

**Proposition de Stage M2 S4 NEUROSCIENCES
Année Universitaire 2010-2011**

1. Equipe d'Accueil de Master (EAM) :

Intitulé et numéro de l'Unité : Neurobiologie des Processus Adaptatifs, CNRS UMR 7102

Nom du Responsable de l'Unité : Jean MARIANI

Nom du Responsable de l'Équipe : Alain TREMBLEAU

Intitulé de l'équipe d'accueil : **Equipe Avenir/INSERM et FRM « Développement et Plasticité des Réseaux Neuronaux »**

Adresse : Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Boite 12 (Bât. B, 6ème étage)

9 quai St Bernard, 75005, Paris

Nom des responsables de l'encadrement : **Caroline DUBACQ et Alain TREMBLEAU**

Tél. : 01 44 27 36 52

Fax. : 01 44 27 26 69

E-mail : contact = Alain Trembleau : alain.trembleau@upmc.fr

2. Titre du sujet : Analyse fonctionnelle du transport et de la traduction locale des ARNm codant des récepteurs de molécules odorantes dans l'axone des neurones sensoriels olfactifs chez la souris.

3. Description du sujet :

Le guidage des axones sensoriels olfactifs, de l'épithélium nasal vers le bulbe olfactif, dépend chez les Mammifères de mécanismes complexes encore très mal compris. Chez la souris, il existe plus de 1000 gènes codant des récepteurs de molécules odorantes (RO), et chaque neurone sensoriel olfactif (NSO) n'exprime qu'un seul de ces gènes. Tous les NSO exprimant le même RO (= neurones de même identité), bien que dispersés dans l'épithélium olfactif, projettent spécifiquement leur axone sur deux petites structures bulbaires appelées glomérules (Figure 1). Ce processus, qui nécessite le tri des axones en fonction de leur identité, aboutit à la formation sur le bulbe olfactif d'une carte glomérulaire stéréotypée, constituée d'environ 2000 glomérules. De façon remarquable, il a été établi que ce tri, qui est initié lorsque les axones entrent dans le bulbe olfactif, dépend des RO eux-mêmes, par un mécanisme qui demeure énigmatique (Mombaerts, 2006). L'un des objectifs de notre équipe est d'identifier les mécanismes moléculaires par lesquels ces récepteurs membranaires de la famille des récepteurs couplés aux protéines G permettent aux axones de se reconnaître et de se trier dans le bulbe pour former des glomérules innervés de façon homogène. Notre hypothèse de travail est que ce tri pourrait être déclenché par la synthèse locale de RO dans les axones olfactifs, au moment de leur entrée dans le bulbe. Dans ce cadre conceptuel, l'expression d'un même RO par deux axones leur conférerait une affinité/adhésion maximale l'un pour l'autre. Notre hypothèse a récemment été étayée par 1) l'observation d'une corrélation spatiale entre la localisation de RO au niveau des segments distaux intra-bulbaires et le processus de tri (Strotmann et al., 2004, Treloar et al., 2002), 2) la démonstration, faite dans notre équipe, d'une traduction locale régulée des ARNm codant les RO dans l'axone des NSO (Dubacq et al., 2009), et 3)

