



HAL
open science

Etudes des mécanismes de la consolidation de la mémoire dépendante de l'hippocampe

Cédric Florian

► **To cite this version:**

Cédric Florian. Etudes des mécanismes de la consolidation de la mémoire dépendante de l'hippocampe. Neurosciences. Université Paul Sabatier (Toulouse 3), 2024. tel-04793016

HAL Id: tel-04793016

<https://hal.science/tel-04793016v1>

Submitted on 20 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Mémoire rédigé en vue de l'obtention de

L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Ecole Doctorale Biologie-Santé-Biotechnologies de Toulouse

Présentée par

Cédrick FLORIAN

Sous le marrainage de Claire RAMPON

Etudes des mécanismes de la consolidation de la mémoire dépendante de l'hippocampe

Soutenue le 07 juin 2024

Membres du Jury

Olivier NICOLE	CR, CNRS, Université de Bordeaux	Rapporteur
Roseline POIRIER	MCU, Université Paris-Saclay	Rapporteuse
Sophie TRONEL	CR, CNRS, Université de Bordeaux	Rapporteuse
Daniel DUNIA	DR, INSERM, Université Toulouse 3	Examineur
Guillaume ISABEL	Professeur, Université Toulouse 3	Président
Claire RAMPON	DR, CNRS, Université Toulouse 3	Marraine

TABLE DES MATIERES

Partie 1 : CURRICULUM VITAE

1. Parcours académique.....	page 5
2. Parcours professionnel.....	page 5
3. Activités d'enseignements.....	page 6
4. Responsabilités pédagogiques.....	page 10
5. Responsabilités d'encadrements.....	page 10
6. Responsabilités scientifiques.....	page 12
7. Autres activités scientifiques.....	page 12
8. Conférences invitées dans les congrès nationaux et internationaux.....	page 13
9. Séminaires invitées et communications orales.....	page 13
10. Bourses et financements de recherche.....	page 14
11. Conférences ou interventions grand public.....	page 14
12. Publications dans des revues à comité de lecture.....	page 14

Partie 2 : TRAVAUX DE RECHERCHE DOCTORAL ET POST-DOCTORAL

1. Travaux de Thèse (période 2001-2005)

1.1. Etude de la région CA3 de l'hippocampe dorsal dans la mémoire spatiale.....	page 19
1.2. Etude des mécanismes moléculaires de la consolidation de la mémoire spatiale dans la région CA3 de l'hippocampe dorsal.....	page 21
1.2.1. le facteur de transcription CREB.....	page 21
1.2.2. les protéines PSA-NCAMs.....	page 22

2. Travaux de recherche post-doctoral (période 2005-2010)

2.1. Etude du système adénoenergique astrocytaire dans la formation d'une mémoire dépendante de l'hippocampe.....	page 23
2.2. Etude des récepteurs nicotiques de type $\alpha 4\beta 2$ dans la formation de la mémoire dépendante de l'hippocampe.....	page 27
2.3. Etude des HDACs de classe I dans la consolidation de la mémoire dépendante de l'hippocampe.....	page 30

3. Travaux de recherche post-doctoral (période 2010-2011)

Partie 3 : TRAVAUX DE RECHERCHE DEPUIS MON RECRUTEMENT

1.1 Etude des mécanismes épigénétiques dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire chez la souris adulte.....	page 35
1.2 Etude du complexe corépresseur transcriptionnel SIN3A dans la mémoire à long terme chez la souris adulte.....	page 39
1.3 Mise en place d'un nouveau modèle murin pour l'étude du rôle du corépresseur transcriptionnel SIN3A dans la mémoire à long terme chez la souris adulte et âgée.....	page 42
1.4 Etude du circuit neuroanatomique sous-tendant la réponse comportementale de peur innée chez la souris adulte et âgée.....	page 44
1.5 Etude du rôle du complexe de corépression transcriptionnelle REST dans l'apparition des déficits de mémoire liés à la maladie d'Alzheimer.....	page49
1.6 Perspectives et réflexion sur la « mémoire transcriptionnelle ».....	page 54
1.7 Projets annexes.....	page57

Partie 4 : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CURRICULUM VITÆ

Cédric FLORIAN

Né le 23 septembre 1975 à Tonneins (47)

Maître de Conférences (CN, échelon 8), Université Paul Sabatier, Toulouse III

Adresse professionnelle :

Centre de Recherches sur la Cognition Animale - CNRS UMR 5169

Centre de Biologie Intégrative (CBI)

Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne

31062 Toulouse cedex 9

Email : cedrick.florian@univ-tlse3.fr Téléphone : 05 61 55 65 69

Site internet groupe : <http://cbi-toulouse.fr/eng/equipe-rampon>

Mots-clés projets de recherche: Neurosciences, Comportement, Apprentissage & Mémoire, Epigénétique, Souris

Bibliométrie

H-index (Google Scholar, mars 2024): 18

Nombre total de citations : 2135 pour 21 articles

Articles les plus cités : 881 fois (Halassa et al, Neuron 2009),
211 fois (Florian et al, J Neurosci. 2011)

1. Parcours académique

- 1999 **Licence de Biologie Cellulaire et Physiologie**, Université de Bordeaux I et II
- 2000 **Maitrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, option neurosciences intégratives**, Université de Bordeaux I
- 2001 **DEA Neurosciences, Comportement, Cognition**, Université Paul Sabatier, Toulouse III
- 2005 **Thèse de Doctorat en Neurosciences**, Université Paul Sabatier, Toulouse III

2. Parcours professionnel

- 2005-2010 **Stage post-doctorat**, Université de Pennsylvanie, Philadelphie, USA
Département de Biologie. Directeur de recherches : Ted Abel

Sujet de recherche 1 : Etude du rôle du complexe corépresseur transcriptionnel Sin3A et des HDACs dans la consolidation de la mémoire chez la souris

Sujet de recherche 2: Etude du rôle des astrocytes dans les processus de plasticité synaptique neuronale, d'apprentissage et de mémoire, et dans la régulation du sommeil chez la souris (en Collaboration avec Philip G. Haydon, School of Medicine, Tufts University, USA)

Sujet de recherche 3 : Etude des mécanismes et cascades moléculaires qui sous-tendent un effet facilitateur lié à l'action de la Nicotine sur les récepteurs de type $\alpha 4\beta 2$ de l'hippocampe de souris (en collaboration avec Thomas J. Gould, Dept of Psychology, Temple University, USA)

Sujet de recherche 4 : Etude les effets d'une mutation au niveau des récepteurs GABA de type A sur les propriétés de la synaptase et sur la mémorisation spatiale (en collaboration avec Stephen J. Moss, Dept of Neuroscience, Tufts University, USA)

2010-2011 **Stage post-doctorat**, Institut Cochin, INSERM U.1016, Paris
Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104). Directeurs de recherches : Jamel Chelly & Thierry Bienvenu

Sujet de recherche : Etude du gène FoxG1 et MeCP2 dans le syndrome de Rett

Depuis 2011 **Maître de Conférences**, CRCA/CBI – Université Paul Sabatier, Toulouse III

3. Activités d'enseignements (nature et niveaux des enseignements)

Au cours de mon doctorat (2001-2004), j'ai dispensé de travaux dirigés et pratiques au sein de l'Université Paul Sabatier (Toulouse 3) en tant que vacataire d'enseignements.

- **UE de Neurobiologie (Travaux Dirigés, 26 h/an)**

Niveau : Deuxième année de DEUG SVT

- Introduction aux techniques utilisées dans les domaines de la Neurosciences, approches théoriques et expérimentales (8 heures)

- Etude du Système Limbique par une approche anatomique, fonctionnelle et expérimentale. Description de son rôle dans les émotions, les apprentissages et la mémoire (12 heures)

- Etude de l'Hypothalamus, approche anatomique et fonctionnelle et rôle de l'axe Hypothalamo-hypophysaire (8 heures)

- **UE de Neurobiologie (Travaux Dirigés, 20 h/an)**

Niveau : Deuxième année de DEUG de Psychologie

- Introduction aux techniques de l'imagerie cérébrale (4 heures)

- Etude de la chronobiologie (4 heures)

- Rôle du sommeil dans les processus d'apprentissage et de mémorisation (4 heures)

- Etude des bases neurologiques qui sous-tendent les émotions (4 heures)

- **UE de Neurosciences Comportementales (Travaux Dirigés, 72h/an)**

Niveau : Licence de Psychologie

- Enseignements dirigés consacrés aux différents types d'apprentissages (associatif et non associatif) et formes de mémoires (travail, références, spatiale, ...) chez le rongeur. Introduction à l'utilisation de dispositifs (Y-maze, Morris maze, Radial maze, Fear conditioning, ...) et protocoles expérimentaux.

