

UNITÉ : UR 7294

EQUIPE

Intitulé de l'équipe : DIATHEC
Responsable de l'équipe: Karim Bouzakri
E-mail : k.bouzakri@ceed-diabete.org
Téléphone : 03 90 20 03 32
Site web éventuel : www.ceed-diabete.org

COMPOSITION DE L'ÉQUIPE

Nombre de chercheurs : 5
Nombre de ITA : 8
Nombre de doctorants : 1
Nombre de post-docs : 1
Autres : statutaires 3 dont 1 HDR

CONCERNANT LA THÈSE

Nom du Directeur de thèse : Karim Bouzakri
Mail du Directeur de thèse : k.bouzakri@ceed-diabete.org
Téléphone : 03 90 20 03 32
Thèse en co-encadrement *oui*
Thèse en co-direction *non*
Thèse en co-tutelle *non*

Nombre de thèses en cours pour le Directeur de thèse : 1

En cas de co-direction, co-encadrement ou co-tutelle :
Nom du co-directeur/encadrant : Alexis Forterre
Université du co-directeur/encadrant : Université de Strasbourg, école doctorale des Sciences de la vie
et de la santé
Nombre de thèses en cours pour le co-directeur/encadrant : 0

THÈSE(S) EN COURS POUR LE DIRECTEUR DE THÈSE

Nombre de thèses en cours : 1
Nom : REININGER
Prénom : Laura
Début de la thèse : Octobre 2017
Fin prévisionnelle : Décembre 2020

DOCTEURS ISSUS DE L'ÉQUIPE (durant les 5 dernières années)

Nombre de docteurs issus de l'équipe (max 3) :

Nom du docteur : CHERFAN
Prénom du docteur : Julien
Date de soutenance : Septembre 2019
Situation actuelle : post-doctorat au Danemark retardé à cause du Covid

Nom du docteur : LEMAIRE
Prénom du docteur : Florent
Date de soutenance : Septembre 2019
Situation actuelle : post-doctorat à Montréal retardé à cause du Covid

Nom du docteur : CZUBA
Prénom du docteur : Elodie
Date de soutenance : Septembre 2018
Situation actuelle : Project manager à Nimes

Nom du docteur : SCHASCHKOW
Prénom du docteur : Anais
Date de soutenance : Septembre 2016
Situation actuelle : post-doctorat à Bruxelles

Nom du docteur : RODRIGUEZ
Prénom du docteur : AIDA
Date de soutenance : Avril 2016
Situation actuelle : post-doctorat aux Etats Unis

CONCERNANT LE SUJET PROPOSÉ

Titre: **Régulation de l'expression génique de la myokine X par les ARN non codants**

Projet :

Etat de l'art et travaux en cours au laboratoire

La description de l'axe de communication entre le muscle et le pancréas a été récemment mis en place par notre équipe de recherche. Grâce à un modèle dans lequel les cellules bêta-pancréatiques ont été traitées avec un milieu conditionné préparé à partir myotubes primaires humains, nous avons montré que des facteurs sécrétés par le muscle (myokines) influencent la survie et la fonction des cellules bêta-pancréatiques. Cette interaction dépend du degré de sensibilité à l'insuline du muscle squelettique. Lorsque le muscle répond correctement à l'insuline, ce dernier secrète des myokines qui ont un effet positif sur les cellules bêta-pancréatiques (augmentation de la prolifération et de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose). Néanmoins, si le muscle est résistant à l'insuline, celui-ci secrète d'autres facteurs qui ont un impact néfaste sur les cellules bêta-pancréatique (diminution de la survie et de sécrétion d'insuline). Cette résistance à l'insuline change le profil de sécrétion musculaire qui a son tour à un effet délétère sur le pancréas. Les mécanismes d'action *in vitro* et *in vivo* d'une nouvelle myokine, la myokine X ont été mis en évidence au sein du laboratoire et ont montré les effets bénéfiques de cette dernière sur les cellules bêta-pancréatiques, et les tissus insulino-sensibles.

