

SUJET DE THÈSE PROPOSÉ AU CONCOURS DE L'ÉCOLE DOCTORALE VIE & SANTÉ UNIVERSITÉ DE STRASBOURG, Juillet 2018

Caractérisation fonctionnelle de l'horloge circadienne dans le cervelet

Le système circadien permet aux cellules, tissus et organismes d'avoir des périodes journalières d'activité et de repos, en phase avec les changements prédictibles de l'environnement (cycle lumière-obscurité, disponibilité alimentaire). Les rythmes circadiens (càd, avec une période proche de 24 h) sont contrôlés par l'horloge principale localisée dans les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus. Des horloges secondaires sont situées dans le cerveau et les tissus périphériques. Les rouages des horloges circadiennes font appel à des boucles auto-entretenues de rétroactions transcriptionnelles, impliquant des acteurs spécifiques, appelés gènes d'horloge (dont Per1, Per2, Bmal1 et Rev-erba).

En réponse à une restriction alimentaire, les animaux s'activent en anticipation de l'heure d'ingestion de la nourriture. Les rythmes circadiens synchronisés par la nourriture sont contrôlés par une horloge alimentaire. Nos travaux pionniers dans ce domaine ont révélé que le cervelet contient une horloge cérébrale, impliquée dans l'anticipation des repas (Mendoza et al. 2010 J Neurosci).

La caractérisation fonctionnelle de l'horloge cérébelleuse visera tout d'abord 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-luciférase (mesure de la bioluminescence par Lumicycle). Des invalidations de gènes d'horloge par siRNA seront effectuées pour déterminer le rôle de chaque gène d'horloge. Le(s) type(s) cellulaire(s) hébergeant l'horloge cérébelleuse (au moins les cellules de Purkinje) fera appel à un dispositif d'imagerie couplé à l'enregistrement de la bioluminescence à l'échelle cellulaire (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 : des hormones métaboliques (leptine et insuline) et des neuro-médiateurs/peptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire (sérotonine et orexine). Ces applications seront testées à différents moments du cycle pour quantifier leurs effets chronomodulateurs. Nous étudierons également les effets de ces molécules sur l'excitabilité des neurones cérébelleux et la plasticité synaptique (coll.: F. Dousseau, INCI).

Une deuxième question sera d'identifier le rôle de cette rythmicité circadienne dans le fonctionnement du cervelet. Une approche protéomique en cours montre que plus de 25% des protéines cérébelleuses exprimées de manière circadienne sont impliquées dans la synapse, telles que Synapsine 2 (Syn2) ou vesicle-fusing ATPase (NSF). Le rôle de la rythmicité circadienne sera étudié en caractérisant par qPCR les profils d'expression des ARN (dont Syn2 et NSF) chez des souris ayant des horloges défectueuses (KO Rev-erba ou Per1/Per2). Cette approche sera complétée par le phénotypage circadien de souris invalidées pour Syn2 ou NSF.

Ensuite, nous caractériserons le rôle du cervelet dans l'anticipation des repas. Les souris porteuses de mutations cérébelleuses, telles que la lignée hot-foot, sont incapables à anticiper l'accès à la nourriture. Pour mieux comprendre les mécanismes mis en jeu, nous étudierons l'anticipation des repas chez des souris avec mutations cérébelleuses (modèles d'ataxie légère comme ARCA2 KO ; coll.: H. Puccio, IGBMC) ou ayant une horloge cérébelleuse défectueuse (L7-Cre x Bmal1 floxée). Enfin, en utilisant de l'optogénétique (coll.: P. Isope, INCI), nous évaluerons si une inhibition transitoire de la fonction cérébelleuse in vivo altère l'anticipation des repas. Inversement, nous déterminerons si une activation cérébelleuse in vivo potentialise l'anticipation alimentaire chez des souris en restriction alimentaire ou déclenche ce comportement chez des souris nourries à volonté.

Compétences souhaitées

Connaissances en neurobiologie et physiologie animale.

Expertises qui seront acquises au cours de la formation

Actimétrie

Analyse de la bioluminescence (luciférase) in vitro

Transfection virale (siRNA)

Analyse des ARNm par hybridation in situ et qRT PCR

Analyse des protéines par immunohistochimie et western blots

Electrophysiologie (patch-clamp)

Optogénétique

Mots clé

Chronobiologie, neuroendocrinologie, rythme circadien, cerveau, cervelet

Contact:

Etienne Challet

Tél 03 88 45 66 93

challet@inci-cnrs.unistra.fr