

Offre de thèse

Valorisation de peptides bioactifs pour des applications neuromodulatrices : développement de la planaire comme modèle simplifié d'études *in vivo* du système nerveux pour un criblage fonctionnel haut débit

Champs scientifiques : Neurophysiologie, éthologie, biologie cellulaire et moléculaire

Mots clés : système nerveux, invertébrés, comportement, imagerie cellulaire, voies de signalisation

Laboratoire d'accueil : BTSB, Biochimie et Toxicologie des Substances Bioactives, Institut National Universitaire Champollion d'Albi, France

Ecole doctorale de rattachement : SEVAB- ED458 « Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries »

Etude

Contexte : La médecine comme l'agriculture sont en recherche permanente de nouvelles molécules sélective, avec moins d'effets secondaires sur l'homme et/ou l'environnement. Les peptides bioactifs répondent à ces exigences de par leur structure tridimensionnelle leur conférant une spécificité/nouveauté de cible et de par leur biodégradabilité. Le venin produit par les animaux représente une source variée de peptides bioactifs et certains sont déjà commercialisés : le PRIALT® (ziconotide) (cônes marins) ou le Spear-T (araignée). Grâce à la méthode vénomique, l'équipe BTSB a identifié chez plusieurs espèces, une centaine de peptides potentiellement bioactifs. Certains sont identifiés comme immunomodulateurs ou insulinothèques, et des premiers tests d'activités ont montré, pour d'autres, un effet neuromodulateur ou insecticide

Actuellement, des tests *in vitro* sont disponibles mais les approches *in vivo* sont plus difficiles à mettre en place (complexité des systèmes nerveux (SN), règles éthiques). Déjà utilisé comme modèle pour la régénération (McConnell, Jacobson et al. 1959, Newmark, Wang et al. 2008, Oviedo, Nicolas et al. 2008, Salo and Agata 2012, Ross, Currie et al. 2017), la planaire émerge comme un modèle simplifié d'étude du SN (Buttarelli, Pellicano et al. 2008, Blackiston, Shomrat et al. 2015, Hagstrom, Cochet-Escartin et al. 2015, Monjo and Romero 2015, Hagstrom, Cochet-Escartin et al. 2016, Ross, Currie et al. 2017) qui présente toutes les caractéristiques du SN des vertébrés et invertébrés supérieurs (Ribeiro, Vollaire et al. 2005, Buttarelli, Pellicano et al. 2008, Nishimura, Kitamura et al. 2008, Monjo and Romero 2015, Ross, Currie et al. 2017) et où le mécanisme de nociception y est conservé (McConnell, Jacobson et al. 1959). C'est un organisme invertébré endémique dont nous maîtrisons l'élevage et qui ne fait pas l'objet d'une réglementation en expérimentation animale.

Objectifs : L'objectif de cette thèse est de développer la planaire comme modèle d'étude *in vivo* pour évaluer et comprendre précisément les effets de peptides sur les voies de signalisation nerveuse pouvant conduire à des effets toxiques (Casida and Durkin 2013) ou modulateurs de la douleur. Les peptides seront sélectionnés pour leurs effets déjà connus ou pour leur identité de séquence avec des peptides déjà identifiés. Le projet de thèse associera des approches comportementales à des approches cellulaires (marquage, neurophysiologie) et moléculaires (RNAi, expression de gènes). La phase de validation des tests sera réalisée sur des molécules dont les cibles neurologiques et les modes d'action sont connus (néonicotinoïdes, antalgiques et myorelaxant).

Méthode : Dans le cadre d'une valorisation industrielle des peptides bioactifs, la compréhension de leurs mécanismes d'action est indispensable. L'effet d'une molécule de référence (pesticides ou médicaments) dont on connaît les cibles sera comparé à celui de peptides neuroactifs sélectionnés avec une cytotoxicité limitée.

Dans cette thèse, la priorité est de mettre au point un test *in vivo* de criblage fonctionnel simple et haut débit permettant de révéler rapidement l'effet de ces peptides sur le SN. Elle est construite en deux tâches principales qui consisteront 1) à mettre au point, à partir de molécules de référence, les méthodes permettant de révéler des perturbations du fonctionnement du SN de la planaire. Ces méthodes s'appuieront sur les outils de référence de la littérature et/ou déjà existants au laboratoire. Durant cette phase, les peptides neuroactifs seront également sélectionnés. 2) à évaluer les effets sur le SN des peptides présélectionnés en mobilisant l'ensemble des techniques développées durant la tâche I.

