



L'annuaire du Collège de France

Cours et travaux

112 | 2013

Annuaire du Collège de France 2011-2012

Régulation moléculaire de la synaptogenèse chez la souris

UMR 7241 - U 1050 (CIRB)

Fekrije Selimi



Édition électronique

URL : <https://journals.openedition.org/annuaire-cdf/1090>

DOI : 10.4000/annuaire-cdf.1090

ISBN : 978-2-7226-0325-7

ISSN : 2109-9227

Éditeur

Collège de France

Édition imprimée

Date de publication : 1 avril 2013

Pagination : 896-899

ISBN : 978-2-7226-0198-7

ISSN : 0069-5580

Référence électronique

Fekrije Selimi, « Régulation moléculaire de la synaptogenèse chez la souris », *L'annuaire du Collège de France* [En ligne], 112 | 2013, mis en ligne le 22 novembre 2013, consulté le 20 mai 2021. URL : <http://journals.openedition.org/annuaire-cdf/1090> ; DOI : <https://doi.org/10.4000/annuaire-cdf.1090>

Collège de France

Régulation moléculaire de la synaptogenèse chez la souris UMR 7241 - U 1050 (CIRB)

Responsable : Fekrije SELIMI

RECHERCHE

Les dysfonctionnements caractéristiques des patients atteints par des maladies neuropsychiatriques telles la schizophrénie, l'autisme ou le syndrome de Rett ne sont pas dus à des pertes massives de neurones, mais à un mauvais fonctionnement des circuits neuronaux. Les patients atteints de schizophrénie présentent des défauts de transmission synaptique, des activations de circuits aberrantes et une diminution de la densité des épines dendritiques, sites de la formation de synapses [1]. Par ailleurs, une analyse de patients autistiques a identifié des mutations dans les gènes codant neuroligin-3 et neuroligin-4 [2]. Les neuroligins sont des protéines localisées au niveau des synapses et semblent être impliquées dans leur formation, ce qui pointe à nouveau vers un problème au niveau des connexions neuronales dans l'autisme. Il semblerait donc que ces maladies neuropsychiatriques soient des conséquences d'un déficit de formation ou de raffinement des connexions neuronales.

Le bon fonctionnement du cerveau adulte nécessite la formation et le maintien de synapses fonctionnelles et spécifiques entre des types de neurones très variés. Dans le système olivo-cérébelleux, la cellule de Purkinje (CP) reçoit principalement deux afférences excitatrices : l'une provient des grains *via* les fibres parallèles (FP) et l'autre provient des neurones olivaires *via* les fibres grimpantes (FG). La CP reçoit également deux types d'afférences inhibitrices : l'une des cellules étoilées et l'autre des cellules en panier. Chacune de ces synapses est localisée sur des territoires séparés de la CP. Le système olivo-cérébelleux peut être étudié au niveau à la fois morphologique, électrophysiologique et comportemental. Il est donc un système d'étude idéal pour analyser les mécanismes moléculaires menant à l'établissement de réseaux neuronaux fonctionnels.

La formation de synapses spécifiques est régulée grâce à des protéines de reconnaissance, qui formeraient un « code synaptique » dont la composition précise reste encore inconnue. Notre projet est de caractériser ce code synaptique pour chaque type de synapses localisées sur la cellule de Purkinje afin de mettre en évidence les mécanismes permettant la formation de synapses spécifiques.

Synapse fibre parallèle/cellule de Purkinje (FP/CP) : nouvelles voies de signalisation

Mise en place de la stratégie Syprot

Nous avons mis au point une nouvelle approche permettant l'identification des protéines présentes dans une synapse donnée d'un type neuronal précis : la stratégie Syprot. Cette approche combine les techniques de transgénèse et de biochimie et l'analyse par spectrométrie de masse. Nous produisons des souris transgéniques exprimant des récepteurs spécifiques de certaines synapses fusionnés à la protéine fluorescente verte (GFP). Ces récepteurs sont exprimés dans un type neuronal précis

dans les souris transgéniques grâce à la technique de modification des chromosomes artificiels de bactérie fortement développée dans le laboratoire du Pr. Heintz [3]. Un anticorps anti-GFP est ensuite utilisé pour immunopurifier les densités post-synaptiques contenant ces récepteurs tagués. Une étude par spectrométrie de masse nous permet d'analyser la composition protéique de ces synapses spécifiques.

