

# Cloé FIXARY-SCHUSTER

Institut de Biologie Valrose, CNRS UMR 7277 - INSERM U1091

Mardi 12 Décembre 2023 à 14h30

Salle Olivier Chesneau – Bâtiment Fizeau – Faculté des Sciences – Nice

## Asymétrie droite-gauche dans le système nerveux de la Drosophile : nouveaux gènes, nouvelles fonctions

### devant le jury composé de :

Maximilian FÜRTHAUER

Myriam ROUSSIGNÉ

François ROUYER

Pauline SPÉDER

François LAPRAZ

Stéphane NOSELLI

Président du Jury

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directeur de Thèse

### Résumé

---

Les asymétries cérébrales droite-gauche (DG) sont largement répandues au sein du règne animal et semblent jouer un rôle essentiel dans certaines fonctions cognitives. Afin de mieux comprendre la latéralisation du cerveau, notre équipe a développé la Drosophile comme nouveau modèle. La Drosophile possède des neurones bilatéraux uniques, les « neurones H », qui projettent de façon asymétrique dans les corps asymétriques (CAs), une paire de neuropiles localisée dans la partie centrale du cerveau. Chez 95% des mouches sauvages, les neurones H projettent de façon unilatérale dans le CA droit (phénotype ASYM) tandis que chez les 5% restants, les neurones H projettent symétriquement dans les deux CAs gauche et droit (phénotype SYM). Récemment, nous avons montré que la mise en place de cette asymétrie de projections dépendait de la voie de guidage axonale Nétrine B (NetB). En effet, les mouches mutantes pour NetB sont toutes symétriques. L'analyse de ces neurones au cours du développement nous a permis de révéler que leurs projections, initialement symétriques devenaient finalement asymétriques au cours du stade pupal, et que la voie NetB était requise juste avant la brisure de symétrie. L'un des résultats clés de notre premier article est d'avoir montré que le ligand NetB a une activité unilatérale à droite pour contrôler les projections des neurones H dans le CA droit alors que son récepteur Unc-5 est requis des deux côtés. Pour identifier les mécanismes contrôlant l'activité asymétrique de NetB, j'ai réalisé un crible génétique et caractérisé de nouveaux régulateurs potentiels de NetB. Mon travail de thèse montre le rôle d'un facteur de transcription dont la perte de fonction entraîne une randomisation de l'asymétrie des neurones H, avec l'apparition de cerveaux dits « inversés », c'est-à-dire dont les neurones H projettent dans le CA gauche uniquement. Tout d'abord, j'ai défini que ce gène est requis précocement, au stade larvaire tout comme NetB mais dans des neurones différents. Grâce à des expériences d'épistasie, j'ai également déterminé

que ce facteur de transcription agit en amont de la voie NetB. Pour finir, la suppression ou l'inactivation des neurones dans lesquels le facteur de transcription est requis et exprimé induit une randomisation de l'asymétrie des neurones H avec les mêmes proportions de cerveaux inversés que dans la condition mutante pour ce gène. Ma thèse permet d'étendre notre connaissance sur le réseau de gènes et les mécanismes impliqués dans la brisure de symétrie cérébrale et la latéralisation neuronale chez la Drosophile.

Mots-Clefs: Asymétrie droite-gauche – cerveau – Drosophile – Nétrine B – neurones H

