



Présentation des projets financés au titre de l'édition 2010 du Programme Blanc Inter SVSE 4

ACRONYME et titre du projet	Page
HearDeafTreat – Audition et surdité: Mécanismes moléculaires et approches thérapeutiques	2
RNAtrans – Visualisation de molécules uniques d'ARNm et de leur topologie afin d'étudier la traduction locale dans les neurones.....	5

Programme Blanc Inter SVSE 4

Edition 2010

Titre du projet	HearDeafTreat – Audition et surdité: Mécanismes moléculaires et approches thérapeutiques
Résumé	<p>Les formes neurosensorielles de surdité (SNHL) sont les plus sévères. Lorsqu'elles apparaissent précocement (formes pr��linguales), elles contrarient l'acquisition du langage parlé. Les formes d'apparition tardive conduisent à un isolement social, et souvent à un état dépressif. Parmi les surdités neurosensorielles, celle liée à l'âge (AHL) ou presbyacousie est la plus fréquente. De surcroît, celle induite par le bruit (NIHL) affecte un nombre croissant de sujets jeunes. Le coût des déficits auditifs dépasse 90 milliards d'euros par an dans l'Union Européenne. Aides auditives et implants cochléaires constituent actuellement la seule possibilité "thérapeutique". L'une des principales raisons du retard qu'accuse la thérapie pharmacologique est la connaissance insuffisante des mécanismes moléculaires de l'audition et de ses atteintes. Les déficits auditifs pour la plupart sont dus à des atteintes de l'organe sensoriel (cochlée) ou des neurones auditifs afférents du ganglion spiral (SGN). Des atteintes du système efférent peuvent aussi être en cause. Les formes héréditaires de surdité, qui rendent compte de la plupart des formes d'apparition précoce dans les pays développés, ont pour cible principale les cellules sensorielles (cellules ciliées; CC). Vieillesse, ischémie cochléaire et traumatismes sonores endommagent les CC et les SGN. Les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) et le système antioxydant de l'oreille interne sont au cœur de la pathogénie des surdités neurosensorielles, comme l'indique l'augmentation des DRO dans certaines formes de surdités monogéniques, AHL, NIHL, et surdités induites par une ischémie. L'existence de facteurs génétiques de susceptibilité et de gènes responsables de surdité codant des protéines impliquées dans l'homéostasie des DRO fournit des arguments directs de leur implication. L'augmentation du taux de DRO a des effets délétères à la fois sur les CC et les SGN. Toutefois, le mécanisme précis de l'augmentation des DRO, leurs cibles moléculaires et leurs mécanismes d'action dans les SNHL héréditaires et acquises sont encore très mal connus. Des résultats récents suggèrent que les DRO ont un effet sur la transduction</p>

mécano-électrique (MET) opérée par les CC. Le projet HEARDEAFTREAT porte sur les défauts de l'homéostasie des DRO dans les diverses formes de surdité. Il vise à clarifier les processus pathogéniques sous-jacents, et à tester des composés antioxydants en tant qu'agents préventifs et curatifs. Le rôle des DRO dans le processus de MET sera exploré en se fondant sur (i) l'étude des courants de MET à un stade adulte sur une préparation d'hémicochlée, (ii) la production de souris porteuses d'une inactivation conditionnelle du gène d'intérêt survenant à l'âge adulte, de façon à éviter d'éventuels effets délétères sur le développement de la cochlée, et (iii) l'élucidation de la relation structure/fonction de la machinerie MET. Le projet concerne aussi l'étude de la pathogénie de formes monogéniques de surdité vraisemblablement liées à l'homéostasie anormale des DRO, par l'étude des modèles murins correspondants in vivo et ex vivo sur préparation d'hémicochlée, comparée à celle (y inclus l'analyse du transcriptome) de mutants murins pour des gènes codant des protéines impliquées dans l'homéostasie des DRO. Une hypervulnérabilité au son et à la privation en oxygène et glucose sera recherchée comme signe possible d'un défaut d'homéostasie des DRO. Seront aussi étudiés les effets d'un préconditionnement au bruit et de la stimulation du système efférent dopaminergique sur l'homéostasie des DRO. Selon les résultats obtenus, l'effet des molécules antioxydantes et des activateurs de la libération de dopamine sera testé. Ce projet repose sur les compétences complémentaires de spécialistes français en génétique moléculaire et neurobiologie de l'audition et de neurophysiologistes et neuropharmacologues hongrois, il bénéficie de l'expertise de Sanofi-Aventis pour les molécules thérapeutiques.

