminuée (88%,  $p < 0.05$ ) dans les plaquettes des patients FLI1

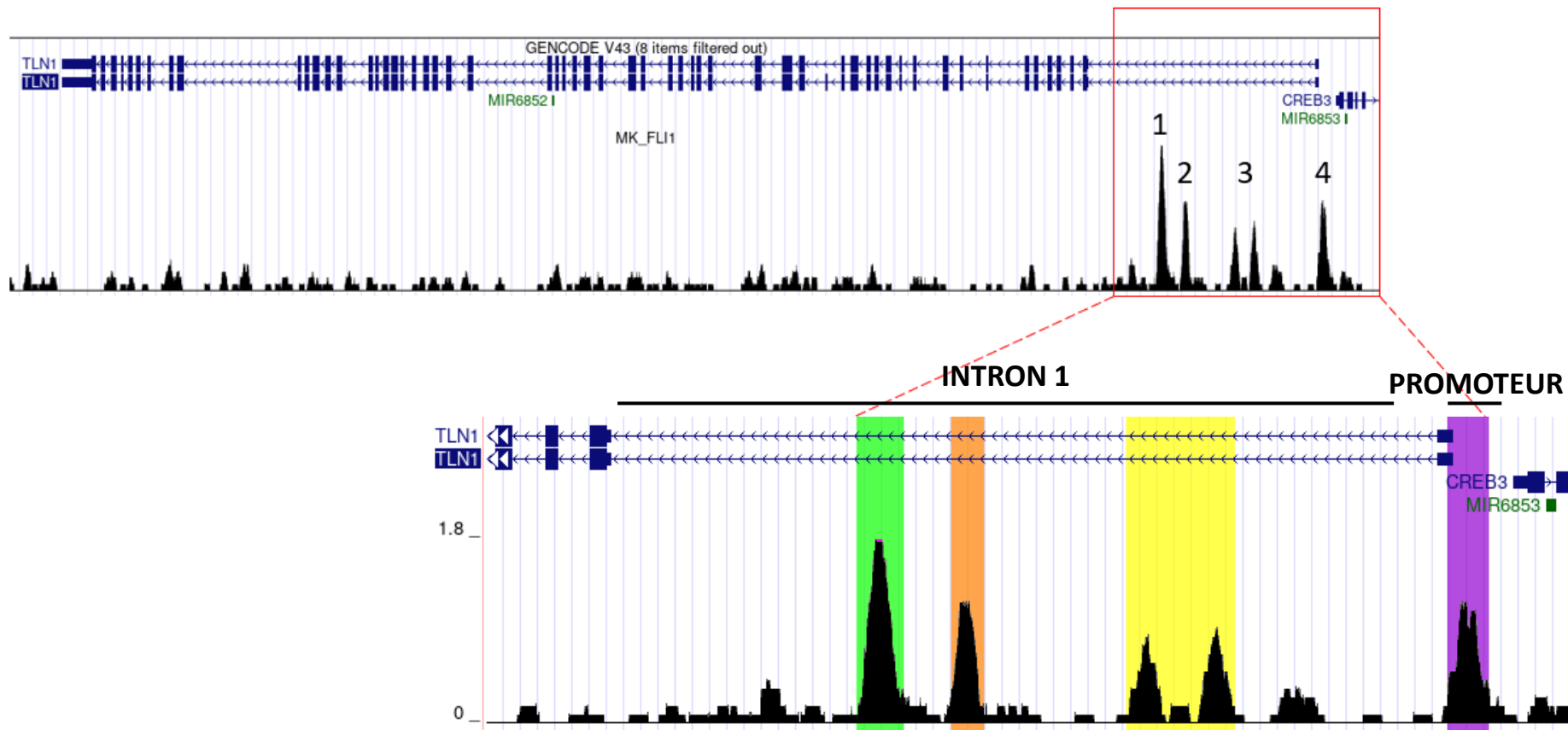
# La taline est diminuée dans des cellules déficientes en Fli1