- **UE de Neurosciences Comportementales (Travaux Dirigés, 42h/an)**

Niveau : Licence de Psychologie (Service d'Enseignement à Distance)

- Enseignements dirigés consacrés aux différents types d'apprentissages (associatif et non associatif) et formes de mémoires (travail, références, spatiale, ...) chez le rongeur. Introduction à l'utilisation de dispositifs (Y-maze, Morris maze, Radial maze, Fear conditioning box, ...) et protocoles expérimentaux.

- Enseignements dirigés consacrés aux relations qui unissent la mère et son jeune (brebis et agneau), approches théoriques et expérimentales de l'Ethologie et Neuroéthologie.

- **UE de Cognition Animale (Travaux Pratiques, 40h/an)**

Niveau : Maîtrise de Neurosciences

- Encadrement de groupes d'étudiants lors de la sélection d'un thème de recherche consacré à l'étude du comportement animal (choix libre) et mise en place du protocole expérimental

- Suivi des expériences, encadrement lors de l'analyse statistique des résultats et de la rédaction du rapport

- Correction, notation des rapports écrits et des présentations orales

Année universitaire	Etablissement d'enseignement	Nombre d'heures enseignées (équivalent TD – base 192h)	Décharges
2011-2012	Université Paul Sabatier Toulouse 3	128h	Nouvel entrant (64h)
2012-2013	Université Paul Sabatier Toulouse 3	140h	Nouvel entrant (64h)
2013-2014	Université Paul Sabatier Toulouse 3	196h	
2014-2015	Université Paul Sabatier Toulouse 3	201h	
2015-2016	Université Paul Sabatier Toulouse 3	199h	
2016-2017	Université Paul Sabatier Toulouse 3	192h	Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (9h)
2017-2018	Université Paul Sabatier Toulouse 3	216h	Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (9h)

2018-2019	Université Paul Sabatier Toulouse 3	195h	Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (18h)
2019 - 2020	Université Paul Sabatier Toulouse 3	194h	Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (18h)
2020 - 2021	Université Paul Sabatier Toulouse 3	226h	Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (18h)
2021 - 2022	Université Paul Sabatier Toulouse 3	195,5h	-Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (18h) -Responsable des TP Neurosciences (6h)
2022 - 2023	Université Paul Sabatier Toulouse 3	206h	-Responsable année M2 neurosciences, comportement, cognition (18h) -Responsable des TP Neurosciences (6h) -Responsable d'UE à gros effectifs sans TP (2h)
2023 - 2024	Université Paul Sabatier Toulouse 3	197h	-Responsable année M2 neurosciences cognitives et intégrées (18h) -Responsable des TP Neurosciences (6h) -Responsable d'UE à gros effectifs sans TP (2h)

SN : sciences naturelles ; PCESVT : premier cycle d'études des sciences de la vie de la terre ; BOPE : biologie des organismes et des populations ; BCP : biologie cellulaire et physiologie ; 2B2M : biochimie, biologie moléculaire et microbiologie ; BT : biotechnologie ; Bio-Tox : biotoxicologie ; BBE : biodiversité et biologie environnementale

Enseignements 2011-2016 :

- L1 SN : UE Accompagnement
- L2 PCESVT : UE Enzymologie et Biologie Cellulaire. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L2/L2 BOPE : UE Introduction au Comportement Animal. *Cours Magistraux, Travaux Pratiques*
- L2 BCP : UE Neurosciences. *Travaux Dirigés, Travaux Pratiques*
- L3 BCP/L2 2B2M: UE Introduction à la Méthodologie Expérimentale. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L3 BCP : UE Fonctions Nerveuses Intégrées. *Travaux Dirigés*
- L2 BOPE : UE Ecologie Comportementale. *Travaux Pratiques*
- M1 BioSanté : Initiation aux Méthodes de la Recherche. *Travaux Pratiques*
- M1 BioSanté : Neurosciences Cognitives, Neuroéthologie, Neurogénétique. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*

- M2 Neurosciences, Comportement, Cognition : UE Processus Mnésiques et Plasticité. *Cours Magistraux*

Enseignements 2016-2022 :

