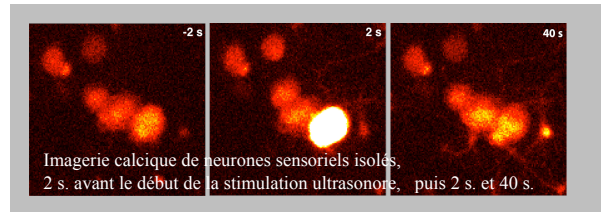


## Proposition de stage Master 2

### Identification des composantes moléculaires impliquées dans la stimulation ultrasonore des neurones sensoriels somatiques

La neurostimulation par ultrasons focalisés est une voie de recherche prometteuse pour stimuler à distance les neurones. Les avantages principaux des ultrasons focalisés seraient de permettre une stimulation ciblée de différentes populations de neurones de façon non-invasive, au contraire de la stimulation électrique standard. Cependant, les mécanismes physiques et moléculaires impliqués dans ce processus ne sont pas bien compris. L'IBDM (Institut de Biologie du Développement de Marseille) et le LMA (Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique) ont récemment démontré grâce à des expériences *in vitro* que les neurones des ganglions dorso-rachidiens (DRG) pouvaient être activés par ultrasons. Le projet de Master 2 a pour objectif de consolider cette preuve de concept et de débiter des expériences de séquençage de l'ARN visant à identifier les gènes codants pour les protéines (canaux ioniques, récepteurs et autres protéines) qui permettent à ces neurones de répondre aux stimulations ultrasonores.

Concernant la consolidation de la preuve de concept, l'étudiant réalisera des expériences *in vitro* sur un dispositif expérimental basé sur l'imagerie calcique afin de suivre les réponses calciques des neurones du DRG soumis à des stimulations ultrasonores. Les neurones répondant aux ultrasons seront co-stimulés par des composés pharmacologiques tels que la capsaïcine (pour les neurones TRPV1+), l'isothiocyanate d'allyle ou AITC (pour les neurones TRPA1+), le menthol (pour les neurones TRPM8+), le sulfate de prégnénolone ou PS (pour les neurones TRPM3+), la chloroquine (pour les neurones MRGPR3+) et le BAM8-22 (pour les neurones MRGPR11+) et plusieurs autres. L'utilisation de la co-stimulation pharmacologique permettra d'identifier le type de neurones des DRG répondant à la stimulation ultrasonore. S'agit-il de neurones nociceptifs, peptidergiques ou non-peptidergiques? S'agit-il de neurones mécano-sensibles à bas seuil ou haut seuil? De neurones répondant aux démangeaisons? Des nocicepteurs silencieux?... Cette approche permettra de recueillir les informations de base sur l'identité moléculaire et fonctionnelle des neurones répondants aux ultrasons.



En parallèle, l'étudiant apprendra à isoler des cellules neuronales en vue d'extraire l'ARN total, et de réaliser des RT-PCR quantitative à court terme et du séquençage à haut débit d'ARN (Single Cell RNA-sequencing) à moyen terme.

Ce projet permettra à l'étudiant de se familiariser avec un large panel d'approches expérimentales dans le domaine des neurosciences :

- 1- Dissection et la préparation des cultures de neurones du DRG
- 2- Imagerie calcique sur neurones en culture
- 3- Préparation d'ARN à partir de cellule unique
- 4- RT-qPCR
- 5- Séquençage à haut débit du contenu en ARN total d'une cellule unique

Ce projet ouvrira de grandes perspectives à long terme et fera l'objet d'une thèse durant laquelle l'étudiant s'intéressera à des questions biologiques importantes en relation avec le système auditif. En effet, ce projet est une collaboration fructueuse entre des physiciens/acousticiens du LMA et des biologistes de l'IBDM. Son objectif principal vise à utiliser la neurostimulation ultrasonore comme méthode alternative à la stimulation électrique pour restaurer l'audition de patients sourds. Par conséquent, tout ce qui va être mis en évidence sur les neurones du DRG, va être transposé sur les neurones du système auditif. En effet, il y a une grande similarité entre ces deux systèmes d'un point de vue moléculaire et ontogénique.

**Profil :** Un étudiant en Master 2 de biologie moléculaire et cellulaire, de neurosciences et/ou de biophysique.

**Contact/Encadrement :** Aziz Moqrich, Directeur de Recherche CNRS (IBDM) [aziz.moqrich@univ-amu.fr](mailto:aziz.moqrich@univ-amu.fr)

Emilie Franceschini, Chargée de Recherche (LMA) [franceschini@lma.cnrs-mrs.fr](mailto:franceschini@lma.cnrs-mrs.fr)