

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : MANIERE

Prénom : Gérard

Section CNU : 69

Grade : PR

HDR : Date de soutenance...09/10/2019..... Discipline : ...Biologie des Organismes

l'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

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

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, UMR 6265 CNRS, 1224 INRAe, l'Institut Agro Dijon, UBE. Directeur Loïc Briand.

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- 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, 1224 INRAe, l'Institut Agro Dijon, UBE. Equipe PERSING

- localisation : CSGA 9^E Boulevard Jeanne d'Arc, 21000 Dijon.

- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu : PR Gérard Manière

- adresse courriel du contact scientifique : gerard.maniere@u-bourgogne.fr

- **titre du projet : Les transporteurs d'acides aminés de type SLC7A5 et le neurodéveloppement chez la drosophile.**

- **description du projet (2 pages maximum)**

Les acides aminés (AAs) jouent un rôle essentiel dans la neurogenèse et le fonctionnement du système nerveux chez la drosophile (Britton et Edgar, 1998). Ils sont transportés dans les cellules via des transporteurs d'AAs, qui appartiennent à la superfamille des SLC (SoLute Carriers). Les L-type Amino acid Transporters (LAT) sont des transporteurs hétérodimériques d'acides aminés. Chez la drosophile, ils sont formés d'une chaîne lourde CD98hc, qui permet l'ancrage à la membrane cellulaire, associée à une chaîne légère variable, qui détermine la spécificité des acides aminés transportés, codée par 5 gènes *minidiscs (mnd)*, *JhI-21*, *genderblind*, *sobremesa* et *CG1607*. Des travaux de l'équipe Persing du CSGA ont montré que ces transporteurs jouent un rôle important dans la régulation du développement et le fonctionnement du système nerveux chez la drosophile (Manière *et al.*, 2016 ; Aboudhiah *et*

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

al. 2018 ; Galagovsky *et al.* 2018 ; Ziegler *et al.*, 2018. Manière *et al.* 2020 ; Delescluse *et al.*, 2024). Par comparaison de séquences protéiques, MND semble être l'orthologue des transporteurs aux acides aminés de type SLC7A5 (LAT-1) des mammifères (Ceder et Fredriksson, 2022). Chez la souris, des mutations du gène *SLC7A5* entraînent une réduction du volume cérébral au cours du développement, une modification de l'excitabilité des neurones corticaux et des troubles du spectre de l'autisme (Knaus *et al.*, 2023 ; Tărlungeanu *et al.*, 2016). Par ailleurs, chez l'homme, 20% des cas de troubles du spectre de l'autisme sont associés à une réduction du volume cérébral (Gilbert et Man, 2017). Le projet de thèse consistera en l'étude du rôle de MND associée à CD98hc dans le neurodéveloppement chez la drosophile.

Cette étude permettrait de mettre en évidence de nouveaux acteurs moléculaires dans les mécanismes de neurogenèse qui déterminent la taille finale du cerveau.

A/ Rôle de MND et des cellules gliales dans la neurogenèse

Des résultats préliminaires montrent qu'une invalidation de *mnd* dans les cellules gliales induit une réduction de taille du cerveau chez la larve de drosophile. Différents types de cellules gliales sont présents dans le cerveau larvaire et certains jouent un rôle fondamental lors de la neurogenèse. À l'aide d'outils génétiques disponibles chez la drosophile (système GAL4-UAS), *mnd* ou *CD98hc* seront invalidés dans les différents types de cellules gliales (glie de la barrière hémato-encéphalique incluant la glie périneurale et sous-périneurale, glie corticale, glie enveloppante et glie de type astrocytaire). Les différentes caractéristiques des cerveaux seront analysées telles que la taille du système nerveux central (diamètre des lobes cérébraux, longueur de la chaîne nerveuse ventrale) et le nombre de neuroblastes, neurones et cellules gliales. De plus, la prolifération cellulaire et l'apoptose seront déterminées afin d'identifier le mécanisme cellulaire entraînant une réduction de taille du cerveau. Les résultats obtenus permettront l'identification des types de cellules gliales impliqués dans la neurogenèse dans lesquels MND et CD98hc et le transport des AAs sont indispensables.