## Lignée Meg-01



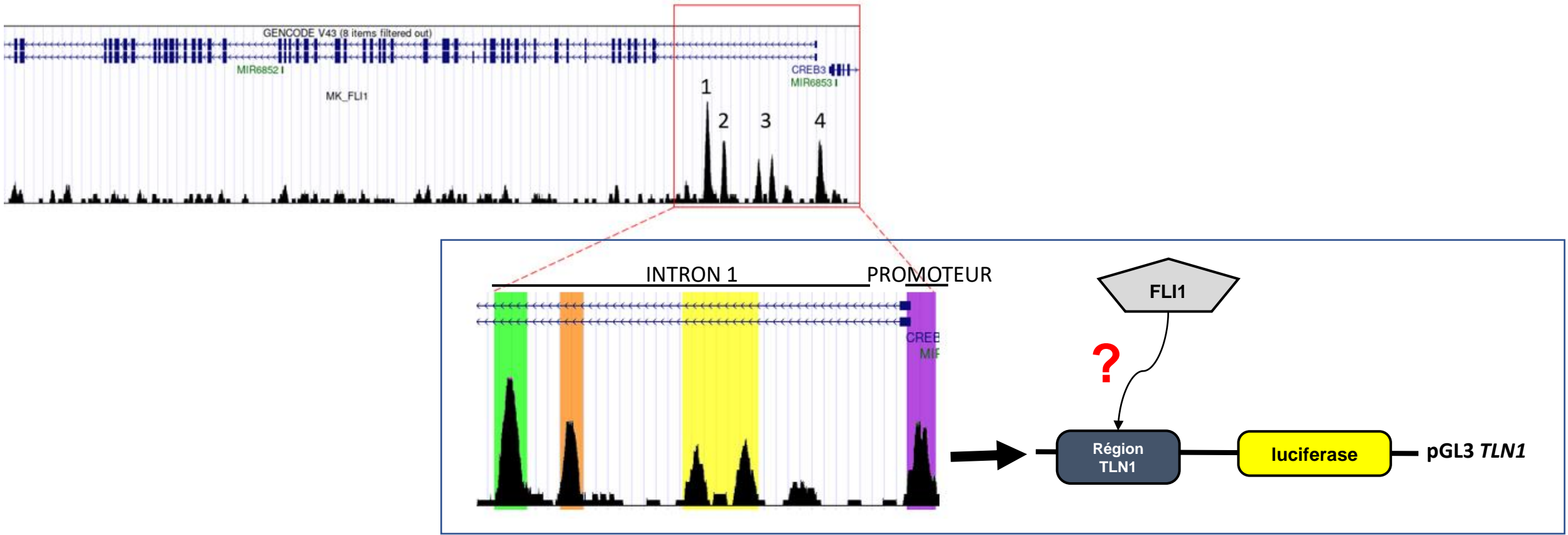
# Les séquences régulatrices de *TLN1* fixées par FLI1

ChIP-seq réalisé dans des mégacaryocytes humains

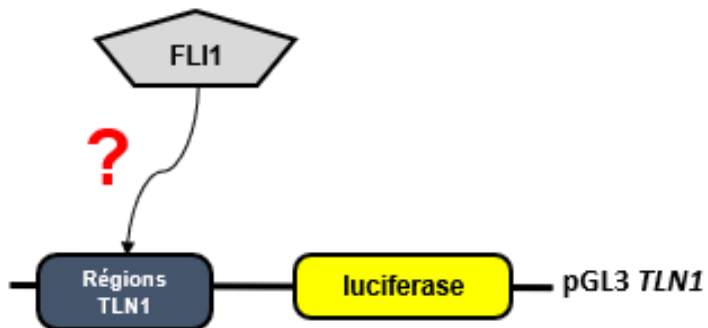
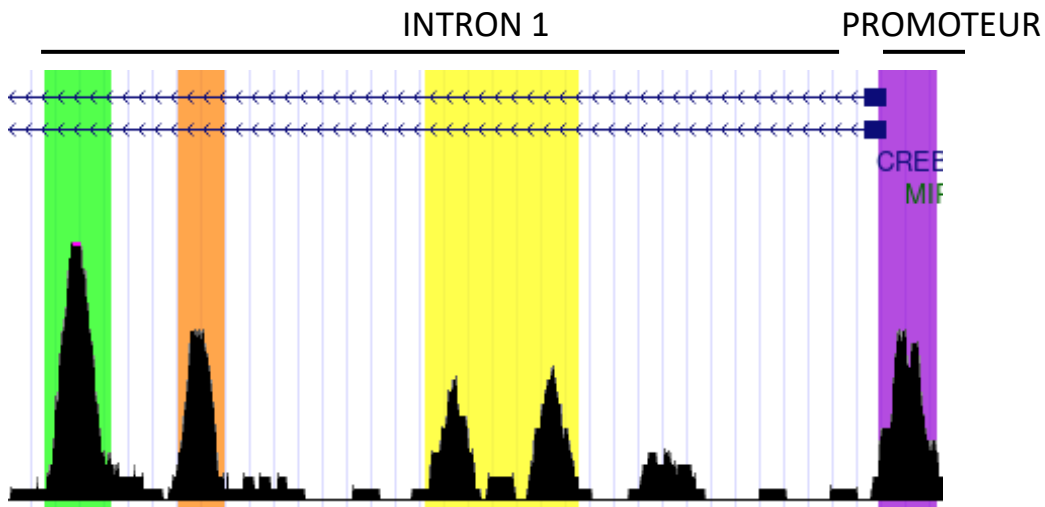