Au sein du muscle strié squelettique, environ 36% des gènes exprimés peuvent générer des ARN circulaires (ARNcirc). Il est établi que ces ARNcirc peuvent êtres issus des exons, des introns voire de ces deux séquences géniques au cours du processus d'épissage. Ces ARN non codants peuvent entres autres réguler l'expression génique du gène dont ils sont issus, mais également interagir et ainsi empêcher l'action de microARNs (miRNAs) et/ou de protéines (RNA binding Proteins, par exemple) sur les processus de traduction (miRNAs) ou de transcription (RNP). Ces ARNcirc peuvent également être traduites en protéines si elles contiennent des séquences consensus IRES (internal ribosome entry site). Il a été décrit que ces ARN circulaires peuvent réguler la myogenèse, mais également l'activité fonctionnelle des cellules β et l'adipogenèse. Ainsi leurs expressions sont également retrouvées

perturbées lors du développement de maladies métaboliques comme en situation d'insulino-résistance induite par l'obésité ou d'inflammation du tissu adipeux.

Programme scientifique et organisation du projet

Les séquences publiées du gène et des ARNm de la Myokine X ont permis d'établir qu'un même gène pouvait produire différents transcrits et par conséquent isoformes protéiques de tailles variables, en fonction du nombre d'exons épissés. A ce jour, aucune étude n'a déterminé si le gène musculaire de la Myokine X peut produire des ARN circulaires, notamment lors des mécanismes non décrits d'épissages alternatifs. Lors d'études préliminaire nous avons pu mettre en évidence la présence de plusieurs ARNcirc pour notre protéine d'intérêt, la myokine X. Par conséquent, le but de notre projet est de déterminer comment le gène de la Myokine X peut produire des ARN circulaires et la/les régulation(s) fonctionnelle(s) que ces dernières peuvent exercer sur la cellule.

Pour cela, le projet de thèse proposé se concentrera sur l'utilisation de cultures primaires de cellules musculaires striés squelettiques et sera articulé sur 4 points :

- (1) Caractériser les ARN circulaires générés pour la Myokine X et identifier si cette production est dépendant du statut prolifératif ou différencié de la cellule musculaire strié squelettique (collaboration avec Prof. Ana Marques, Lausanne, Suisse).
- (2) Caractériser si le développement de l'insulino-résistance et les mécanismes d'inflammation musculaire modifient la production des ARNcirc identifiés en (1)
- (3) Caractériser les cibles moléculaires (miARNs et protéines) et les mécanismes moléculaires régulés par les ARNcirc (sur l'expression génique de la Myokine X par exemple) afin de déterminer leur(s) impact(s) en situation contrôle et lors du développement du diabète de type 2.
- (4) Déterminer si ces ARNcirc produits par la cellule musculaire peuvent être sécrétés via les vésicules extracellulaires notamment, et agir dans la communication intercellulaire au sein du même tissu voire inter-organes.

Ce projet repose sur des collaborations et des techniques mises en place depuis plusieurs années. Nous avons ainsi accès aux matériels (cellules, biopsies, échantillons sanguin...) et plateformes nécessaires à la bonne conduite de nos expériences.

Compétences souhaitées :

Connaissances des bases théoriques et des techniques expérimentales de biologie moléculaire (extraction ARN, qRT-PCR, séquençage,...), de biologie cellulaire (culture de lignées cellulaires, culture primaire,...), de protéomique (Western Blotting, immunofluorescence,...) et de microscopie.

Compétences rédactionnelles et de présentations orales lors des congrès nationaux et internationaux (Anglais)

Expertises qui seront acquises au cours de la formation :

Ce projet de recherche permettra à l'étudiant d'acquérir un profil multidisciplinaire en biologie cellulaire, moléculaire et physiologie et en protéomique. Il/Elle aura aussi l'opportunité de travailler en

collaboration avec plusieurs laboratoires de renommée internationale et de participer à des congrès nationaux/internationaux ce qui lui permettra de mettre en place un réseau de collaborations.

Mots clé:

Muscle squelettique Myokines, ARN non codants/ARN circulaires, biologies cellulaire/moléculaire, crosstalk interorganes (muscle/pancréas)

PUBLICATIONS MAJEURES DE L'ÉQUIPE RELATIVES AU SUJET AU COURS DES 3 DERNIÈRES ANNÉES. SI NOUVEAU SUJET SANS PUBLICATION, MERCI D'INDIQUER 3 PUBLICATIONS RÉCENTES DU DIRECTEUR DE THESE.

