

TITRE DU PROJET : Interaction glie/neurone : rôle de Genderblind dans la perception olfactive

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse

Directeur de thèse HDR :

Nom : Grosjean

Prénom : Yaël

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : 9 E Boulevard Jeanne d'ARC 21000 Dijon ;
yael.grosjean@u-bourgogne.fr; 03 80 68 16 69

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, UMR-6265 CNRS UMR-1324 INRA UBFC AgroSup, Dir. : Lionel Brétilon

Equipe d'appartenance (intitulé, responsable) : Equipe « Perception Sensorielle, Interactions Glie/Neurones », Resp. : Yaël Grosjean

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : Manière

Prénom : Gérard

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : 9 E Boulevard Jeanne d'ARC 21000 Dijon ;
gerard.maniere@u-bourgogne.fr ; 03 80 68 16 56, 03 80 39 62 15

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, UMR-6265 CNRS UMR-1324 INRA UBFC AgroSup, Dir. : Lionel Brétilon

Equipe d'appartenance (intitulé, responsable) : Equipe « Perception Sensorielle, Interactions Glie/Neurones », Resp. : Yaël Grosjean

2) Descriptif du projet de thèse

- *nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu) :*

Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, UMR-6265 CNRS UMR-1324 INRA UBFC AgroSup

Equipe « Perception Sensorielle, Interactions Glie/Neurones »

- *localisation :*

9 E Boulevard Jeanne d'ARC 21000 Dijon

- *nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu :*

directeur de thèse HDR : Dr Yaël Grosjean

co-directeur non HDR : Dr Gérard Manière

- *adresse courriel du contact scientifique :*

yael.grosjean@u-bourgogne.fr

- *titre du projet :*

Interaction glie/neurone : rôle de Genderblind dans la perception olfactive

Contexte général :

Afin d'assurer leur survie et de s'adapter à leur environnement, les êtres vivants doivent en décoder les dangers, les ressources vitales et les bénéfiques. Pour cela, ils utilisent de nombreuses modalités sensorielles incluant entre autre l'odorat. Un modèle biologique s'est avéré efficace pour révéler et étudier les événements moléculaires, génétiques et cellulaires impliqués dans la détection de ces signaux sensoriels : la drosophile (*Drosophila melanogaster*). Deux prix Nobels de Médecine récents ont été décernés à des drosophilistes travaillant sur l'immunité (Dr. Hoffmann, 2011) et sur le rythme circadien (Dr. Hall, Dr. Rosbash & Dr. Young, 2017), mettant en lumière la puissance particulière de ce modèle.

L'équipe « Perception Sensorielle, Interactions Glie/Neurones » développe différents axes de recherche novateurs et pionniers qui ont pour objectif de mettre en évidence les phénomènes complexes d'interactions entre la glie et les neurones dans les centres traitant les signaux olfactifs du cerveau (Augustin *et al.*, 2007 ; Grosjean *et al.*, 2008 ; Galagovsky *et al.*, in revision). Ainsi, nous étudions une famille d'antiports d'acides aminés qui sert de « signal de régulation » entre ces deux types cellulaires.

Nous avons montré chez la drosophile que certaines cellules gliales maintiennent une présence contrôlée de glutamate autour de neurones glutamatergiques, et modifient l'activité d'une synapse modèle. Nous avons aussi montré que cet effet passe par l'expression d'un gène codant pour la chaîne légère d'un transporteur particulier du glutamate : *genderblind* (*gb* ; orthologue des transporteurs d'acides aminés SLC7A11 de mammifères ; Augustin *et al.*, 2007 ; Piyankarage *et al.*, 2008). *Gb* va ainsi maintenir un niveau constant de glutamate au voisinage de la jonction neuromusculaire des larves de 3^{ème} stade, qui aura pour effet de limiter le regroupement de récepteurs glutamatergiques ionotropiques en les maintenant dans un état désensibilisé (iGluRs de type A et B ; Augustin *et al.*, 2007).