# Les séquences régulatrices de *TLN1* fixées par FLI1

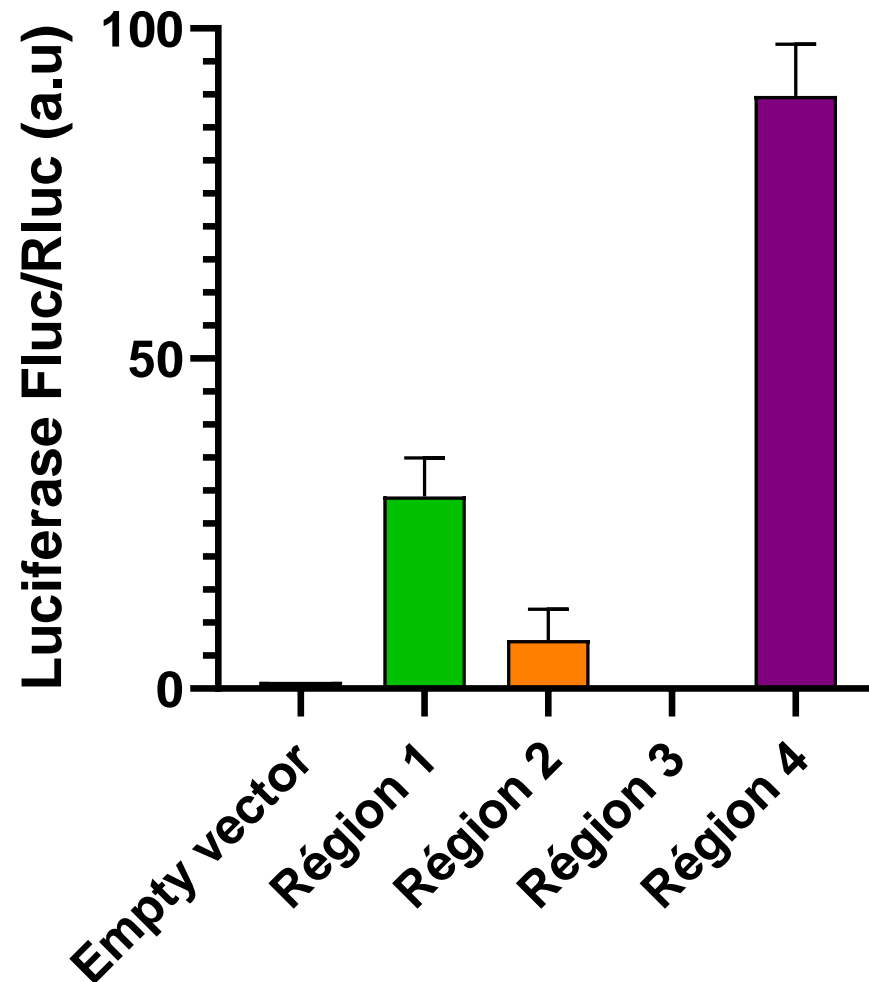
ChiP-seq réalisé dans des mégacaryocytes humains



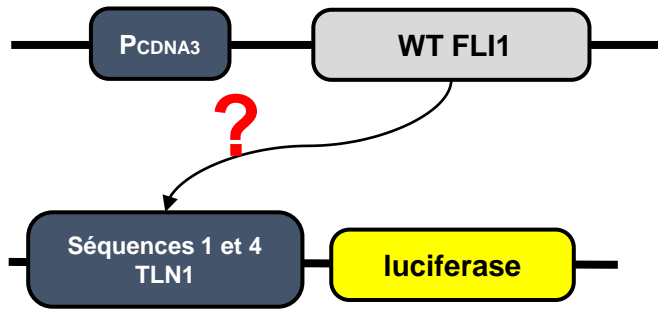
# Identification de deux séquences régulatrices fonctionnelles de *TLN1*



