

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/>

## **Horloge et régulation des fonctions rythmiques dans les photorécepteurs rétiniens**

La physiologie et la fonction rétiniennes sont contrôlées par une horloge circadienne localisée dans la rétine et régulant de nombreux processus rythmiques tels que la sensibilité visuelle, l'électrorétinogramme, la phagocytose des segments externes des photorécepteurs, la synthèse des pigments visuels et de molécules de signalisation intercellulaire telles que la dopamine ou la mélatonine. L'horloge a un rôle critique vis-à-vis du fonctionnement des cellules rétiniennes dans la mesure où elle leur permet d'anticiper les variations quotidiennes d'intensité lumineuse auxquelles elles sont exposées. L'horloge joue également un rôle dans la pathologie rétinienne en contrôlant sa sensibilité à la phototoxicité et en influençant les mécanismes de dégénérescence rétinienne.

La genèse des processus rythmiques se fait au niveau cellulaire, grâce à des contrôles transcriptionnels et post-traductionnels mettant en jeu des facteurs de transcription dits « facteurs horloge » entraînant les programmes d'expression génique, et donc l'activité cellulaire sur une période de 24 heures. Nous avons montré qu'une horloge moléculaire est présente dans les photorécepteurs rétiniens chez le rat et qu'elle dépend étroitement du cycle jour/nuit (Sandu et al, 2011). Plus récemment, nous avons démontré la présence d'une horloge circadienne dans chacune des trois couches nucléaires de la rétine, en mesurant en temps réel la bioluminescence émise par des rétines prélevées chez des souris transgéniques portant le gène rapporteur luciférase dans le locus du gène horloge *Period2* (*Per2*) (Jaeger et al, 2015). Nos résultats montrent aussi que les rythmes observés au niveau de la rétine prise dans son ensemble résultent d'une forte coordination entre les différents oscillateurs qui la composent, générant un ensemble particulièrement robuste.

Le projet de thèse vise à caractériser plus précisément les mécanismes à l'origine des fonctions rythmiques des photorécepteurs. Il se base sur l'utilisation de différents modèles animaux, et en particulier de la lignée de souris *Per2-luciférase* et de souris *Nrl<sup>-/-</sup>*, dont les bâtonnets (généralement 95% des photorécepteurs) sont intégralement remplacés par des cônes. Les principaux objectifs sont les suivants :

Organisation des horloges dans la couche des photorécepteurs : nous nous proposons d'analyser par bioluminescence globale et par imagerie de bioluminescence, des cultures de rétines dissociées, des cultures de photorécepteurs isolés, ainsi que des coupes transversales de rétines permettant de visualiser les différentes couches et d'enregistrer la bioluminescence émise par chaque cellule. Cette approche permettra aussi de comprendre comment l'horloge des photorécepteurs se synchronise avec celle des couches rétiniennes plus internes.

Fonctions contrôlées par l'horloge des photorécepteurs : nous avons récemment caractérisé le transcriptome de la rétine sur 24h (données non publiées). Les résultats indiquent une forte rythmicité de nombreux gènes, en particulier de ceux codant pour les éléments de la cascade de phototransduction, spécifiquement exprimés dans les photorécepteurs. Le projet visera à comprendre comment cet ensemble de gènes est contrôlé sur 24h en identifiant les facteurs horloge ou des facteurs secondaires (facteurs de transcription, régulateurs épigénétiques), contrôlés par l'horloge, activant leur transcription au moment adéquat du cycle. Cette étude reposera sur des analyses de promoteur, des expériences d'immunoprécipitation de chromatine, des analyses fonctionnelles visant à inactiver les facteurs identifiés et investiguer les effets sur la morphologie et la physiologie de la rétine.

**Compétences souhaitées**

Formation théorique en biologie moléculaire et cellulaire et bonnes connaissances de base en neurosciences. Bonne expérience pratique du travail de paillasse, en particulier en biochimie/biologie moléculaire. Une bonne expérience de la culture cellulaire sera appréciée.

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

Le projet sera réalisé dans environnement concentrant son activité sur l'ensemble des mécanismes physiologiques régulant les rythmes biologiques. Le doctorant bénéficiera donc d'une formation théorique diversifiée et complète en neurobiologie des rythmes, ainsi qu'en physiologie rétinienne. De même, les compétences acquises en biologie moléculaire seront multiples et, du point de vue technique, couvriront les domaines de la transcription, de la biologie des protéines et de la signalisation, et incluront les approches de base telles que culture cellulaire, PCR en temps réel, bioluminescence.

**Contact :**

Marie-Paule Felder-Schmittbuhl

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives  
CNRS UPR3212, Université de Strasbourg  
5 rue Blaise Pascal  
67000 Strasbourg  
Tél 03.88.45.66.44  
[feldermp@inci-cnrs.unistra.fr](mailto:feldermp@inci-cnrs.unistra.fr)

<http://inci.u-strasbg.fr/fr/equ6/presentation.html>