Une première étude a permis l'identification d'environ 60 protéines localisées spécifiquement à la synapse fibre parallèle/cellule de Purkinje (FP/CP). Les résultats obtenus confirment la diversité des protéines pouvant participer au « code synaptique » définissant la synapse FP/CP [4]. Par ailleurs, de nombreuses protéines liées au métabolisme des phospholipides ont été mises en évidence par cette analyse, dont certaines ont fait l'objet d'études fonctionnelles. Une deuxième étude a montré que cette technique peut effectivement être étendue à l'étude de divers types de synapses. Elle a ainsi permis l'identification des protéines présentes aux synapses inhibitrices du cortex [5].

Étude d'une nouvelle voie de signalisation synaptique : les récepteurs BAI3

Notre étude a montré la localisation à la synapse FP/CP d'une nouvelle classe de récepteurs couplés aux protéines G, les récepteurs BAI (*Brain Angiogenesis Inhibitor*). Ces récepteurs sont des candidats potentiels comme molécules de reconnaissance pour la formation de la synapse FP/CP, puisque leur domaine extracellulaire contient des répétitions thrombospondines, domaine présent dans de nombreuses molécules d'adhésion. Ces récepteurs ont très peu été étudiés dans le système nerveux central, malgré leur fort taux d'expression dans ce tissu.

Nous combinons plusieurs approches pour analyser la localisation, le rôle et la voie de signalisation du récepteur BAI3 dans le système nerveux central. Nos études ont montré que le récepteur BAI3 est localisé dans les structures riches en actine dans les neurones, en particulier les dendrites et les épines dendritiques. En utilisant une stratégie de surexpression et d'ARN-interférence, nous avons également montré que le récepteur BAI3 joue un rôle dans le contrôle de la morphogenèse de l'arborisation dendritique, en particulier *via* son interaction avec ELMO1, une protéine régulant l'activité de la petite GTPase Rac1 et du cytosquelette d'actine. Afin d'étudier le rôle des récepteurs BAI3 *in vivo*, en particulier dans la synapse FP/CP, nous avons généré une lignée de souris transgénique exprimant, spécifiquement dans les cellules de Purkinje grâce au promoteur L7/*pcp2*, une forme « dominante-négative » de la protéine BAI3 fusionnée avec un marqueur fluorescent. En parallèle, nous réalisons une inhibition de l'expression de BAI3 par ARN-interférence dans les cellules de Purkinje *in vivo*. L'étude morphologique et physiologique de ces perturbations nous permettra de confirmer le rôle de BAI3 dans le développement des réseaux neuronaux chez la souris.

Étude de la synapse fibre grimpante/cellule de Purkinje (FG/CP)

Les cellules de Purkinje (CP) reçoivent deux types d'afférences excitatrices, l'une des cellules en grains *via* les fibres parallèles (FP/CP) et l'autre des neurones olivaires (ION), *via* les fibres grimpantes (FG/CP). Ces deux synapses excitatrices sont clairement différentes au niveau physiologique, mais aussi au niveau de leur localisation subcellulaire. Notre but est d'appliquer la stratégie Syprot à l'étude de

la synapse FG/CP, pour identifier sa composition protéique et la comparer à celle de la synapse FP/CP déjà identifiée [4]. Cette comparaison nous permettra de répondre à une question essentielle : quelles sont les différences moléculaires entre deux types de synapses excitatrices établies sur le même neurone-cible, et qui sous-tendent donc la spécificité synaptique ?

Pour appliquer la stratégie Syprot aux synapses FG/CP, nous avons besoin d'identifier une protéine localisée spécifiquement dans cette synapse, et absente des synapses fibres parallèles/cellule de Purkinje. Ce type de protéines est jusqu'à présent inconnu.

Nous proposons d'identifier des couples ligand/récepteur spécifiques de la synapse FG/CP en comparant le transcriptôme de chaque partenaire dans ce réseau neuronal (cellules de Purkinje *versus* cellules en grains *versus* neurones de l'olive inférieure) grâce à la technique du bacTRAP récemment développée dans le laboratoire de Nathaniel Heintz (Rockefeller University, États-Unis). La stratégie du bacTRAP a été utilisée pour l'étude du transcriptôme d'environ 30 populations neuronales différentes, y compris les cellules de Purkinje et les cellules en grains [6]. Il ne nous reste donc qu'à identifier le transcriptôme du dernier partenaire du réseau : les neurones de l'olive inférieure.