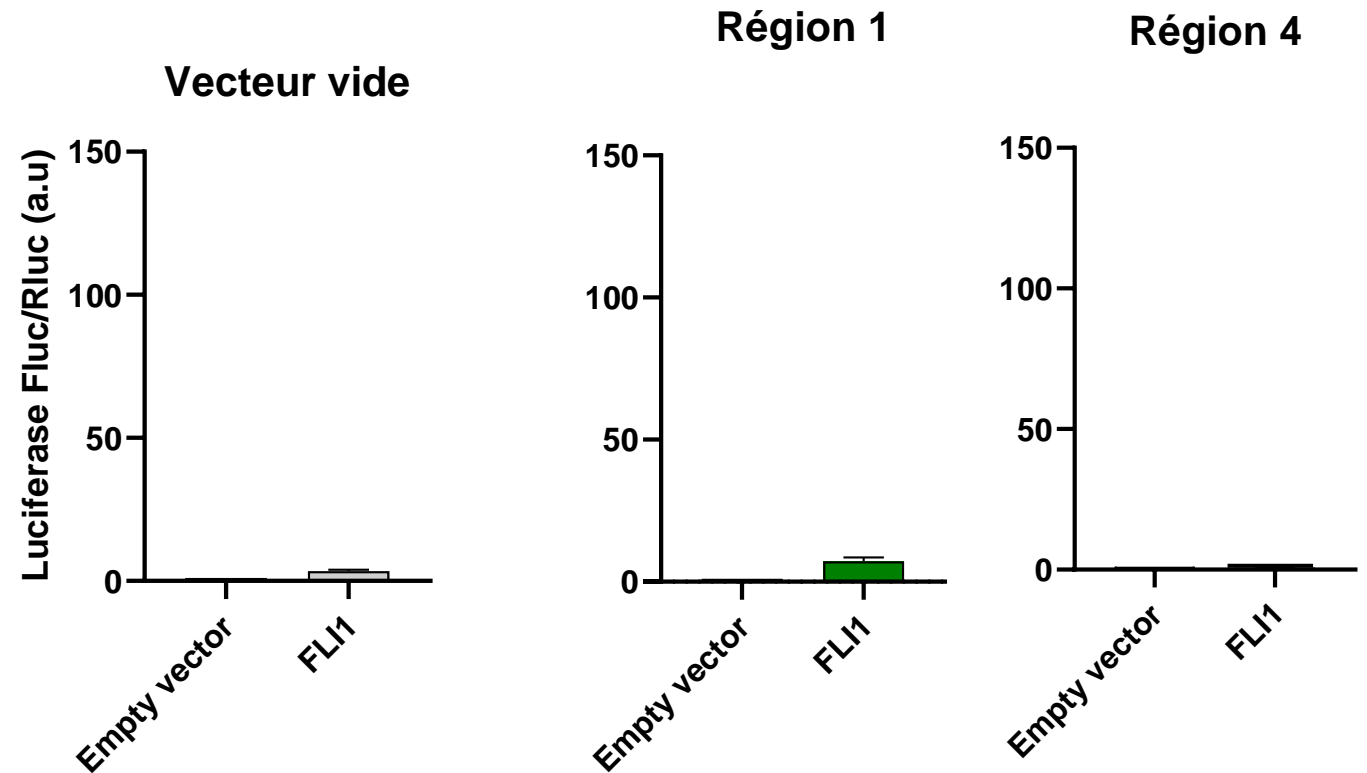
## Cellules HEL



# FLI1 seul ne régule pas la transcription de *TLN1*