B/ Transporteurs d'AAs et voies de signalisation dans les cellules gliales

Le développement cérébral dépend des transporteurs SLC7A5 transportant des acides aminés essentiels particuliers, les acides aminés ramifiés (BCAAs) issus des aliments. L'activité calcique oscillatoire des cellules gliales dans le cerveau des larves de drosophile est dépendante de l'état nutritionnel et induit la neurogenèse (Spéder et Brand, 2014). L'activité calcique des cellules gliales exprimant le transporteur MND/CD98hc identifiées précédemment sera étudiée en réponse aux acides aminés comme les BCAAs. Les résultats obtenus devraient permettre de mettre en évidence le rôle de transporteur MND/CD98hc dans les cellules gliales qui contrôlent la neurogenèse.

Pour identifier des voies de signalisation régulées par le transporteur MND/CD98hc, des expériences RNA-seq seront réalisées sur des cerveaux témoins et des cerveaux où *mnd* ou *CD98hc* seront invalidés dans les cellules gliales. La comparaison entre les deux profils d'expression génétique permettra l'identification de gènes surexprimés ou sous-exprimés. Ces gènes candidats seront caractérisés à l'aide de nombreux outils génétiques disponibles chez la drosophile afin de confirmer leur rôle dans le neurodéveloppement.

C/ Acides aminés et neurodéveloppement

Le rôle de l'alimentation sur la neurogenèse sera évalué en réalisant des expériences avec des larves sauvages élevées dans des milieux nutritifs avec ou sans BCAAs. L'absence de certains acides aminés dans l'alimentation devrait induire un phénotype neurodéveloppemental avec réduction de la taille du cerveau. À l'inverse, chez les larves chez lesquelles *mnd* a été invalidé dans les cellules gliales, une alimentation enrichie en BCAAs devrait partiellement ou totalement restaurer ce phénotype. Ainsi, une carence en acides aminés issus de l'alimentation pourrait être liée aux phénotypes neurodéveloppementaux des troubles du spectre de l'autisme.

D/ Neurodéveloppement et comportement

Le lien entre neurodéveloppement et comportement sera décrypté chez les larves et les drosophiles adultes. En effet, les comportements d'interactions sociales sont perturbés dans les troubles du spectre de l'autisme. Suite à l'inactivation de *mnd* ou de *CD98hc* dans des types de cellules gliales spécifiques, les interactions sociales telles que le comportement coopératif de creusement du milieu nutritif chez les larves ou le comportement d'agression chez les adultes seront étudiées. Ces travaux permettront d'établir un lien entre les transporteurs d'AAs, le neurodéveloppement et le comportement.

Bibliographie :

- Aboudhiah *et al.* LAT1-like Transporters Regulate Dopaminergic Transmission and Sleep in *Drosophila*. *Sleep*. **2018**, 41 (10).
- Britton et Edgard. Environmental control of the cell cycle in *Drosophila*: nutrition activates mitotic and endoreplicate cells by distinct mechanisms. *Development*, **1998**, 125, 2149-58.
- Ceder MM et Fredriksson R. A phylogenetic analysis between humans and *D. melanogaster*: A repertoire of solute carriers in humans and flies. *Gene*. **2022**, 809:146033.
- Delescluse *et al.* A LAT-1 amino acid transporter regulates neuronal activity in the *Drosophila* mushroom bodies. *Cells*. **2024**, 13(16) : 1340.
- Galagovsky *et al.* Sobremesa L-Type Amino Acid Transporter Expressed in Glia Is Essential for Proper Timing of Development and Brain Growth. *Cell Rep*. **2018**, 24 (12), 3156-3166.e4.
- Gilbert J et Man HY. Fundamental Elements in Autism: From Neurogenesis and Neurite Growth to Synaptic Plasticity. *Front Cell Neurosci*. **2017**, Nov 20;11:359.
- Knaus *et al.* Large neutral amino acid levels tune perinatal neuronal excitability and survival. *Cell*. **2023**, 186, 1950-1967.
- Manière *et al.* Direct Sensing of Nutrients via a LAT1-like Transporter in *Drosophila* Insulin-Producing Cells. *Cell Rep*. **2016**, 17 (1), 137–148.
- Manière *et al.* Growth Regulation by Amino Acid Transporters in *Drosophila* Larvae. *Cell. Mol. Life Sci*. **2020**, 77 (21), 4289–4297.
- Spéder P et Brand AH. Gap junction proteins in the Blood-Brain Barrier control nutrient-dependent reactivation of *Drosophila* neural stem cells. *Dev. Cell*. **2014**, 30, 309-321.
- Tărlungeanu *et al.* Impaired amino acid transport at the blood brain barrier is a cause of autism spectrum disorder. *Cell*. **2016**, 167, 1481-1494.
- Ziegler *et al.* JhI-21 Plays a Role in *Drosophila* Insulin-like Peptide Release from Larval IPCs via Leucine Transport. *Sci Rep*. **2018**, 8 (1), 1908.