Nous avons utilisé deux modèles de souris bacTRAP : l'un provenant du laboratoire du Pr. Heintz, l'autre plus spécifique des neurones olivaires générés par notre équipe. En comparant les données obtenues sur le transcriptôme des neurones olivaires avec celles obtenues par le groupe de Nathaniel Heintz sur le transcriptôme des cellules de Purkinje, nous identifions des couples ligand/récepteur probablement localisés dans la synapse FG/CP. Une seconde comparaison du transcriptôme des ION avec celui des cellules en grains nous permet ensuite d'exclure les couples ligand/récepteur communs aux deux synapses et de sélectionner ceux qui sont spécifiques pour les synapses fibre grimpeuse/cellule de Purkinje. Les caractéristiques des candidats avec un bon potentiel comme marqueur des synapses fibre grimpeuse/cellule de Purkinje sont les suivantes : forte expression dans les ION, pas d'expression dans les cellules en grains (= spécificité potentielle pour les synapses FG/CP), présence de domaines transmembranaires. Cette analyse nous a permis d'identifier environ 500 gènes codant pour des protéines membranaires spécifiques des neurones olivaires. Nous sommes en phase de sélection pour identifier le marqueur adéquat pour appliquer la stratégie Syprot à la synapse fibre grimpeuse/cellule de Purkinje.

Références

- [1] Bennett M.R., « Schizophrenia: susceptibility genes, dendritic-spine pathology and gray matter loss », *Prog. Neurobiol.*, 95, 2011, 275-300.
- [2] Jamain S. *et al.*, « Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism », *Nat. Genet.*, 34, 2003, 27-29.
- [3] Gong S. *et al.*, « A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes », *Nature*, 425, 2003, 917-925.
- [4] Selimi F., Cristea I.M., Heller E., Chait B.T., Heintz N., « Proteomic studies of a single CNS synapse type: the parallel fiber/purkinje cell synapse », *PLoS Biol.*, 7, 2009, e83.
- [5] Heller E.A. *et al.*, « The biochemical anatomy of cortical inhibitory synapses », *PLoS One*, 7, 2012, e39572.
- [6] Doyle J.P. *et al.*, « Application of a translational profiling approach for the comparative analysis of CNS cell types », *Cell*, 135, 2008, 749-762.

PUBLICATIONS

Heller E.A., Zhang W., Selimi F., Earnheart J.C., Slimak M.A., Santos-Torres J., Ibañez-Tallon I., Aoki C., Chait B.T. & Heintz N., « The biochemical anatomy of cortical inhibitory synapses », *PLoS One*, 7(6), 2012, e39572.

Selimi F., Cristea I.M., Heller E., Chait B.T. & Heintz N., « Proteomic studies of a single CNS synapse type: specific regulatory components of the parallel fiber/Purkinje cell synapse », *PLoS Biol.*, 7(4), 2009, e83.

Divisions asymétriques ovocytaires (CIRB)

Responsable : Marie-Hélène VERLHAC

RECHERCHE

Les ovocytes de métazoaires subissent deux divisions successives, asymétriques par la taille des cellules filles engendrées, donnant naissance à une très grosse cellule germinale, l'ovocyte et deux petits globules polaires. Ceci assure le maintien des réserves maternelles, indispensable au développement embryonnaire. L'asymétrie des divisions méiotiques de l'ovocyte de souris repose sur la formation d'un fuseau de division en absence de centrosomes canoniques et son positionnement au cortex de la cellule, qui dépend principalement des microfilaments d'actine (Dumont, 2007a ; Azoury 2008). Comment s'assemblent les fuseaux méiotiques en absence de centrosomes canoniques ? Comment les forces de tension aux kinétochores des chromosomes sont-elles transmises en l'absence de pôles robustes ancrés dans le cortex cellulaire ? Quelles sont les modalités de mise en place des différents réseaux d'actine contrôlant le positionnement ?

1) Le fort taux d'erreurs en méiose I lié à une faiblesse du point de contrôle du fuseau !

En mitose, les fuseaux de division s'organisent par la voie des centrosomes et la voie des chromosomes. En méiose, la voie des chromosomes est importante mais, d'une manière inattendue, elle n'implique pas le gradient de RanGTP (Dumont, 2007b ; Brunet, 2008). Les erreurs d'organisation des fuseaux méiotiques induisent des aneuploïdies à l'origine de maladies génétiques, de nombreux cancers, voire totalement incompatibles avec le développement embryonnaire. La méiose I chez l'homme est réputée pour avoir un taux d'erreur de ségrégation des chromosomes très élevée, sans que l'on en connaisse les raisons. Ce fort taux d'aneuploïdies est à l'origine de nombreuses trisomies, notamment chez les femmes âgées de plus de 35 ans. La formation ainsi que les mécanismes de positionnement originaux des fuseaux acentriolaires méiotiques soulèvent la question fondamentale de la transmission