De plus, lorsque la fonction de *Gb* est dérégulée chez les drosophiles mâles adultes, celles-ci courtisent de façon spectaculaire indifféremment les mâles et les femelles. Nous avons pu montrer que ce phénotype était lié à un dysfonctionnement de la perception chimiosensorielle. Les mâles vont percevoir de façon excitatrice des phéromones qui sont normalement inhibitrices de la parade mâle. Les drosophiles mutantes pour *gb* vont également être attirées plus rapidement par des sources de nourriture, révélant une sensibilité modifiée du système nerveux olfactif (Grosjean *et al.*, 2008). Par contre, nous ne savons toujours pas comment cet effet se manifeste précisément à l'échelon cellulaire au niveau des centres impliqués dans le traitement de l'information olfactive. C'est ce que nous proposons d'étudier dans le cadre de ce projet de thèse. Ces données nous permettront en outre de comprendre le rôle spécifique joué par *Gb* au sein du système nerveux par rapport aux autres membres de cette famille de transporteurs d'acides aminés, tels que *Jhl-21*, *Minidisks* et *CG9413* (Ziegler *et al.*, 2016 ; Manière *et al.*, 2016 ; Manière & Grosjean, 2017 ; Ziegler *et al.*, 2018), que nous étudions au sein de l'équipe.

Objectif du projet de thèse :

Suite à nos travaux pionniers (Augustin *et al.*, 2007 ; Grosjean *et al.*, 2008), nous supposons que *Gb* exprimé dans certaines cellules gliales au voisinage des neurones des centres olfactifs va influencer leur activité. C'est cette hypothèse principale que nous testerons. Nous chercherons ainsi à déterminer comment les cellules gliales régulent l'activité de ces neurones olfactifs via le transporteur de glutamate *Gb*. Pour cela, nous mobiliserons les outils génétiques que nous avons récemment construits et nos connaissances approfondies des signaux chimiques olfactifs influençant le comportement (Ai *et al.*, 2010 ; Silbering *et al.*, 2011 ; Grosjean *et al.*, 2011 ; Ziegler *et al.*, 2013 ; Depetris-Chauvin *et al.*, 2015 ; Depetris-Chauvin *et al.*, 2017).

Stratégie scientifique prévue pour atteindre les objectifs :

Le candidat retenu cherchera à caractériser, tester et modéliser le rôle que joue la sous-unité légère Gb sur l'activité des centres nerveux impliqués dans la perception olfactive. Dans ce but, il utilisera une batterie d'outils génétiques (lignées Gal4, LexA) et d'anticorps qui ont été obtenus dans le cadre du projet Européen ERC-GliSFCo porté par Y. Grosjean.

Il devra tout d'abord compléter la description précise du profil d'expression de Gb au voisinage des centres olfactifs. Pour cela, il utilisera des techniques d'immunohistologie, d'imagerie confocale et de RT-qPCR. Ces techniques sont utilisées en routine par l'équipe d'accueil.

Les outils génétiques (Gal4, LexA) que nous avons construits serviront à mettre en évidence *in vivo* le rôle de Gb sur l'activité neuronale des centres olfactifs. Dans cette optique, la combinaison de deux systèmes génétiques (LexA-GAD/LexAop-RNAi et Gal4/UAS-GCamP) permettra de déréguler l'expression de *gb* dans une population de cellules gliales donnée grâce au système « LexA », et de déterminer l'influence de cette dérégulation sur l'activité de populations précises de neurones grâce au système « Gal4 ». Précisément cette action sera réalisée de la façon suivante : la dérégulation de l'expression de *gb* sera réalisée par l'utilisation d'un promoteur glial-LexA-GAD/LexAop-RNAi-Gb, en parallèle de divers promoteurs neuronaux-Gal4/UAS-GCamP qui servira à visualiser l'activité de neurones d'intérêts impliqués dans le traitement de l'information olfactive (par détection du niveau de Ca²⁺ intracellulaire par GCamP). Le matériel nécessaire à ces expériences et ce type d'imagerie calcique est déjà disponible au sein de l'équipe d'accueil (obtenu dans le cadre du projet ERC GliSFCo).