- **Financement du projet** – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)
Financements acquis : ANR PEPNEURON (2023-2026) 81670€; Projet MicroAlim UBE/Région (2025-2027) 35315€, Récurrent de l'équipe.

- **Connaissances et compétences requises** : biochimie, immunohistologie, biologie moléculaire, génétique, neurosciences.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Les acides aminés (AAs) jouent un rôle clé dans la neurogenèse et le fonctionnement du système nerveux de la drosophile. Leur transport est assuré par des transporteurs SLC constitués d'une chaîne lourde CD98hc et d'une chaîne légère variable, codée par plusieurs gènes, dont *minidiscs* (*mnd*). Des études ont montré que ces transporteurs ont un rôle sur le développement et le fonctionnement du système nerveux chez la drosophile. MND semble être l'orthologue du transporteur SLC7A5 des mammifères, dont les mutations du gène entraînent une réduction du volume cérébral, une modification de l'excitabilité neuronale et des troubles du spectre de l'autisme. Ce projet de thèse vise à explorer le rôle de MND et CD98hc dans la neurogenèse de la drosophile en utilisant des approches génétiques et

fonctionnelles. Des travaux préliminaires montrent que l'invalidation de *mnd* dans les cellules gliales induit une réduction de la taille du cerveau larvaire. L'étude portera sur différents types de cellules gliales pour analyser leur rôle dans la neurogenèse et identifier les mécanismes et voies de signalisation responsables de cette réduction cérébrale par imagerie fonctionnelle calcique et par des analyses de RNA-seq. Par ailleurs, l'effet de l'alimentation sur la neurogenèse sera évalué en modulant l'apport en AAs essentiels. Une supplémentation en AAs essentiels dans la nourriture pourrait restaurer les défauts observés chez les larves où *mnd*, est invalidé. Enfin, les liens entre neurodéveloppement et comportement seront examinés en étudiant les interactions sociales des larves et des adultes après invalidation de *mnd* ou *CD98hc*. Cette étude pourrait ainsi mettre en évidence de nouveaux acteurs moléculaires impliqués dans la neurogenèse et les troubles neurodéveloppementaux.

Amino acids (AAs) play a key role in neurogenesis and central nervous system function in *Drosophila*. Their transport is mediated by SLC transporters consisting of a heavy chain, *CD98hc*, and a variable light chain encoded by several genes, including *minidisks (mnd)*. Studies have shown that these transporters affect the development and function of the nervous system in *Drosophila*. MND appears to be the ortholog of the mammalian SLC7A5 transporter, whose gene mutations lead to a reduced brain size, an altered neuronal excitability and autism spectrum disorders. This project aims to investigate the role of MND and *CD98hc* in *Drosophila* neurogenesis using genetic and functional approaches. Preliminary studies show that the downregulation of *mnd* in glial cells induces a reduction in larval brain size. The research will focus on different types of glial cells to analyse their role in neurogenesis and identify the mechanisms and signaling pathways involved in the brain reduction using functional calcium imaging and RNA-seq analysis. In addition, the effect of diet on neurogenesis will be assessed. Dietary supplementation with essential AAs could rescue the defects observed in *mnd* null larvae. Finally, the links between neurodevelopment and behaviour will be investigated by studying the social interactions of larvae and adults after *mnd* or *CD98hc* downregulation. This study may reveal new molecular factors involved in neurogenesis and neurodevelopmental disorders.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Non défini

Biologie

Psychologie, neurosciences

Mots clés : *Drosophile*, Acides-aminés, Alimentation, Cellules gliales, Neuroblastes, Neurodéveloppement.