Le (la) candidat(e) sera amené(e) à pratiquer la neurophysiologie, l'élevage des planaires, l'imagerie cellulaire, les tests comportementaux, les analyses physiologiques et moléculaires (ex : survie, transcriptomique, ...), les tests d'(éco)toxicité, etc...

Présentation établissement et labo d'accueil

Equipe « Biochimie et Toxicologie des Substances Bioactives » est une équipe pluridisciplinaire basé à l'INU Champollion à Albi (Tarn, France)

Créé en 2015, l'INU Champollion est un établissement public d'enseignement supérieur et de recherche implanté à Albi, Rodez et Castres en France. Pluridisciplinaire et multisite, il organise des formations préparant aux diplômes nationaux de Licences, Licences professionnelles, et Masters. Ses activités de recherche s'inscrivent dans le cadre de l'Université Fédérale de Toulouse Midi-Pyrénées.

Les objectifs scientifiques de l'équipe BTSB sont de proposer des réponses aux problématiques sociétales liées à l'apparition de phénomènes de résistances en médecine humaine, vétérinaire, en agronomie et à l'impact des substances bioactives (médicaments, phytosanitaires) sur l'environnement. L'équipe effectue des recherches pluridisciplinaires basées sur l'utilisation d'espèces terrestres (fourmis, mouches) et aquatiques (escargots et planaires). Les compétences de l'équipe couvrent la biochimie, la biologie cellulaire et moléculaire, l'écotoxicologie, la physiologie et le comportement : cette grande diversité représente un véritable atout pour mener des projets pluridisciplinaires.

Site web : <https://btsb-albi.fr/>

Directeurs de thèse : Elsa Bonnafé (BTSB, INUC Albi) et Caroline Vignet (BTSB, INUC Albi)

Profil recherché – Une formation en neurophysiologie cellulaire et moléculaire. Des notions en éthologie seront appréciées ainsi qu'une expérience sur des modèles invertébrés (élevage, test d'(éco)toxicité). Des compétences en traitement de données sont indispensables.

Contacts : Elsa Bonnafé et Caroline Vignet
elsa.bonnafe@univ-jfc.fr et caroline.vignet@univ-jfc.fr

Pour candidater : merci d'envoyer votre dossier avant le 31 aout 2020 comportant les 3 éléments suivants :

i) lettre de motivation, ii) des lettres de recommandation (avec coordonnées des personnes référentes), iii) relevé des notes de master.

Information : Contrat doctoral sur financement « Région Occitanie/ Université Champollion » Brut mensuel : 1 768 €/ Net mensuel : 1 414 €

Début de la thèse : 1 décembre 2020

Bibliographie :

- Blackiston, D. J., T. Shomrat and M. Levin (2015). "The stability of memories during brain remodeling: A perspective." Commun Integr Biol **8**(5): e1073424.
- Buttarelli, F. R., C. Pellicano and F. E. Pontieri (2008). "Neuropharmacology and behavior in planarians: translations to mammals." Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol **147**(4): 399-408.
- Casida, J. E. and K. A. Durkin (2013). "Neuroactive Insecticides: Targets, Selectivity, Resistance, and Secondary Effects." **58**(1): 99-117.
- Hagstrom, D., O. Cochet-Escartin and E.-M. S. Collins (2016). "Planarian brain regeneration as a model system for developmental neurotoxicology." Regeneration (Oxford, England) **3**(2): 65-77.
- Hagstrom, D., O. Cochet-Escartin, S. Zhang, C. Khuu and E. M. Collins (2015). "Freshwater Planarians as an Alternative Animal Model for Neurotoxicology." Toxicol Sci **147**(1): 270-285.
- McConnell, J., A. L. Jacobson and D. P. Kimble (1959). "The effects of regeneration upon retention of a conditioned response in the planarian." J Comp Physiol Psychol **52**(1): 1-5.
- Monjo, F. and R. Romero (2015). "Embryonic development of the nervous system in the planarian *Schmidtea polychroa*." Dev Biol **397**(2): 305-319.
- Newmark, P., Y. Wang and T. Chong (2008). Germ Cell Specification and Regeneration in Planarians.
- Nishimura, K., Y. Kitamura, Y. Umesono, K. Takeuchi, K. Takata, T. Taniguchi and K. Agata (2008). "Identification of glutamic acid decarboxylase gene and distribution of GABAergic nervous system in the planarian *Dugesia japonica*." Neuroscience **153**(4): 1103-1114.
- Oviedo, N. J., C. L. Nicolas, D. S. Adams and M. Levin (2008). "Planarians: a versatile and powerful model system for molecular studies of regeneration, adult stem cell regulation, aging, and behavior." CSH Protoc **2008**: pdb.emo101.
- Ribeiro, C. A. O., Y. Vollaire, A. Sanchez-Chardi and H. Roche (2005). "Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France." Aquatic Toxicology **74**(1): 53-69.
- Ross, K. G., K. W. Currie, B. J. Pearson and R. M. Zayas (2017). "Nervous system development and regeneration in freshwater planarians." **6**(3): e266.
- Salo, E. and K. Agata (2012). "Planarian regeneration: a classic topic claiming new attention." Int J Dev Biol **56**(1-3): 3-4.