## **Abstract**

---

Left-right (LR) asymmetry of the brain is widespread throughout the animal kingdom and is thought to play an essential role in cognitive functions. To try to get a better understanding of brain laterality, our team developed *Drosophila* as a new model system. *Drosophila*'s "H-neurons" represent a unique, small group of bilateral neurons projecting asymmetrically into the asymmetrical bodies (ABs), a pair of neuropils that are part of the central complex region of the brain. H-neurons project unilaterally into the right AB in 95% of wild-type flies (ASYM phenotype), while the remaining 5% are symmetrical (SYM phenotype), with "H-neurons" projecting in left and right ABs. We recently identified the NetB pathway as being central to establish "H-neurons" asymmetry. In NetB mutants, all flies become symmetrical. Time course analysis during development reveals that projections of the H-neurons are initially symmetrical, eventually resolving into an asymmetrical circuit during pupal stage, and that the NetB pathway is required just prior symmetry breaking. One key finding is that the NetrinB ligand (*NetB*) has a unilateral activity specifically on the right side to control neural projections into the right AB, while the Unc-5 receptor is required bilaterally. To identify the mechanisms controlling the lateralized activity of NetB, I performed genetic screening and characterized new potential NetB regulators. My PhD work shows the role of a single transcription factor whose knockdown leads to randomization of H-neuron projection, including inversion of the brain with H-neurons projecting in the left AB. First, I defined that this gene is required in larval stage as NetB but in completely different neurons. I also determined by epistasis experiments that the transcription factor identified in the screen acts upstream to the NetB pathway. Finally, silencing of the neurons in which the transcription factor is expressed and required, either by their removal or by blocking their ability to communicate leads to randomization of H-neuron projections in the same proportions as mutant condition for the transcription factor. My thesis sheds new light on the gene network and mechanisms involved in *Drosophila* brain symmetry breaking and neuronal lateralization.

Keywords: Left-right asymmetry – brain – *Drosophila* – NetrinB – H-neurons

# Tynhinane HAMIDOUCHE

IRCAN – Institut de Recherche sur le Cancer et le Vieillissement de Nice – CNRS UMR 7284 - INSERM U 1081 – UCA  
– NICE

Lundi 13 Novembre 2023 à 13h30  
Amphi 5 - IRCAN - Nice

## Caractérisation du rôle de la télomérase dans l'homéostasie et la régénération du rein adulte

### devant le jury composé de :

Chloé FÉRAL	Président du Jury
Joost-Peter SCHANSTRA	Rapporteur
Pierre GALICHON	Rapporteur
Anabelle DECOTTIGNIES	Examineur
Luis BATISTA	Examineur
Marina SHKRELI	Directeur de Thèse

### Résumé

---

De plus en plus de preuves mettent en évidence le rôle central des fonctions non-canoniques du composant protéique de la télomérase TERT, qui sont indépendantes de l'allongement des télomères, dans la régulation de l'homéostasie et de la régénération des tissus. Chez la souris adulte, le rein montre une sensibilité élevée à ces fonctions non canoniques, ce qui est évident dans un modèle de surexpression conditionnelle d'une variante TERT catalytiquement inactive (TERTci) qui est incapable d'allonger les séquences télomériques. Dans ce modèle (souris i-TERTci), la surexpression TERTci maintenue perturbe le phénotype quiescent des podocytes, les cellules épithéliales glomérulaires qui supportent la filtration sanguine, conduisant à une progression rapide d'une maladie rénale proliférative ressemblant la glomérulopathie collapsante (GC) observée chez l'homme. Néanmoins, la prolifération massive induite par TERTci dans le rein est réversible puisque l'extinction de l'expression de TERTci entraîne la résurgence de podocytes quiescents et entièrement fonctionnels. Au cours de ma thèse, j'ai cherché à comprendre les fonctions de TERT dans la pathogenèse de la GC et dans le renouvellement des podocytes.

Dans le cadre de ma thèse, j'ai contribué à un projet dans lequel nous avons utilisé des approches génétiques et pharmacologiques pour interférer avec la progression de la GC chez les souris i-TERTci. Nous avons trouvé que l'inhibition de Px, limite efficacement l'initiation et la progression de la GC. De plus, la rémission de la maladie, également observée dans un modèle alternatif de souris de CG (souris Tg26) sur le déficit de Px a été

associée à l'induction d'un phénotype de sénescence partielle dépendant des fonctions cytotatiques de TGF- $\beta$ . Néanmoins, les analyses histologique et transcriptomiques ont montré que l'inhibition de Px ne favorise pas la fibrose rénale ou l'inflammation. Ainsi, le ciblage de Px apparaît comme une approche thérapeutique prometteuse pour les patients atteints de CG.

De plus, en examinant la réponse des podocytes aux lésions, J'ai trouvé de manière inattendue que le programme moléculaire lié au rythme circadien joue un rôle crucial dans la régulation de la capacité des podocytes à faire face au stress.