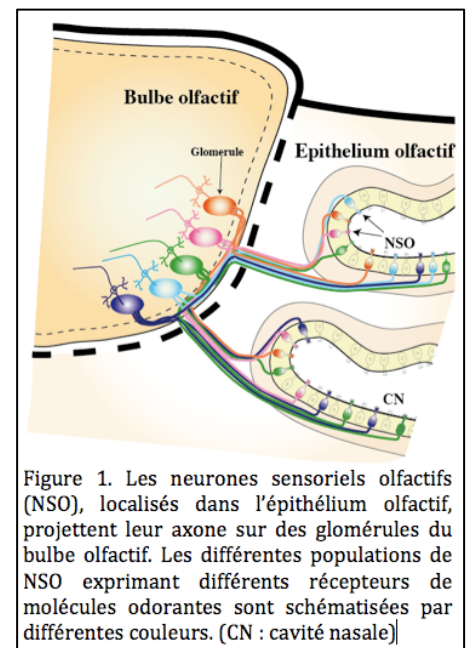


Figure 1. Les neurones sensoriels olfactifs (NSO), localisés dans l'épithélium olfactif, projettent leur axone sur des glomérules du bulbe olfactif. Les différentes populations de NSO exprimant différents récepteurs de molécules odorantes sont schématisées par différentes couleurs. [CN : cavité nasale]

des résultats préliminaires obtenus dans un système hétérologue (une lignée cellulaire), qui indiquent que l'expression de RO par ces cellules leur confère des propriétés d'adhésion (données non publiées de notre laboratoire).

Récemment, nous avons caractérisé l'expression de différentes formes d'ARNm codant les RO MOR28 et MOR23 chez la souris, générées par polyadénylation alternative en 3' ou splicing alternatif en 5' (données non publiées). Sachant que, dans d'autres systèmes, différents variants d'un ARNm générés par polyadénylation alternative peuvent avoir une localisation subcellulaire et des fonctions distinctes (An et al., 2008), nous souhaitons explorer la compartimentation neuronale et les activités traductionnelles de ces différentes formes d'ARNm dans des neurones olfactifs.

Les objectifs de ce stage seront donc 1) d'achever la construction de vecteurs (dont l'obtention est en cours au laboratoire) permettant l'expression des différentes formes de l'ARNm MOR28, ainsi que de « rapporteurs GFP de traduction » (Aakalu et al., 2001) pour chacune de ces formes ; 2) d'analyser ex vivo et in vivo la localisation subcellulaire et l'activité traductionnelle de ces constructions transfectées dans des neurones sensoriels olfactifs. Les expériences consisteront à déterminer, par hybridation in situ et par imagerie GFP pour les rapporteurs de traduction, si les différentes formes analysées sont transportées et traduites dans l'axone. En outre, l'étudiant analysera et comparera la localisation subcellulaire de la protéine MOR28 dans les neurones exprimant les différentes formes d'ARNm MOR28, grâce à un anticorps spécifique récemment obtenu au laboratoire.

Ce travail aboutira à une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires contrôlant la localisation axonale des RO, dont nous savons qu'elle joue un rôle essentiel dans le processus de tri des axones sensoriels olfactifs. Il débouchera sur un programme de thèse plus conséquent, portant sur l'analyse de mécanismes moléculaires originaux contrôlant la formation de la carte sensorielle olfactive dans le bulbe olfactif.

Références :

- Aakalu G, Smith WB, Nguyen N, Jiang C, Schuman EM (2001) Dynamic visualization of local protein synthesis in hippocampal neurons. *Neuron* 30:489-502.
- An JJ, Gharami K, Liao GY, Woo NH, Lau AG, Vanevski F, Torre ER, Jones KR, Feng Y, Lu B, Xu B (2008) Distinct role of long 3' UTR BDNF mRNA in spine morphology and synaptic plasticity in hippocampal neurons. *Cell* 134:175-187.
- Dubacq C, Jamet S, Trembleau A (2009) Evidence for developmentally regulated local translation of odorant receptor mRNAs in the axons of olfactory sensory neurons. *J Neurosci* 29:10184-10190.
- Mombaerts P (2006) Axonal wiring in the mouse olfactory system. *Annu Rev Cell Dev Biol* 22:713-737.
- Strotmann J, Levai O, Fleischer J, Schwarzenbacher K, Breer H (2004) Olfactory receptor proteins in axonal processes of chemosensory neurons. *J Neurosci* 24:7754-7761.
- Treloar HB, Feinstein P, Mombaerts P, Greer CA (2002) Specificity of glomerular targeting by olfactory sensory axons. *J Neurosci* 22:2469-2477.