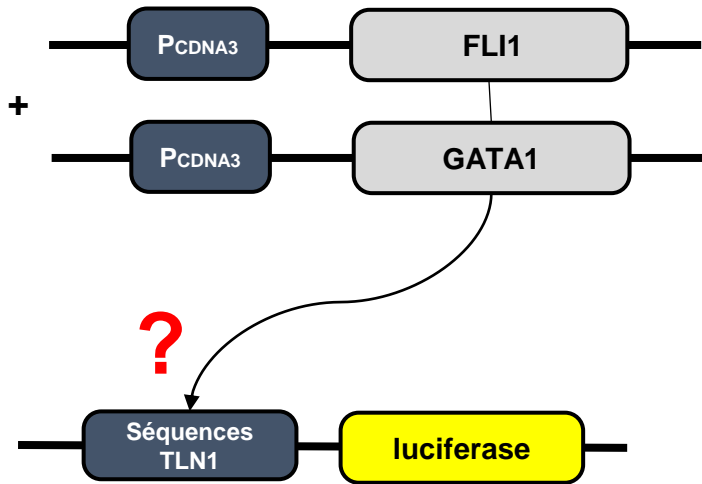


## Cellules HEK293

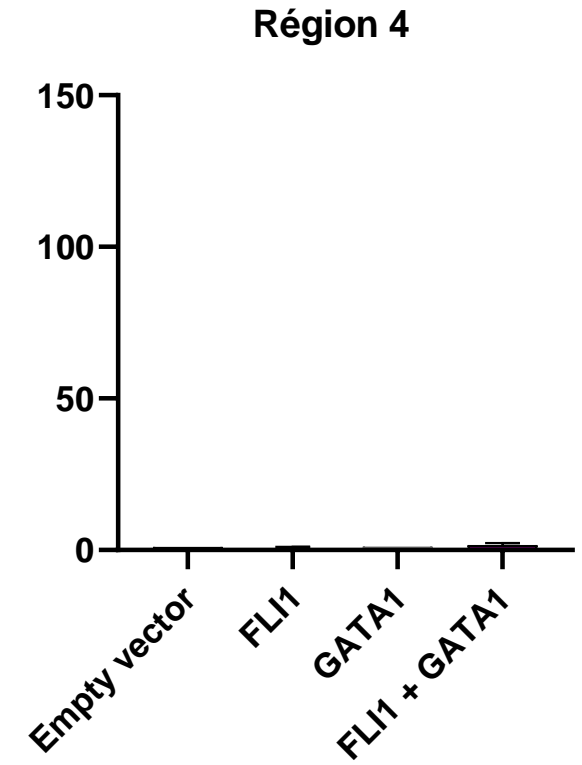
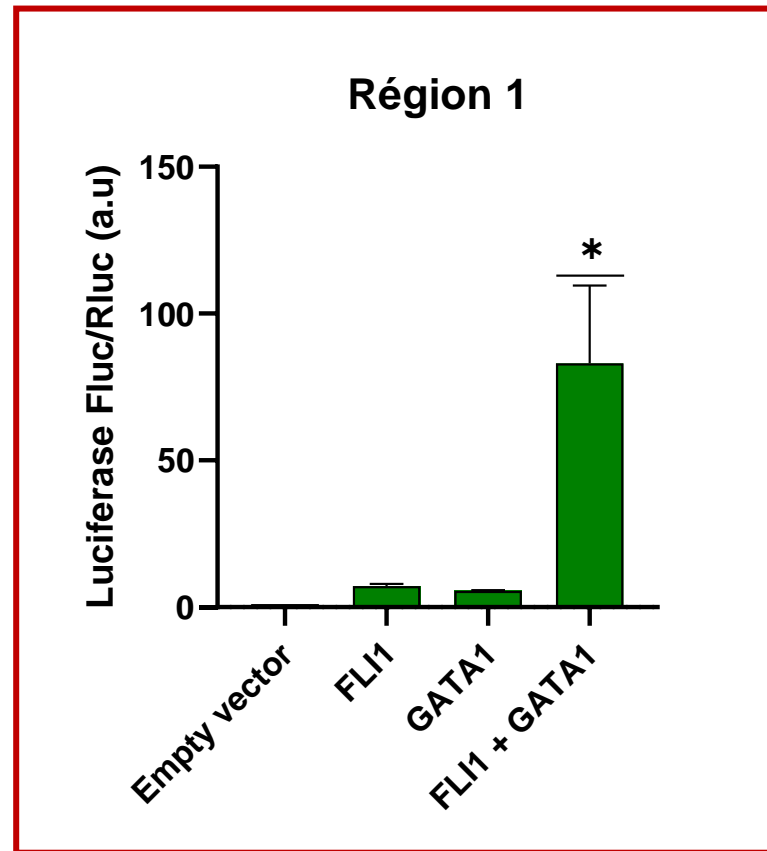