En parallèle, des tests comportementaux, utilisés quotidiennement dans l'équipe (tests en Y, système de mesure automatisé de l'activité locomotrice -éthovision-, mesures de la parade), permettront de déterminer de façon précise le rôle de Gb dans les cellules gliales sur le contrôle de la réponse olfactive des mâles drosophiles.

Enfin, nous avons montré que Gb forme un complexe protéique avec une chaîne lourde appelée CD98hc (Flore Geillon, données non publiées). Nous soupçonnons que cette chaîne lourde pourrait avoir un rôle important dans le contrôle du comportement (Gérard Manière, Georges Alves et Charlene Chevalier, données non publiées). Cette piste sera explorée pour avoir une image globale de la complexité d'action de ce transporteur d'acide aminé (Gb/CD98hc) sur le fonctionnement du système nerveux olfactif.

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat) :

APRF (16'000 €, PARI région Bourgogne ; G. Manière)

API (7'500€, PARI région Bourgogne ; Y. Grosjean/A. Bénani),

Récurrent CNRS/INRA/UBFC/AgroSup alloué à l'équipe (Y. Grosjean)

Demandes en cours :

Projet région-CSGA (15'000€, FEDER région Bourgogne ; Y. Grosjean),

ERC-POC (150'000€, H2020, Union Européenne ; Y. Grosjean),

Support pour dépôt de brevet (15'000€, SATT Grand-Est ; Y. Grosjean).

- connaissances et compétences requises : obligatoire

Le/la candidat(e) devra avoir des compétences et connaissances en biologie cellulaire et immunohistologie. Une expérience en génétique de la drosophile et/ou en étude du comportement constituerait un plus, mais n'est pas un pré-requis.

Résumé en français et anglais

Comment notre cerveau perçoit les molécules volatiles provenant de notre environnement ? Pour répondre à cette question et identifier certains facteurs génétiques, moléculaires et cellulaires qui peuvent influencer la perception olfactive, nous utilisons la drosophile comme modèle biologique. Le but de cette thèse sera de caractériser le rôle précis d'un transporteur d'acide aminé, appelé Genderblind (Gb), dans le traitement de l'information olfactive induisant un comportement donné. Pour cela, une batterie d'outils génétiques que nous avons construits servira à mettre en évidence par imagerie calcique *in vivo* le rôle de Gb sur le contrôle de l'activité neuronale. L'impact de cette sous-unité sur divers comportements associés à la recherche de nourriture et de reconnaissance du partenaire sexuel sera également évalué. Enfin, les rôles de Gb et de son partenaire associé (CD98hc) seront explorés. Les données attendues sont susceptibles d'avoir un grand impact étant donné le rôle joué par ce type de transporteur d'acides aminés dans la survenue de maladies du système nerveux.

How does our brain perceive volatile molecules from our environment? To answer this question and identify some genetic, molecular and cellular factors that can influence olfactory perception, we use *Drosophila* as a biological model. The goal of this thesis will be to characterize the precise role of an amino acid transporter, called Genderblind (Gb), in the treatment of olfactory information leading to a specific behavioral response. For this purpose, a battery of genetic tools that we have designed will be used to demonstrate by *in vivo* calcium imaging the role of Gb on the control of neuronal activity. The impact of this subunit on various behaviors associated with the search for food and the recognition of the sexual partner will also be assessed. Finally the roles of Gb and its associated partner (CD98hc) will be explored. The expected data are likely to have a great impact given the role played by this type of amino acid carrier in the occurrence of neuronal diseases.

Préciser le domaine de compétence :

Biologie, médecine, santé