

PROPOSITION DE STAGE DE M2 POUR L'ANNÉE 2021-2022

Sujet : Caractérisation du contenu en ARNs des vésicules extracellulaires microgliales dans le syndrome de Sanfilippo.

RENSEIGNEMENTS SUR L'EQUIPE D'ACCUEIL

Intitulé : Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques et biothérapies associées

Responsables : Pr Rémy Poupot – Pr Jérôme Ausseil

Laboratoire ou entreprise : INFINITY – INSERM UMR1291

Encadrante du stage : Stéphanie Trudel-Ausseil, stephanie.trudel-ausseil@inserm.fr

Site web: <https://www.infinity.inserm.fr/equipes-de-recherche-2/equipe-5-j-ausseil-r-poupot-2/>

RENSEIGNEMENTS SUR LE SUJET

Les mucopolysaccharidoses (MPS) sont des maladies de surcharge lysosomale causées par des déficits en enzymes impliqués dans la dégradation des glycosaminoglycanes (GAGs). Par conséquent, ces GAGs s'accumulent dans le lysosome entraînant une multitude de symptômes cliniques, parmi lesquels la neurodégénérescence est la plus répandue. Dans toutes les MPS de type III (MPS III) ou syndrome de Sanfilippo, ce sont les oligosaccharides d'héparane sulfate (HSOs) qui s'accumulent spécifiquement dans le système nerveux central ainsi que dans tous les tissus et liquides biologiques. Cette accumulation progressive induit une série de conséquences pathologiques incluant une neuroinflammation, un stress oxydant et une neurodégénérescence.

Précédemment, nous avons montré dans des modèles de Sanfilippo de type B (MPS IIIB) que l'accumulation de HSOs mène à une production, médiée par l'activation du récepteur TLR4, de cytokines pro-inflammatoires principalement par les microglies et dans une moindre mesure les astrocytes. Cependant les HSOs sont incapables d'activer une production de molécules inflammatoires par les neurones. Hors il a été largement démontré que dans ce syndrome, les neurones produisent de telles molécules. Nous avons émis l'hypothèse que la propagation de la neuroinflammation se fait par l'intermédiaire de vésicules extracellulaires (EVs) sécrétées par la microglie et chargées en molécules inflammatoires, conduisant à une neurodégénérescence caractéristique du syndrome de Sanfilippo.

Les EVs sont des vésicules entourées par une bicouche lipidique transportant du contenu protéique, lipidique, et nucléique représentatif de la cellule sécrétrice. Elles permettent la communication intercellulaire, entre autres fonctions physiologiques essentielles à la survie de la cellule. Leur rôle dans la transmission de la neuroinflammation et le transport de protéines pathologiques dans le cas des maladies neurodégénératives comme Alzheimer ou Parkinson a été largement décrit ces dernières années.

Objectifs : Caractériser le contenu en ARNs (ARNm, microARN, ...) des vésicules extracellulaires sécrétées par la lignée microgliale murine BV-2 en conditions contrôle et traitées par les GAGs purifiés à partir d'urines de sujets sains et d'urines de patients MPS.

Modèles/techniques utilisées : L'étudiant réalisera de la culture cellulaire et utilisera des techniques classiques biochimiques (purification des vésicules extracellulaires par centrifugation différentielle) et de biologie moléculaire (extraction des ARNs, qPCR) combinées à des approches innovantes comme le séquençage nouvelle génération (NGS) de type RNA seq et l'analyse bioinformatique en collaboration avec la Plateforme de Génomique et Transcriptomique d'Infinity.

Références bibliographiques :

J. Ausseil et al, PLoS ONE, 2008

S. Trudel et al, J. Neurosci. Res., 2015

V. Puy et al, Glia, 2018