PhD call

Valuing bioactive peptides for neuromodulatory applications: planning development as a simplified model of in vivo studies of the nervous system for high-speed functional screening

Science fields: Neurophysiology, ethology, cellular and molecular biology

Keywords: nervous system, invertebrates, behavior, cellular imaging, signaling pathways

Host laboratory: BTSB, Biochemistry and Toxicology of Bioactive Substances, Champollion University in Albi, France

Doctoral school: SEVAB- ED458 "Ecological Sciences, Veterinarians, Agronomics and Bioengineering"

Study

Background: Both medicine and agriculture are in constant search of new selective molecules, with fewer side effects on humans and/or on the environment. Bioactive peptides meet these requirements thanks to their three-dimensional structure - which makes them highly target-specific - and their biodegradability. Animal-produced venoms are a diverse source of bioactive peptides and some are already present on the market: PRIALT® (ziconotide) (marine cones) or Spear-T (spider). Using the venomous method, the BTSB team has identified about 100 potentially bioactive peptides extracted from several different species. Some have already been identified as immunomodulators or insulinotropic, whereas preliminary activity tests have shown that others have a neuromodulatory or insecticide effect.

Currently, in vitro tests are available but in vivo approaches are more difficult to implement (complexity of the nervous systems (NS), ethical rules). Already used as a model for regeneration (McConnell, Jacobson et al. 1959, Newmark, Wang et al. 2008, Oviedo, Nicolas et al. 2008, Salo and Agata 2012, Ross, Currie et al. 2017), planarian emerges as a simplified model for NS study (Buttarelli, Pellicano et al. 2008, Blackiston, Shomrat et al. 2015, Hagstrom, Cochet-Escartin et al. 2015, Monjo and Romero 2015, Hagstrom, Cochet-Escartin et al. 2016, Ross, Currie et al. 2017), which has most of the NS characteristics of complex vertebrates and invertebrates (Ribeiro, Vollaire et al. 2005, Buttarelli, Pellicano et al. 2008, Nishimura, Kitamura et al. 2008, Monjo and Romero 2015, Ross, Currie et al. 2017) and where the nociception mechanism is preserved (McConnell, Jacobson et al. 1959). They are endemic invertebrate organisms, easy to collect locally, breed in controlled conditions, and which are not subject to regulation in terms of animal experimentation.

Objectives: The objective of this thesis is to improve our knowledge of planarian, as an in vivo study model, in order to accurately assess and understand bioactive peptides effects of on nervous system signaling pathways that could lead to toxic effects (Casida and Durkin 2013) or pain modulation. The peptides will be selected on the basis of their known effects or according to the similarity of their sequence compared to identified peptides. The thesis project will combine behavioral approaches with cellular (marking, neurophysiology) and molecular (RNAi, gene expression) approaches. The validation phase of the tests will be carried out on molecules with neurological targets and known modes of action (neonicotinoids, painkillers and myorelaxant).

Method: In the context of an industrial enhancement of bioactive peptides, understanding precisely their mechanisms of action and impacts is essential. The effect of molecules with known cellular and physiological targets (pesticides or drugs) will be used as a reference for comparing and measuring the cytotoxicity of selected neuropeptides.

In this thesis, the priority is to develop an in vivo test of simple functional and high-speed screening to quickly reveal the effect of these peptides on the NS. The PhD is constructed on two main tasks; task 1 consists in developing, from reference molecules, methods to reveal disturbances in the functioning of the planarian nervous system. These methods will be based on the reference tools from the literature and/or those developed in the laboratory. During this phase, neuroactive peptides will also be selected. Task 2 will then consist in assessing the effects on NS of pre-selected peptides by mobilizing all the techniques developed during Task 1.

