

Sujet de thèse ouvert au concours d'attribution des contrats doctoraux de l'école doctorale  
Vie et Santé de l'Université de Strasbourg

<http://ed.vie-sante.unistra.fr/concours-dattribution-des-contrats-doctoraux/>

## **Modulation nutritionnelle de l'horloge cérébelleuse Approches chronobiologique et neurophysiologique**

Le système circadien permet aux cellules, tissus et organismes d'avoir des périodes journalières d'activité et de repos, en phase ou en anticipation avec les changements prédictibles de l'environnement (cycle lumière-obscurité, disponibilité alimentaire). Les rythmes circadiens (proches de 24 h) sont étroitement contrôlés par le système nerveux central, en particulier, par l'horloge principale localisée dans les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus. Des horloges secondaires sont situées dans d'autres régions cérébrales et de nombreux tissus périphériques. Les rouages des horloges circadiennes font appel à des boucles de rétroactions transcriptionnelles auto-entretenues, impliquant des acteurs spécifiques : les gènes et protéines d'horloge. Parmi ceux-ci figurent les gènes *Per1*, *Per2*, *Bmal1* et *Rev-erb $\alpha$* .

En réponse à une restriction alimentaire (accès limité à la nourriture), les animaux s'activent en anticipation de l'heure d'ingestion de la nourriture. Les rythmes circadiens synchronisés par la nourriture sont sous le contrôle d'une horloge dite « alimentaire », située hors de l'horloge suprachiasmatique. Nos travaux pionniers dans ce domaine ont permis de découvrir que le cervelet contient une horloge cérébrale, le cervelet, impliquée dans l'anticipation des repas.

La caractérisation fonctionnelle de l'horloge cérébelleuse visera à comparer sa machinerie moléculaire à celles des autres horloges circadiennes connues. Pour cela, nous étudierons les paramètres (phase, amplitude, période) définissant les oscillations des tranches organotypiques de cervelet issu de souris transgéniques *PER2-luciferase* (Lumicycle). Le rôle des gènes d'horloge *Per1* et *Rev-erb $\alpha$*  sera établi dans l'horloge cérébelleuse grâce à des souris *PER2-luc* knock-out pour ces gènes. Des invalidations par siRNA seront également effectuées. Le(s) type(s) cellulaire(s) hébergeant l'horloge cérébelleuse (au moins les cellules de Purkinje, très probablement) fera appel au dispositif sophistiqué d'imagerie couplé à l'enregistrement de la bioluminescence (Luminoview). Pour identifier les signaux synchroniseurs de l'horloge cérébelleuse liés à la nutrition, des tranches organotypiques de souris *PER2-luc* seront mises en présence de molécules candidates dont les récepteurs sont exprimés dans le cervelet : les hormones métaboliques : leptine et insuline, et les neuromédiateurs/neuropeptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire : sérotonine et orexine. Ces applications seront testées à différents moments du cycle et leurs effets chronomodulateurs sur les caractéristiques des oscillations seront quantifiés à l'aide du Lumicycle.

Potentiellement, la leptine, l'insuline la sérotonine et l'orexine peuvent agir sur les fonctions cérébelleuses en modulant les paramètres de la transmission synaptique. Par une approche électrophysiologique (patch-clamp sur des tranches aiguës de cervelet) couplée à des techniques d'optogénétique et de transfection virale, nous étudierons les perturbations pré- et/ou post-synaptiques de la neurotransmission induites par l'application de ces molécules à la synapse cellule en grain-cellule du Purkinje. Nous étudierons plus particulièrement les effets de ces molécules sur l'induction de diverses formes de plasticité synaptique (LTP, LTD) qui sont à la base l'apprentissage lié au cervelet. Enfin, nous chercherons à savoir si ces molécules peuvent également agir directement sur l'excitabilité des neurones en étudiant leurs effets sur le mode de décharge des cellules de Purkinje.

**Compétences souhaitées**

Solides connaissances en neurosciences et une bonne formation en physiologie animale.  
Expérience en électrophysiologie souhaitable, mais non nécessaire.

**Expertises qui seront acquises au cours de la formation**

Analyse de la bioluminescence (luciférase) *in vitro*;  
Electrophysiologie (patch-clamp) ;  
Transfection virale (siRNA) ;  
Technique d'optogénétique ;  
Quantification des ARNm par hybridation *in situ* et qRT PCR ;  
Quantification des protéines par immunohistochimie et western blots.

**Contact :**

Etienne Challet

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives  
CNRS UPR3212, Université de Strasbourg  
5 rue Blaise Pascal  
67000 Strasbourg  
Tél 03 88 45 66 93  
[challet@inci-cnrs.unistra.fr](mailto:challet@inci-cnrs.unistra.fr)

[http://inci.u-strasbg.fr/dept\\_a/fr/equ\\_a2.html](http://inci.u-strasbg.fr/dept_a/fr/equ_a2.html)