

# 2<sup>nd</sup> year Master in Biotechnology Cell and Molecular Biology 2020-2021

<b>Host laboratory/Laboratoire</b>	CBM UPR4301 CNRS Orléans
<b>Supervisor/Responsables</b> <b>Séverine Morisset-Lopez</b> <b>Stéphane Mortaud</b>	severine.morisset-lopez@cnrs-orleans.fr stephane.mortaud@univ-orleans.fr
<b>Impact de toxiques de d'environnement sur les processus de différenciation et la neuro-inflammation : analyse de la transduction du signal sur des modèle de neurosphères</b>	
<p>Ce projet repose sur la collaboration de deux équipes de recherche aux compétences complémentaires dans le cadre d'un programme ANR : l'équipe « Neurogénétique » (INEM) pour son expertise dans le domaine de la <b>modélisation animale de pathologies du neurodéveloppement</b> et l'équipe «Micro-environnement cellulaire et pharmacologie des récepteurs» (CBM) pour ses compétences dans <b>la transduction du signal</b></p> <p>Ce projet concerne la problématique des effets neurotoxiques de polluants de l'environnement. Les causes de pathologies neurodégénératives sont encore obscures. Si des origines génétiques ont bien été mises en évidence, une grande majorité des cas trouve probablement comme cause des facteurs multi-géniques ou environnementaux, et bien sur l'interaction entre ces deux composantes. Par ailleurs, l'inflammation cérébrale semble être un facteur important, en amont ou en aval de l'établissement de ces pathologies. Des études épidémiologiques ont montré que les populations exposées à une cyanotoxine (la <math>\beta</math>-N-méthylamino-1-alanine, BMAA) produite par des cyanobactéries avaient un risque largement augmenté de développer des formes sporadiques de pathologies neurodégénératives telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou des formes de Parkinson/démence. Dans l'environnement, la BMAA n'est jamais seule et d'autres toxiques sont présents. Un lien a été observé entre l'exposition à la BMAA et le risque de SLA dans les zones d'agriculture intensive. L'objectif du projet est d'étudier les effets neurologiques et inflammatoires induits par un cocktail de toxiques de l'environnement sur un modèle in vitro de neurosphères obtenu à partir de cultures de cellules souches cérébrales.</p> <p>Le stage portera sur l'utilisation de cultures de neurosphères qui seront à partir de cellules souches cérébrales murine, pour analyser les effets sur les processus et voies de différenciations, notamment dans le cas d'une orientation « neuronale ».</p> <p>Au cours de ce stage, il s'agira de produire des neurosphères à partir des cultures de cellules souches cérébrales réalisées au laboratoire, puis d'orienter leur différenciation afin d'obtenir des populations de neurones matures et myélinisés, accompagnées d'astrocytes, d'oligodendrocytes matures et de leurs précurseurs, ainsi que de cellules microgliales. Le même type d'approche est actuellement réalisée sur des neurosphères orientées vers une différenciation astro-gliale mimant la zone sous ventriculaire cérébrale (SVZ). Ces types de différenciations sont obtenus en fonction du milieu de culture ajouté après la phase d'expansion. Pendant la phase de différenciation, des neurosphères seront exposées aux polluants. Par ailleurs, certaines subiront une brève induction inflammatoire via le LPS avant cette exposition, alors que d'autres la subiront dans un second temps. L'objectif est d'étudier sur ce modèle in</p>	

vitro, les interactions entre l'exposition à ces toxiques et les processus de maturation précoce cérébrale, ainsi que les interactions avec des phénomènes neuro-inflammatoires.

A partir de là, plusieurs approches expérimentales seront utilisées pour évaluer les conséquences de ces expositions au niveau moléculaire.

- Etude de la réponse inflammatoire : expression et dosage de cytokines
- Etude de la modulation de l'expression de récepteurs membranaires connus pour être impliqués dans les processus de différenciation cellulaire et de neuroinflammation
- Etude de l'activation de voies de signalisation
- Etude de modifications épigénétiques

Principales techniques employées : Culture cellulaire (cellules souches, neurosphères), RT-qPCR, Western-blot, coupes au cryostat, Immunocytochimies, microscopie à fluorescence, analyses d'images, dosages biochimiques (ELISA, Luminex multiplex), analyse par Western blot, technologie Alpha screen.

#### **Planning d'activités et Méthodologies :**

- **A l'INEM**, encadré par Stéphane Mortaud
  - Culture de cellules souches cérébrales puis des neurosphères
  -
- **Au CBM**, encadré par Séverine Morisset-Lopez:
  - Etude sur la transduction du signal (expression de récepteurs et signalisation cellulaire)
  -

#### **Principales publications:**

Guillemain, A., Y. Laouarem, L. Cobret, D. Stefok, W. Chen, S. Boch, A. Zahaf, L. Blot, F. Reverchon, T. Normand, M. Decoville, C. Grillon, E. Traiffort and **S. Morisset** (2020). "LINGO family receptors are differentially expressed in mouse brain and forms native multimeric complexes " FASEB J(2020). DOI: 10.1096/fj.202000826R

El Khamlichi C, Reverchon-Assadi F, Hervouet-Coste N, Blot L, Reiter E, **Morisset-Lopez S**. Bioluminescence Resonance Energy Transfer as a Method to Study Protein-Protein Interactions: Application to G Protein Coupled Receptor Biology, *Molecule* (2019) Feb 1;24(3).

Feat-Vetel J., Larrigaldie V., Meyer-Dilhet G., Herzine A., Mouglin C., Laugeray A., Gefflaut T., Richard O., Quesniaux V., Montécot-Dubourg C., **Mortaud S**. Multiple effects of the herbicide glufosinate-ammonium and its main metabolite on neural stem cells from the subventricular zone of newborn mice *NeuroToxicology* 2018 October doi: 10.1016/j.neuro.2018.10.001.

Laugeray A, Oummadi A, Jourdain C, Feat J, Meyer-Dilhet G, Menuet A, Plé K, Gay M, Routier S, **Mortaud S**, Guillemain GJ. Perinatal Exposure to the Cyanotoxin  $\beta$ -N-Méthylamino-L-Alanine (BMAA) Results in Long-Lasting Behavioral Changes in Offspring-Potential Involvement of DNA Damage and Oxidative Stress. *Neurotox Res*. 2017 Sep 6. doi: 10.1007/s12640-017-9802-1 PubMed PMID:28879461.

W Deraredj Nadim, S Chaumont-Dubel, F Madouri, L Cobret, M L De Tauzia, H Bénédicti, P Marin and **S Morisset-Lopez**. Physical Interaction between Neurofibromin and Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Receptor Promotes Receptor Constitutive Activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, (2016) 113 (43): 12310-12315.

Cobret L, De Tauzia M, Ferent J, Traiffort E, Hénaoui I, Godin F, Hélène Bénédicti and **Séverine Morisset-Lopez** Targeting the cis-dimerization of LINGO-1 with small-molecule affects its downstream signaling. *Br J Pharmacol*, (2015) (172): 841-856.