The candidate will need to practice neurophysiology technics, planarian breeding, cellular imaging, behavioral tests, physiological and molecular analyses (e.g. survival, transcriptomics, etc.), toxicity tests, etc.

Introducing establishment and reception lab

"Biochemistry and Toxicology of Bioactive Substances" is a multi-member team based at INU Champollion in Albi (Tarn, France)

Founded in 2015, INU Champollion is a public institution of higher education and research based in Albi in France

The scientific objectives of the BTSB team are to think about and propose tools concerning the emergence of resistance phenomena in human medicine, veterinary, agronomy and the impact of bioactive substances (drugs, phytosanitary) on the environment. The team conducts multidisciplinary research based on the use of terrestrial (ants, flies) and aquatic (snail and planarian) species. The team's skills cover biochemistry, cellular and molecular biology, ecotoxicology, physiology and behavior: this great diversity is a real asset for multidisciplinary projects.

Website: <https://btsb-albi.fr/>

PhD Supervisors: Elsa Bonnafé (BTSB, INUC Albi) and Caroline Vignet (BTSB, INUC Albi)

Skills : Training in cellular and molecular neurophysiology are needed. Knowledge in ethology will be appreciated as well as an experience with invertebrate models (breeding, (eco)toxicity testing). Data processing skills are essential.

Contacts : Elsa Bonnafé and Caroline Vignet
elsa.bonnafe@univ-jfc.fr and caroline.vignet@univ-jfc.fr

To apply: Please submit your file by August 31, 2020 with the following 3:
(i) cover letter, (ii) letters of recommendation (with contact information of reference persons), iii) recorded master's grades.

Information: Doctoral contract on funding "Occitanie Region/ Champollion University" Monthly gross: 1,768 euros/ Monthly net: 1,414 euros

Start of the thesis: December 1st 2020

Bibliography:

- Blackiston, D. J., T. Shomrat and M. Levin (2015). "The stability of memories during brain remodeling: A perspective." Commun Integr Biol **8**(5): e1073424.
- Buttarelli, F. R., C. Pellicano and F. E. Pontieri (2008). "Neuropharmacology and behavior in planarians: translations to mammals." Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol **147**(4): 399-408.
- Casida, J. E. and K. A. Durkin (2013). "Neuroactive Insecticides: Targets, Selectivity, Resistance, and Secondary Effects." **58**(1): 99-117.
- Hagstrom, D., O. Cochet-Escartin and E.-M. S. Collins (2016). "Planarian brain regeneration as a model system for developmental neurotoxicology." Regeneration (Oxford, England) **3**(2): 65-77.
- Hagstrom, D., O. Cochet-Escartin, S. Zhang, C. Khuu and E. M. Collins (2015). "Freshwater Planarians as an Alternative Animal Model for Neurotoxicology." Toxicol Sci **147**(1): 270-285.
- McConnell, J., A. L. Jacobson and D. P. Kimble (1959). "The effects of regeneration upon retention of a conditioned response in the planarian." J Comp Physiol Psychol **52**(1): 1-5.
- Monjo, F. and R. Romero (2015). "Embryonic development of the nervous system in the planarian *Schmidtea polychroa*." Dev Biol **397**(2): 305-319.
- Newmark, P., Y. Wang and T. Chong (2008). Germ Cell Specification and Regeneration in Planarians.
- Nishimura, K., Y. Kitamura, Y. Umesono, K. Takeuchi, K. Takata, T. Taniguchi and K. Agata (2008). "Identification of glutamic acid decarboxylase gene and distribution of GABAergic nervous system in the planarian *Dugesia japonica*." Neuroscience **153**(4): 1103-1114.
- Oviedo, N. J., C. L. Nicolas, D. S. Adams and M. Levin (2008). "Planarians: a versatile and powerful model system for molecular studies of regeneration, adult stem cell regulation, aging, and behavior." CSH Protoc **2008**: pdb.emo101.
- Ribeiro, C. A. O., Y. Voltaire, A. Sanchez-Chardi and H. Roche (2005). "Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France." Aquatic Toxicology **74**(1): 53-69.
- Ross, K. G., K. W. Currie, B. J. Pearson and R. M. Zayas (2017). "Nervous system development and regeneration in freshwater planarians." **6**(3): e266.
- Salo, E. and K. Agata (2012). "Planarian regeneration: a classic topic claiming new attention." Int J Dev Biol **56**(1-3): 3-4.