1. A circular RNA generated from an intron of the insulin gene controls insulin secretion, Lisa Stoll, Adriana Rodríguez-Trejo, Claudiane Guay, Flora Brozzi, Mustafa Bilal Bayazit, Sonia Gattesco, Véronique Menoud, Jonathan Sobel, Ana Claudia Marques, Morten Trillingsgaard Venø, Jonathan Lou S. Esguerra, Mohammad Barghouth, Mara Suleiman, Lorella Marselli, Jørgen Kjems, Lena Eliasson, Erik Renström, **Karim Bouzakri**, Michel Pinget, Piero Marchetti, and Romano Regazzi. Nature Communicatoin, *In press*
2. Fasting insulin secretion is controlled by integrin-mediated adhesion and autocrine IGF2-mediated IGF1 receptor-AKT2 signaling in β -cell Caroline Arous1, Maria Luisa Mizgier2, Katharina Rickenbach1, Michel Pinget2, Bernhard Wehrle-Haller1 * and **Karim Bouzakri2** *JBC in Press*
3. Skeletal Muscle-Released Extracellular Vesicles: State of the Art. Rome S, Forterre A, Mizgier ML, **Bouzakri K**. Front Physiol. 2019 Aug 9;10:929. .
4. Lymphocyte-Derived Exosomal MicroRNAs Promote Pancreatic β Cell Death and May Contribute to Type 1 Diabetes Development. Guay C, Kruit JK, Rome S, Menoud V, Mulder NL, Jurdzinski A, Mancarella F, Sebastiani G, Donda A, Gonzalez BJ, Jandus C, **Bouzakri K**, Pinget M, Boitard C, Romero P, Dotta F, Regazzi R. Cell Metab. 2019 Feb 5;29(2):348-361.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2018.09.011.
5. Insights on the Role of Putative Muscle-Derived Factors on Pancreatic Beta Cell Function. Mizgier ML, Fernández-Verdejo R, Cherfan J, Pinget M, **Bouzakri K**, Galgani JE. Front Physiol. 2019 Aug 8;10:1024.
6. Beneficial effects of the novel marine oxygen carrier M101 during cold preservation of rat and human pancreas. Lemaire F, Sigrist S, Delpy E, Cherfan J, Peronet C, Zal F, **Bouzakri K**, Pinget M, Maillard E. J Cell Mol Med. 2019 Dec;23(12):8025-8034.
7. Glycaemic control in diabetic rats treated with islet transplantation using plasma combined with hydroxypropylmethyl cellulose hydrogel. Schaschkow A, Sigrist S, Mura C, Barthes J, Vrana NE, Czuba E, Lemaire F, Neidl R, Dissaux C, Lejay A, Lavalle P, Bruant-Rodier C, **Bouzakri K**, Pinget M, Maillard E. Acta Biomater. 2020 Jan 15;102:259-272
8. Exercise-evoked intramuscular neutrophil-endothelial interactions support muscle performance and GLUT4 translocation: a mouse gnawing model study. Chaweewannakorn C, Nyasha MR, Chen W, Sekiai S, Tsuchiya M, Hagiwara Y, **Bouzakri K**, Sasaki K, Kanzaki M. J Physiol. 2020 Jan;598(1):101-122.

