

Internship Proposition  
(one page max)



Master 2 GP Immunology & Immunointervention (I<sup>3</sup>)  
2026-2027

Lab: CR2TI

Team: 2a "T cell development and immune tolerance"

Name and position of the supervisor: Dr Matthieu Giraud, co-head Team 2a

Email of the supervisor: [matthieu.giraud@inserm.fr](mailto:matthieu.giraud@inserm.fr)

Candidate (if internship filled):

Title of the internship:

Reconstitution d'un organoïde de thymus humain entièrement dérivé d'iPSC : vers un modèle multicellulaire du développement T

**Summary of the internship proposal:**

**Contexte.** Le thymus assure l'éducation des lymphocytes T via les cellules épithéliales thymiques (TEC), corticales (cTEC) et médullaires (mTEC). Notre équipe a récemment publié un modèle d'organoïde de thymus humain (hTO) associant des progéniteurs épithéliaux thymiques (TEP) dérivés d'iPSC et des progéniteurs hématopoïétiques primaires (ETP) (Provin et al., *Nature Communications* 2026). Nous avons depuis franchi une étape clé : la génération d'organoïdes *entièrement* iPSC, dans lesquels les ETP sont eux-mêmes différenciés à partir des mêmes iPSC que les TEP. Ce système full-iPSC reproduit aujourd'hui de très près le développement T humain, avec l'ensemble des stades DN, DP et SP, des cellules SP qui mûrissent (CD62L<sup>+</sup> CCR7<sup>+</sup>), ainsi que stade ISP transitoire pour les CD4, spécifique de la thymopoïèse humaine.

**Objectif.** Le stage vise à rapprocher encore le hTO du thymus humain en enrichissant sa composition cellulaire. À ce jour, l'organoïde est formé à partir de l'ensemble du produit de différenciation iPSC (TEP majoritaires, mais aussi des sous-produits dont nous pensons qu'ils jouent un rôle de support). Nous voulons définir et contrôler ce compartiment en ajoutant des cellules souches mésenchymateuses différenciées des mêmes iPSC jusqu'au stade de mésoderme du foregut antérieur (mésoderme latéral antérieur / mésoderme splanchnique antérieur, d'après les protocoles de Kishimoto/Han). Réagréguées avec les TEP et les ETP dans l'hydrogel de fibrinogène, ces cellules devraient se différencier en cellules de support (dont fibroblastes) fournissant la structure dans laquelle les TEC se différencient et mûrissent comme *in vivo*. Une comparaison rigoureuse sera menée entre l'organoïde actuel (produit brut) et un organoïde reconstitué à façon (TEP purifiés + ETP + mésenchyme iPSC).

**Approches.** Le ou la stagiaire mettra en place la différenciation mésenchymateuse à partir d'iPSC (réactifs disponibles) et l'intégrera au système organoïde. Côté hématopoïétique : suivi de la différenciation T par cytométrie (stades DN/DP/SP, maturité des SP4/SP8 via CD62L/CCR7) et séquençage du répertoire TCR pour évaluer la diversité des lymphocytes générés. Côté épithélial : caractérisation du compartiment TEC par FACS, imagerie PhenoCycler sur l'organoïde entier désormais possible grâce à une méthode d'inclusion adaptée au gel de fibrinogène pour visualiser cTEC et mTEC, leur maturité et les contacts T/TEC, et scRNA-seq de la fraction TEC.

Option(s) linked to the project:

- Clinical Research Profile (Recherche Clinique)
- Data Analyst Profile (Recherche et Analyse de Données Omiques)
- Experimental Biology Profile (Recherche Expérimentale)

Form to be sent by email to : [gpi3@univ-nantes.fr](mailto:gpi3@univ-nantes.fr)