# FLI1 et GATA1 corégulent l'expression de *TLN1*



## Cellules HEK293

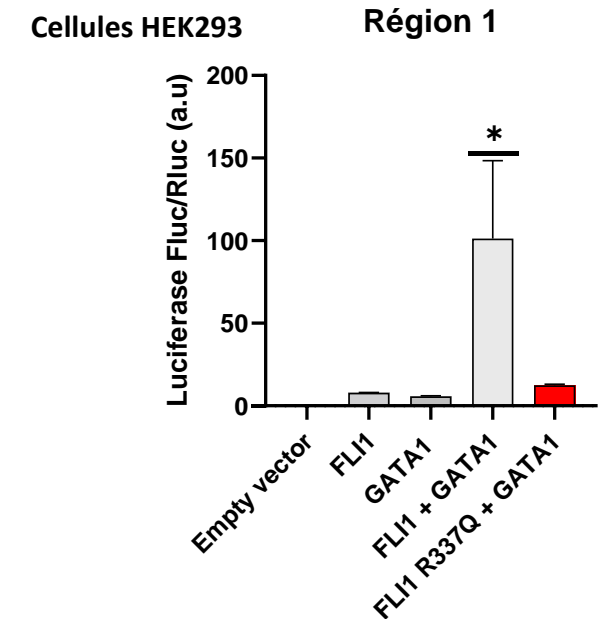


# Résumé-Conclusion (objectif 1)

## Identification des mécanismes impliqués dans le défaut d'agrégation plaquettaire

- Diminution de la taline dans les plaquettes des patients porteurs de variants FLI1
- Identification d'une région régulatrice sur *TLN1* pour FLI1 en coopération avec GATA1

- Perte de l'activité des variants FLI1 sur la régulation transcriptionnelle sur *TLN1* ?

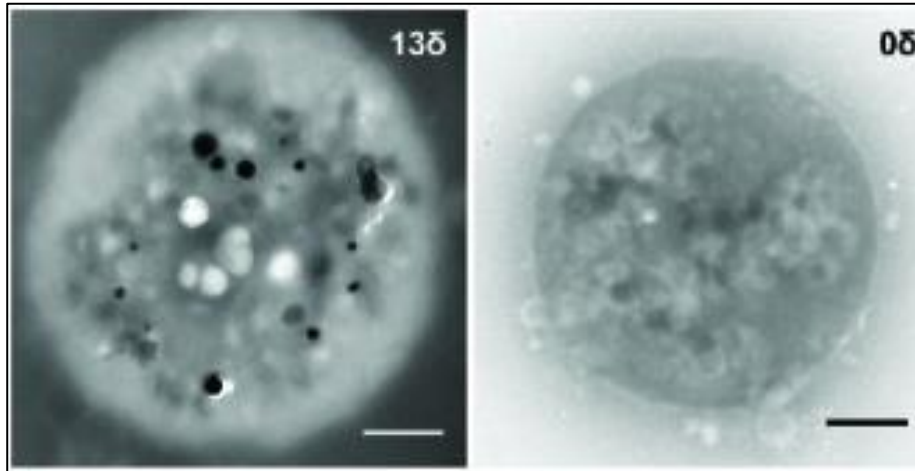


# Les patients FLI1 ont un défaut de granules denses : résultats préliminaires

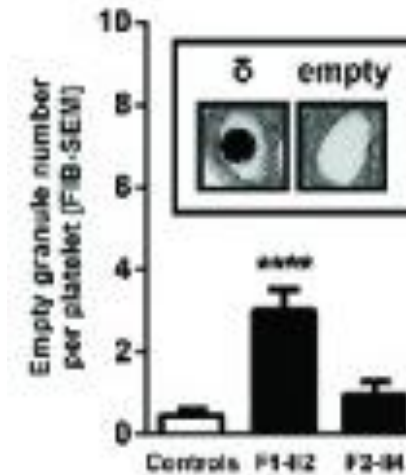
## Analyse ultrastructurale des plaquettes

