

Impact d'un régime réduit en méthionine sur le fonctionnement de l'horloge centrale de souris.

Le cycle activité/repos, l'alternance de phases de prise alimentaire et de jeûne sont deux exemples de l'organisation rythmique circadienne des mammifères. Celle-ci résulte de l'existence dans la plupart des organes d'horloges biologiques, gouvernées par une horloge principale dans l'hypothalamus : les noyaux suprachiasmatiques (SCN). Le fonctionnement de ces horloges repose sur des boucles de rétroaction moléculaire impliquant des acteurs spécifiques appelés gènes horloges (dont *Per2*, *Bmal1* et *Clock*). La lumière est le premier synchroniseur des SCN, mais des facteurs non photiques peuvent également modifier leur fonctionnement et celui des horloges périphériques ; c'est le cas notamment des facteurs nutritionnels.

Ces interactions entre horloges circadiennes et métabolisme sont le domaine de recherche de l'équipe 7 de l'INCI. Le sujet de thèse proposé est plus précisément axé sur les conséquences d'un déficit alimentaire.

Comparée à un nourrissage standard *ad libitum*, la restriction calorique a plusieurs effets. Elle augmente significativement la longévité, et provoque une modification du rythme d'activité/repos en modulant directement le fonctionnement des SCN.

La méthionine est un acide aminé essentiel (qui doit être fourni par l'alimentation). Or, un régime carencé en méthionine mime les effets de la restriction calorique en limitant la prise de poids des animaux et en augmentant leur longévité.

L'objectif est ici d'étudier si ce régime fourni *ad libitum* provoque également des modifications de la rythmicité circadienne et du fonctionnement de l'horloge principale.

Des souris restreintes auront accès pendant au moins deux mois à une nourriture de même valeur énergétique que les souris témoins mais retenant 0,10% de méthionine *versus* 0,43% dans la nourriture standard.

L'impact métabolique de ce régime sera évalué par un suivi régulier de la masse corporelle, de la prise alimentaire, et par calorimétrie indirecte en cage métabolique. Parallèlement, le fonctionnement de l'horloge hypothalamique sera évalué au niveau comportemental par la période endogène mesurée en obscurité constante et par des décalages horaires du cycle lumière/obscurité utilisés comme marqueurs de la synchronisation par la lumière ambiante.

A la fin de ce suivi, l'expression rythmique des gènes ou protéines d'horloge dans les SCN et dans des tissus périphériques (foie, muscle, tissu adipeux) sera comparée entre souris témoins et carencées. Cette approche moléculaire se fera par qPCR, et aussi par RNAScope et immunohistochimie dans les SCN pour des données morphofonctionnelles. L'équipe dispose aussi de souris transgéniques PER2-luciférase. La phase, la période et l'amplitude des oscillations des horloges cellulaires pourront ainsi être suivies par bioluminescence *in vitro* pendant plusieurs cycles sur des explants provenant de souris restreintes : tranches cérébrales dont SCN, et foie.

Une seconde partie de la thèse consistera à rechercher les acteurs métaboliques impliqués dans l'impact du régime carencé sur le fonctionnement des horloges.

Nous ciblerons donc aussi par qPCR l'expression de gènes du métabolisme comme *Sirt1*, *Pgc-1 $\alpha$*  ou *Fgf21* dont on sait déjà qu'elle est modifiée chez des souris en restriction calorique. La protéine SIRT1 par exemple, une désacétylase NAD<sup>+</sup> dépendante, est impliquée à la fois dans la médiation des effets de la restriction calorique sur la longévité et dans le contrôle direct du rythme suprachiasmatique en activant la transcription de *Bmal1* et *Clock*. L'inactivation par siRNA de *Sirt1* permettra de préciser son importance dans notre modèle de souris carencée en méthionine. Les molécules candidates comme les sirtuines ou leurs régulateurs comme le resvératrol seront appliquées sur les explants à différents moments des cycles pour quantifier leurs effets chronomodulateurs.

Enfin, l'existence de mécanismes de régulation épigénétique des gènes horloges sera aussi recherchée chez les souris carencées.

Compétences souhaitées :

Connaissances en neurobiologie des rythmes, notions de métabolisme

Expertises qui seront acquises :

Actimétrie, Calorimétrie indirecte, Analyse de la bioluminescence (luciférase) *in vitro*

Transfection virale (siRNA), Analyse des ARNm par RNAScope et qPCR

Analyse des protéines par immunohistochimie

Epigénétique (bisulfite sequencing, Methylated DNA immunoprecipitation)

Encadrant : Patrick Vuillez.

INCI, équipe Horloges Circadiennes et Métabolisme.

Contact avant le 15 mai : [vuillez@unistra.fr](mailto:vuillez@unistra.fr) et [challet@inci-cnrs.unistra.fr](mailto:challet@inci-cnrs.unistra.fr)

En cas d'accord, un dossier devra être constitué pour l'Ecole Doctorale avant le 7 juin.

*Un délai pour l'envoi du relevé de notes semestre 4 et uniquement cette pièce est accordé jusqu'au 18 juin 2021 (candidats concours A) et 22 juin 2021 (candidats concours B).*

Cf site de l'ED :

<http://ed.vie-sante.unistra.fr/appel-a-candidature-au-contrat-doctoral/dossier-de-candidature/>