### Equipe : Dr Stéphane Martin

Encadrants : Dr Patricia Lebrun et Dr Thierry Coppola  **Projet M1/M2**

Coordonnées : 04 93 95 34 62 ; plebrun@ipmc.cnrs.fr coppola@ipmc.cnrs.fr

**Mots clés : Astrocyte, Glutamate, EAAT2, SUMOylation**

Titre : **Rôle de la SUMOylation et du transporteur au glutamate EAAT2 dans le rôle protecteur de l’astrocyte**

Les astrocytes sont des cellules gliales qui remplissent de multiples fonctions bénéfiques pour l’activité neuronale. Ils maintiennent l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique, régulent la réponse inflammatoire et assurent l'homéostasie énergétique indispensable au développement et à la survie des neurones. Dans le cas de certaines pathologies chroniques comme le diabète ou les maladies neurodégénératives, l’inflammation du système nerveux central conduit à une altération majeure de l’activité neuronale, et bien que les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués ne soient pas clairement définis, le dysfonctionnement des astrocytes pourrait jouer un rôle important dans l’évolution de ces pathologies. Nous avons montré au laboratoire qu’en condition de stress inflammatoire, l’expression du transporteur du glutamate EAAT2 dans les astrocytes était augmentée aussi bien en ARNm qu’en protéine. Or, parmi les fonctions protectrices essentielles de l’astrocyte, le maintien de l’homéostasie du glutamate permet à la fois de protéger les neurones du stress cytotoxique et aussi d’assurer une bonne neurotransmission. De plus, nous avons mis en évidence que dans ces mêmes conditions de stress, la SUMOylation des protéines était augmentée. La SUMOylation est une modification post-traductionnelle qui consiste à l’accrochage covalent de la protéine SUMO sur des résidus de Lysine. Cette modification généralement transitoire conduit à une modulation de la localisation cellulaire et de la fonction des protéines cibles. De manière intéressante, la SUMOylation mise en évidence dans nos conditions est au contraire tardive et durable, suggérant la mise en place d’un mécanisme d’adaptation au long court.

**Questions posées** :

* Le stress inflammatoire induit-il la SUMOylation de EAAT2 et quelle est la fonction biologique de cette forme SUMOylée ?
* Le transporteur EAAT2 existant sous plusieurs isoformes, quelles sont celles impactées par un stress inflammatoire et cela change-t-il la proportion de transporteurs à la surface de la cellule ?
* La SUMOylation des protéines en réponse au stress inflammatoire joue-t-elle un rôle bénéfique dans la fonction protectrice des astrocytes ?

**Approches expérimentales** :

* Générer et caractériser des mutations de EAAT2 qui modifient les sites de SUMOylation, le domaine de liaison de PDZ, de clivage par la caspase3 etc, …
* Définir les conditions nécessaires à la SUMOylation des protéines en général et de EAAT2 en particulier.
* Déterminer si la surexpression de mutants de EAAT2 modifie sa distribution subcellulaire et donc la réponse adaptative des astrocytes au stress.

**Techniques** : Ce projet fera appel à des approches de biochimie, de biologie moléculaire et cellulaire (cultures de cellules Hela et d’astrocytes isolés).