Contrôles

Patient R337Q



## Mesure du nombre de granules denses vides

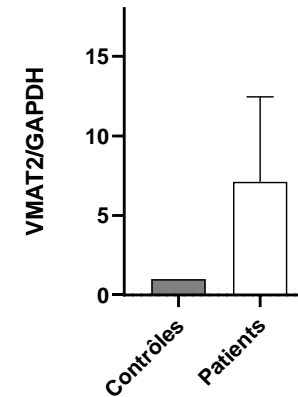
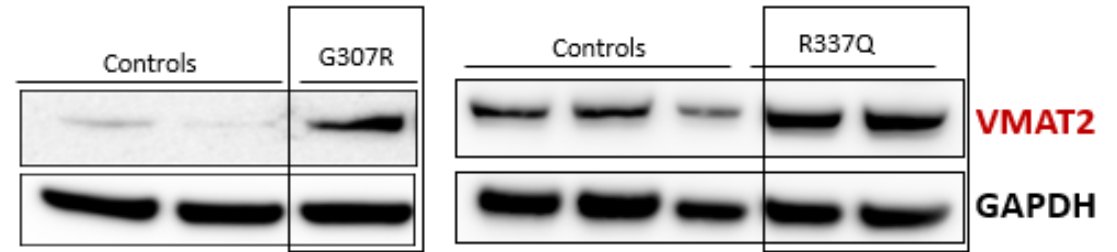
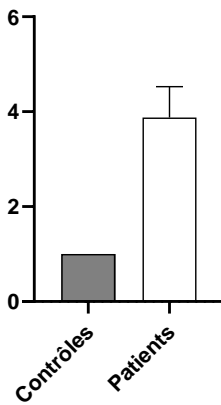
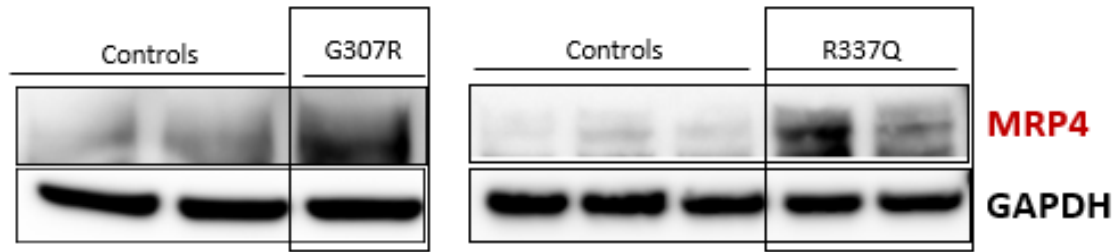


Saultier et al., *Haematologica* 2017

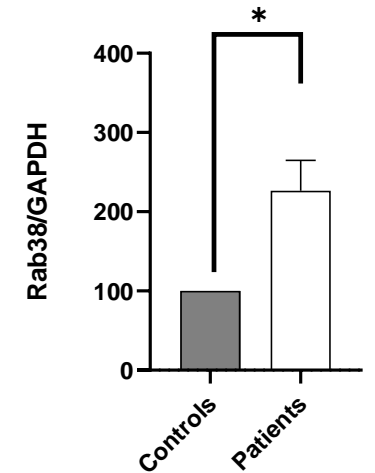
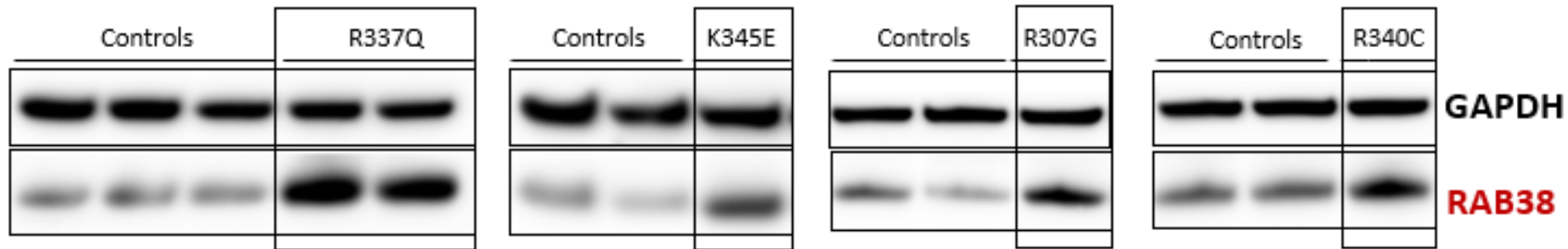
→ Défaut d'expression des protéines des granules denses ?

→ Défaut de transport des protéines des granules denses au cours de leur biogenèse ?