9. Angiogenin and Osteoprotegerin are type II muscle specific myokines protecting pancreatic beta-cells against proinflammatory cytokines. Rutti S, Dusaulcy R, Hansen JS, Howald C, Dermitzakis ET, Pedersen BK, Pinget M, Plomgaard P, **Bouzakri K**. Sci Rep. 2018 Jul 3;8(1):10072.
10. Intra-Omental Islet Transplantation Using h-Omental Matrix Islet filliNG (hOMING). Schaschkow A, Mura C, Pinget M, **Bouzakri K**, Maillard E. J Vis Exp. 2019 Mar 14;(145).
11. Extra-Hepatic Islet Transplantation: Validation of the h-Omental Matrix Islet filliNG (hOMING) Technique on a Rodent Model Using an Alginate Carrier. Schaschkow A, Sigrist S, Mura C, Dissaux C, **Bouzakri K**, Lejay A, Bruant-Rodier C, Pinget M, Maillard E. Cell Transplant. 2018 Aug;27(8):1289-1293.
12. Effect of Human Myotubes-Derived Media on Glucose-Stimulated Insulin Secretion. Mizgier ML, Cataldo LR, Gutierrez J, Santos JL, Casas M, Llanos P, Contreras-Ferrat AE, Moro C, **Bouzakri K**, Galgani JE. J Diabetes Res. 2017;2017:1328573
13. Beta-Cell-Specific Expression of Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase 5 Aggravates High-Fat Diet-Induced Impairment of Islet Insulin Secretion in Mice. **Bouzakri K**, Veyrat-Durebex C, Holterman C, Arous C, Barbieux C, Bosco D, Altirriba J, Alibashe M, Tournier BB, Gunton JE, Mouche S, Bietiger W, Forterre A, Berney T, Pinget M, Christofori G, Kennedy C, Szanto I. Antioxid Redox Signal. 2020 Mar 20;32(9):618-635

CONTRATS DE L'ÉQUIPE

Contrat Privé avec boîte pharmaceutique

Partie à rédiger en anglais :

Title: Regulation of the Myokine X gene expression by non-coding RNAs

Project:

In the laboratory, we are interested in the inter-organs communication, for example between the skeletal muscle and the pancreas among others. We determined that muscle secreted cytokines, termed myokines, can impact pancreatic beta cells survival and biological functions. Such connection is all the more important, when upon insulin, skeletal muscle secrete specific myokines that promote beta cells proliferation and glucose-stimulated insulin secretion. Conversely, the insulin resistant skeletal muscle secrete deletere factors that induce decreased beta cells survival and insulin secretion. We are focused on a specific myokine (named Myokine X) that was found to have benefic impacts both in vitro and in vivo on the pancreatic beta cells and other insulin sensitive tissues.

It has been described that some 36% of the expressed skeletal muscle genes can generate circular RNAs (circRNAs) during the splicing process of RNA transcripts. These non-coding RNAs have been found essential regulators of the gene expression through their interaction with microRNAs (miRNAs) and RNA binding proteins, thus they potentially hamper both transcription and translation processes. In the literature, these circRNAs are found involved during myogenesis, beta cells biological activities and adipogenesis. Additionally, they are found dysregulated during metabolic disorders development, such as obesity-induced insulin resistance and adipose tissue inflammation

Based on the published sequences, the myokine X gene can produce different size -transcripts. To date,

no study determined whether myokine X could produce circular RNAs during the transcripts splicing processes, whose molecular mechanisms are still not determined yet. From preliminary studies, we observed the production of several circRNAs as regards of our molecule of interest. We aim to specifically describe how the Myokine X gene can produce circRNAs and determine their potential regulatory impact. The present described project, based on primary skeletal muscle cultures, includes four major points to be investigated: 1) the skeletal muscle circRNAs characterization; 2) the impact of insulin resistance and inflammation on their production; 3) the circRNAs molecular targets (miRNAs and proteins), potential key factors involved in the type 2 diabetes development; 4) the secretion of these circRNAs within extracellular vesicles and their potential roles in the inter-organs communication.

Wished skills:

Knowledge of theory and experimental technics of molecular biology (RNA extraction, qRT-PCR, sequencing,...) cell biology (cell lines and primary cell culture, ...), proteomics (western blotting, immunostaining,...) and microscopy.

Writing skills and oral fluency in national and international meetings (English).

Expertise which will be acquired during the training:

The research project will train the student to a multidisciplinary profile with skills in cellular, molecular biology but also in physiology and proteomics. S/He will also get the opportunity to work in collaboration with several internationally renowned laboratories and to present his/her work at national and international meetings that will allow him/her to develop his/her scientific network.

Key words: Skeletal muscle/myokines, non-coding RNAs/circRNAs, inter-organs crosstalk.