Par ailleurs, j'ai concentré mes efforts sur l'étude du rôle de la télomérase dans la régulation de la régénération des podocytes. Nos résultats ont démontré que le TERT endogène est nécessaire pour la récupération rénale après une lésion podocytaire, et que la surexpression transitoire de TERT<sup>ci</sup> déclenche la mobilisation de cellules progénitrices qui se développent de manière clonale pour renouveler les podocytes. Le séquençage à haut débit a identifié les voies principales impliquées dans les fonctions pro-régénératrices de TERT dans le rein adulte. Suite à ces résultats, nous avons cherché à caractériser les cellules progénitrices des podocytes. Dans ce but, j'ai effectué une analyse par snRNAseq au cours de la régénération podocytaire induite par TERT<sup>ci</sup>. Mes résultats mettent en évidence la dynamique cellulaire lors de la régénération, et nous avons identifié une sous-population au sein du segment S3 du tubule proximal qui pourrait représenter une source potentielle de progéniteurs des podocytes. Ces résultats représentent une avancée considérable dans la compréhension des mécanismes régulant le maintien des podocytes dans le rein adulte, ouvrant la voie au développement de stratégies thérapeutiques innovantes visant à stimuler la régénération des podocytes dans des contextes pathologiques.

Mots Clefs : Télomérase, Rein, Podocyte, Glomérulopathie Collapsante, Px, Néphropathie d'Adriamycine, Rythme circadien, Régénération, Cellules progénitrices.

## Abstract

---

Mounting evidence highlight the central role of non-canonical functions of the protein component of telomerase TERT, which are independent of telomere lengthening, in regulating tissue homeostasis and regeneration. In adult mice, the kidney displays a high sensitivity to these non-canonical functions, which is evident in a model of conditional overexpression of a catalytically inactive TERT variant (TERT<sup>ci</sup>) that is unable to elongate the telomere sequences. In this model (i-TERT<sup>ci</sup> mice), maintained TERT<sup>ci</sup> overexpression disturb the quiescent phenotype of podocytes, the glomerular epithelial cells that support blood filtration, resulting in rapid progression of a proliferative kidney disease resembling that seen in humans with collapsing glomerulopathy (CG). Nonetheless, TERT<sup>ci</sup>-induced massive proliferation within the kidney appears to be reversible since withdrawal of transgenic TERT<sup>ci</sup> is followed by the resurgence of quiescent and fully functional podocytes. During my thesis, I sought to understand the functions of TERT in CG pathogenesis and in podocyte renewal.

In the frame of my thesis, I contributed to a project in which we used genetic and pharmacologic approaches to interfere with CG progression in i-TERT<sup>ci</sup> mice. We found that inhibition of Px, efficiently restrains CG initiation and progression. Disease remission, also observed in an alternative mouse model of CG (Tg26 mice) upon Px deficiency, was associated to the induction of a senescence-like program and required cytosstatic functions of TGF- $\beta$  signaling. Nonetheless, histological examination as well as bulk RNA sequencing profiling showed that Px inhibition does not promote kidney fibrosis or inflammation. Thus, targeting Px emerges as a promising therapeutic approach for patients with CG.

Furthermore, while working on the response of podocytes to injury, I unexpectedly found that the molecular program related to the circadian rhythm plays a crucial role in regulating the ability of podocytes to cope with stress.

Besides, I focused my efforts on the study of the role of telomerase in regulating podocyte regeneration. Our results demonstrated that endogenous TERT is required for kidney recovery after podocyte injury, and that

transient TERT<sup>ci</sup> overexpression triggers the mobilization of progenitor cells that expand in a clonal manner to repopulate the podocyte layer. High throughput sequencing further identified core pathways involved in TERT pro-regenerative functions in the adult kidney. Following these results, we aimed to characterize podocyte progenitor cells. To that goal, I performed a single-nuclei RNA-seq analysis upon TERT<sup>ci</sup>-induced podocyte regeneration. My results highlight the cellular dynamics upon regeneration, and we identified a subpopulation within the S3 segment of the proximal tubule that could represent a potential source for podocyte progenitors. These findings represent a considerable advance in understanding the mechanisms regulating podocyte maintenance in the adult kidney, paving the way for the development of innovative therapeutic strategies aimed at stimulating podocyte regeneration in pathological contexts.

Keywords: Telomerase, Kidney, Podocyte, Collapsing Glomerulopathy, Px, Adriamycin nephropathy, Circadian rhythm, Regeneration, Progenitor cells.