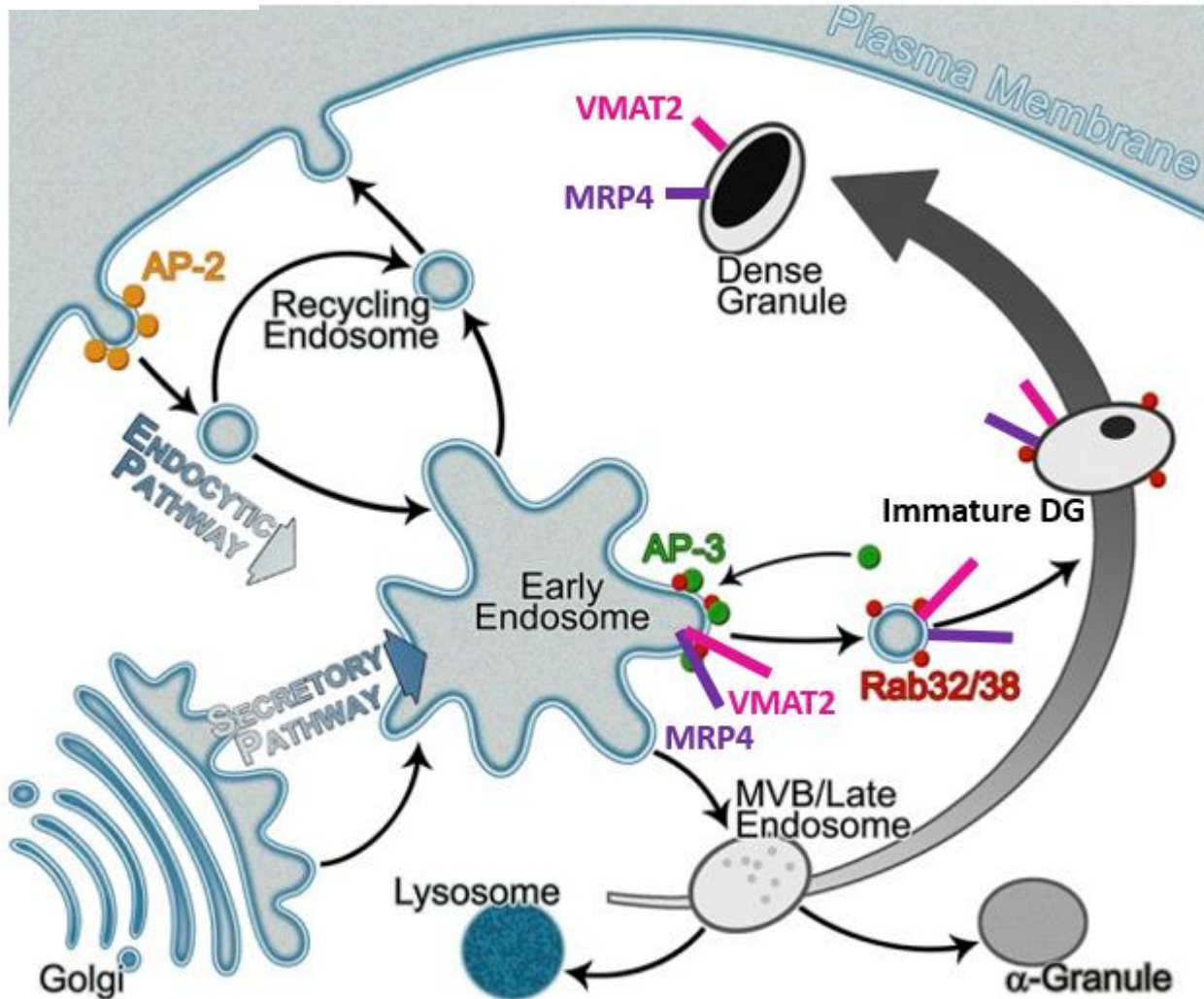
# Augmentation des marqueurs des granules denses



# Augmentation du marqueur d'immaturité granulaire Rab38



# Les variants FLI1 causent un défaut de biogenèse des granules denses



Déficiences d'un partenaire clé impliqué dans le transport du cargo à destination des granules denses ?

# Résumé-Conclusion

## Identifier les acteurs responsables du défaut de granules denses (GD)

- Augmentation des marqueurs des GD et des GD immatures dans les plaquettes des patients
  - suggère un défaut de transport des protéines à destination des granules denses
- Localisation des protéines des granules denses dans les mégacaryocytes des patients ?
- Identification de gènes dérégulés (scRNA-seq) pouvant être responsables du défaut de transport des protéines des granules denses

# REMERCIEMENTS

**Direction du travail :** Marjorie POGGI et Marie-Christine ALESSI

**Laboratoire C2VN, Inserm 1263 , Aix Marseille Université - CRPP - MC Alessi**

Marie-Christine Alessi

Marjorie Poggi

Laurent Hannouche; Mathilde Veneziano

Elisa Andersen

Timothé Bigot

Franck Peiretti

Grace Thomas

Andrea Pin

**CIML :** Delphine Potier, Dominique Payet Bornet, Marie Loosveld

**CHU de Lille:** Anne Bauters

**CHU Paris Robert Debré:** Anne Vincenot