Partenaires

IP-Inserm
Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, & Semmelweis University (IEM HAS, Hongrie)
Sanofi-Aventis

Coordinateur

Christine PETIT - IP-Inserm
christine.petit@pasteur.fr

Aide de l'ANR

470000 €

Référence

ANR-10-INTB-1402

Début et durée

- 36 mois

Référence ANR-10-

Label pôle

Programme Blanc Inter SVSE 4

Edition 2010

Titre du projet	RNAtrans – Visualisation de molécules uniques d'ARNm et de leur topologie afin d'étudier la traduction locale dans les neurones
Résumé	<p>Le contrôle traductionnel des ARNm est un processus régulateur très important. Ceci a été bien mis en lumière par la découverte des microRNA, qui régulent l'expression d'environ un tiers des gènes chez l'homme, et qui jouent des rôles clefs dans le contrôle de la traduction locale dans les neurones. En dépit de cela, il n'y a actuellement aucune technique capable de distinguer au niveau cellulaire un ARNm traduit d'un ARNm stocké sous une forme dormante. Or, cette limitation est critique dans l'étude des ARNm traduits localement. Dans les neurones, la traduction locale des ARN à la synapse contribue à la plasticité synaptique et donc à l'apprentissage et à la mémoire. Le transport des ARN est également essentiel pour le guidage axonal et pendant la régénération des nerfs. Un blocage dans ces processus peut d'ailleurs causer des maladies, comme le retard mental du X fragile ou l'atrophie spinale musculaire. Les ARN messagers sont sujets à de nombreuses réactions avant de servir de matrice dans la synthèse protéique. Dans le noyau, les pre-ARNm doivent être épissés, maturés à leur extrémité 3', et exportés à travers les pores. Dans le cytoplasme, les ARNm peuvent être gardés silencieux, transportés vers des sites spécifiques, ou traduits en protéine. Toutes ces réactions requièrent de nombreuses modifications de la forme et de la structure des ARNm. Par exemple, les pre-mRNA doivent former des boucles pour exciser leurs introns, et les ARNm matures doivent être circularisés pour initier leur traduction. Il a été aussi suggéré qu'ils traversent les pores en étant allongés, à la manière d'un fil à travers le chas d'une aiguille. Ainsi, en dépit du peu de données disponibles, on peut conclure que: (i) les ARNm peuvent adopter de nombreuses formes différentes, (ii) ces formes sont adaptées aux réactions auxquelles l'ARN est soumis, et (iii) des facteurs spécifiques les contrôlent. Le but de ce projet est d'utiliser la microscopie super-résolutive pour déterminer la topologie des ARNm dans les neurones, et de corrélérer la forme des ARNm avec leur état traductionnel. Ceci nous permettra de</p>

comprendre comment des ARNm transportés vers les dendrites sont gardés silencieux, et où et quand la répression traductionnelle est levée suite à une activation synaptique. Grâce à des techniques d'hybridation in situ très sensibles, capables de détecter des molécules uniques d'ARN avec une haute efficacité (>80%), nous analyserons la topologie des ARNm en détectant simultanément leurs extrémités 5', 3', et éventuellement une région médiane. Ceci permettra de déterminer si les ARNm sont dans une conformation compacte, circulaire ou allongée, et cette conformation aidera à déterminer leur état traductionnel. Nous avons réalisé des expériences pilotes dans les cellules HeLa, qui montrent que nous pouvons détecter in situ les deux extrémités d'un ARN rapporteur avec une bonne précision et une bonne efficacité, ce qui permet une mesure automatisée des distances intra-moléculaires. Nous utiliserons d'abord ces cellules pour corréliser la forme des ARN à leur état traductionnel. Ensuite, nous utiliserons des neurones de rats afin d'étudier la topologie de quatre ARNm endogènes au cours de leur transport et jusqu'à leur destination finale aux synapses, et la manière dont cette topologie évolue en fonction de l'activité synaptique. Ceci ouvrira la voie à l'étude de la traduction des ARNm à l'échelle de molécules isolées, dans des cellules intactes. Par ailleurs, les techniques de molécules uniques permettent une analyse quantitative et à haute résolution, et nous profiterons de l'occasion pour réaliser une analyse détaillée de la localisation de nos quatre ARNm modèles. Ces expériences devraient ainsi largement augmenter notre compréhension du transport et de la localisation des ARNm dans les neurones, de la manière dont la répression traductionnelle est levée, et de quand et où les ARNm sont traduits suite à l'activation synaptique.

Partenaires CNRS/IGMM
Institut Pasteur
Medical University of Vienna (Autriche)

Coordinateur Edouard Bertrand - CNRS/IGMM
Edouard.Bertrand@igmm.cnrs.fr

Aide de l'ANR 396913€

Référence ANR-10-INTB-1401

Début et durée - 36 mois

Référence ANR-10-

Labe pôle