L'annuaire du Collège de France
Cours et travaux

114 | 2015
Annuaire du Collège de France 2013-2014

Régulation moléculaire de la synaptogenèse chez la souris

CIRB UMR 7241-U1050

Fekrije Selimi

Édition électronique
URL : https://journals.openedition.org/annuaire-cdf/12070
DOI : 10.4000/annuaire-cdf.12070
ISBN : 978-2-7226-0448-3
ISSN : 2109-9227

Éditeur
Collège de France

Édition imprimée
Date de publication : 1 juillet 2015
Pagination : 1022-1024
ISBN : 978-2-7226-0414-8
ISSN : 0069-5580

Référence électronique
Fekrije Selimi, « Régulation moléculaire de la synaptogenèse chez la souris », *L'annuaire du Collège de France* [En ligne], 114 | 2015, mis en ligne le 23 mai 2016, consulté le 22 août 2022. URL : http://journals.openedition.org/annuaire-cdf/12070 ; DOI : https://doi.org/10.4000/annuaire-cdf.12070

Tous droits réservés

Régulation moléculaire de la synaptogenèse chez la souris (CIRB UMR 7241-U1050)

Responsable : Fekrije SELIMI

RECHERCHE

Les dysfonctionnements caractéristiques des patients atteints par des maladies neuropsychiatriques comme la schizophrénie, l'autisme ou le syndrome de Rett ne sont pas dus à des pertes massives de neurones, mais à un mauvais développement des circuits neuronaux. En effet, 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 à la fois au niveau 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 spécifiques 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 spécifiquement à une synapse donnée dans un type neuronal précis : la stratégie Syprot. Cette approche combine les techniques de transgenèse et de biochimie et l'analyse par spectrométrie de masse. 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 [3]. 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 [4].

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 à la synapse FP/CP, nous avons généré une lignée de souris transgénique exprimant une forme « dominante-négative » de la protéine BAI3 fusionnée avec un marqueur fluorescent, spécifiquement dans les cellules de Purkinje grâce au promoteur L7/pcp2. En parallèle, nous avons également utilisé une approche d'ARN interférence pour inhiber l'expression de BAI3 dans les cellules de Purkinje *in vivo*. Ces deux modèles nous ont permis de montrer l'importance de la protéine BAI3 dans la régulation de la morphogenèse neuronale in vivo [5]. De nouvelles données du laboratoire montrent également un rôle essentiel de la protéine BAI3 dans la régulation de la synaptogenèse des cellules de Purkinje (Sigoillot *et al*., en révision). Ainsi, la famille des récepteurs BAI pourrait coordonner deux processus importants pour le développement neuronal : la dendritogenèse et la synaptogenèse, expliquant ainsi leur implication potentielle dans l'étiologie de certaines maladies psychiatriques comme la schizophrénie.

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 [3]. 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 donc sous-tendent la spécificité synaptique ?

Pour appliquer la stratégie Syprot aux synapses FG/CP, nous avons besoin d'identifier une protéine localisée spécifiquement à 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 transcriptome 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. Cette technique a été utilisée pour l'étude du transcriptome d'environ 30 populations neuronales différentes, y compris

les cellules de Purkinje et les cellules en grains [6]. Grâce à deux modèles de souris bacTRAP, l'un provenant du laboratoire du Pr. Heintz, l'autre plus spécifique des neurones olivaires généré par notre équipe, nous avons identifié le transcriptome des neurones olivaires. La comparaison du transcriptome des ION avec celui des cellules en grains a révélé des caractéristiques intéressantes de chacune de ces afférences des CPS : les grains expriment de nombreuses protéines nucléaires différentes à un niveau élevé, alors que les ION expriment de nombreuses protéines membranaires différentes. En particulier, une proportion importante de protéines fortement exprimées dans les ION sont liées au système immunitaire. Des expériences en cours suggèrent un rôle de certaines de ces protéines dans la formation du réseau olivo-cérébelleux. L'analyse en cours va nous permettre enfin d'exclure les couples ligand/récepteur communs aux deux synapses et de sélectionner ceux qui sont spécifiques des synapses fibre grimpante / cellule de Purkinje. Les caractéristiques des candidats avec un bon potentiel comme marqueur des synapses fibre grimpante / 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.

Références : [1] M.R. Bennett, Schizophrenia: susceptibility genes, dendritic-spine pathology and gray matter loss, *Prog. Neurobiol.,* **95**, 275-300 (2011) ; [2] S. Jamain *et al.*, Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism, *Nat. Genet.,* **34**, 27-29 (2003) ; [3] F. Selimi, I.M. Cristea, E. Heller, B.T. Chait, N. Heintz, Proteomic studies of a single CNS synapse type: the parallel fiber/purkinje cell synapse, *PLoS Biol.,* **7**, e83 (2009) ; [4] E.A. Heller *et al.*, The biochemical anatomy of cortical inhibitory synapses, *PLoS one,* **7**, e39572 (2012) ; [5] V. Lanoue *et al.*, The adhesion-GPCR BAI3, a gene linked to psychiatric disorders, regulates dendrite morphogenesis in neurons, *Mol. Psychiatry* (2013) ; [6] J.P. Doyle *et al.*, Application of a translational profiling approach for the comparative analysis of CNS cell types, *Cell,* **135**, 749-762 (2008).

PUBLICATIONS

PROVILLE R.D., SPOLIDORO M., GUYON N., DUGUÉ G.P., SELIMI F., ISOPE P., POPA D. et LÉNA C., « Cerebellum involvement in cortical sensorimotor circuits for the control of voluntary movements », *Nature Neuroscience*, 17(9), 2014, 1233-1239, DOI : 10.1038/nn.3773.

CHAUMONT J., GUYON N., VALERA A.M., DUGUÉ G.P., POPA D., MARCAGGI P., GAUTHERON V., REIBEL-FOISSET S., DIEUDONNÉ S., STEPHAN A., BARROT M., CASSEL J.-C., DUPONT J.-L., DOUSSAU F., POULAIN B., SELIMI F., LÉNA C. et ISOPE P., « Clusters of cerebellar Purkinje cells control their afferent climbing fiber discharge », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(40), 2013, 16223-16228, DOI : 10.1073/pnas.1302310110.

LANOUE V., USARDI A., SIGOILLOT S.M., TALLEUR M., IYER K., MARIANI J., ISOPE P., VODJDANI G., HEINTZ N. et SELIMI F., « The adhesion-GPCR BAI3, a gene linked to psychiatric disorders, regulates dendrite morphogenesis in neurons », *Molecular Psychiatry*, 18(8), 2013, 943-950, DOI : 10.1038/mp.2013.46.