- L2 PCESVT : UE Biologie Cellulaire. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L2/L2 BOPE : UE Introduction au Comportement Animal. *Cours Magistraux, Travaux Pratiques*
- L2/L3 BOPE : UE Neuro-écologie. *Cours Magistraux, Travaux Pratiques*
- L2 BCP : UE Neurosciences Comportementales. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L3 BCP/L2 2B2M: UE Introduction à la Méthodologie Expérimentale. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L3 BCP : UE Fonctions Nerveuses Intégrées. *Travaux Dirigés*
- L3 BCP : UE Ethologie. *Cours Magistraux*
- L2 BOPE : UE Ecologie Comportementale. *Travaux Pratiques*
- M1 BioSanté : Plateforme Intégrée Neurosciences. *Travaux Pratiques*
- M1 BioSanté : Neurosciences Cognitives. *Cours Magistraux*
- M1 BioSanté : UE Organisation et Maintenance des Génomes Eucaryotes. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- M1 BT : UE l'ADN, du Nano-objet à la Cible Pharmacologique. *Travaux Dirigés*
- M2 Neurosciences, Comportement, Cognition : UE Processus Mnésiques et Plasticité. *Cours Magistraux*
- M2 Bio-Tox : UE Exploration Fonctionnelle et Imagerie. *Travaux Dirigés, Travaux Pratiques*

Enseignements 2022-2024:

- L2 PCESVT : UE Biologie Cellulaire. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L2 BCP/L2 BBE : UE Introduction à la Biologie du Comportement. *Travaux Dirigés*
- L2 BCP/L2 2B2M : UE Introduction à la Méthodologie Expérimentale. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L2 BCP/L2 BBE/L2 2B2M : UE Sciences et Sociétés. *Travaux Dirigés*
- L3 BCP : UE Ethologie et Neuro-éthologie. *Cours Magistraux*
- L3 BCP : UE Projets thématiques multidisciplinaires. *Travaux Dirigés*
- L3 BBE : UE Ecologie Sensorielles. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*
- L3 BCP/L3 2B2M : UE Qu'est-ce que la Science ? *Travaux Dirigés*
- M1 Neurosciences : Expérimentation Animale. *Cours Magistraux*
- M1 Neurosciences : Génétique du Comportement et Neuro-éthologie. *Cours Magistraux, Travaux Dirigés*

- M1 Neurosciences : Ethique en Expérimentation Animale et Humaine : *Travaux Dirigés*
- M1 BT : UE l'ADN, du Nano-objet à la Cible Pharmacologique. *Travaux Dirigés*
- M2 Neurosciences, Comportement, Cognition : UE Processus Mnésiques et Plasticité. *Cours Magistraux*
- M2 Neurosciences Cognitives et Intégrées : UE Mécanismes de la mémoire. *Cours Magistraux, Travaux dirigés*
- M2 Neurosciences Cognitives et Intégrées : UE Neurodegenerative processes. *Travaux dirigés*

4. Responsabilités pédagogiques

Depuis 2016 : Co-responsable UE Introduction à la Méthodologie Expérimentale commune aux L2 BCP et L2 2B2M (environ 450 étudiant.es)

2016-2022 : Responsable UE Introduction au Comportement Animal proposée à la L2 BOPE (environ 36 étudiant.es)

2021-2022 : Responsable UE Neuro-écologie proposée au L2/L3 BOPE (environ 36 étudiant.es)

Depuis 2022 : Co-responsable UE Ethique en Expérimentation Animale et Humaine proposée au M1 Neurosciences (environ 40 étudiant.es)

Depuis 2023 : Co-responsable UE Neurodegenerative Processes proposée au M2 NCI (environ 70 étudiant.es)

Depuis 2021 : Co-responsable des Travaux Pratiques de Neurosciences (environ 120 étudiant.es)

Encadrement d'un technicien animalier, responsable de la gestion financière, de la gestion des animaux *in vivo* et de sa législation, et de la gestion du matériel). Ce poste est à forte responsabilité puisque plusieurs centaines d'heures de TP, qui concernent tous les TPs de la section 69 (neurosciences), sont dépendants de cette gestion. Je participe également au groupe de travail sur la restauration du bâtiment 4TP4 qui accueillera les futures salles de TPs du département Biologie et Géoscience (BG) ainsi que l'animalerie (souris, rat, insectes et poissons) qui hébergera l'ensemble des animaux des TPs du département BG.

2016-2023 : Co-responsable du Master 2 Neurosciences, Comportement, Cognition (environ 18 étudiant.es)

Depuis 2023 : Co-responsable du Master Neurosciences parcours « Neurosciences Cognitives et Intégrées » (environ 18 étudiant.es)

5. Responsabilités d'encadrements

Niveau Licence (avec taux d'encadrement):

2015 Jean-Yves Montenay, 1 mois, Licence 2 BCP, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)

- 2015 **Alexia Brocario**, 1 mois, Licence 3 BCP, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2015 **Mylène Duivon**, 1 mois, Licence 3 BCP, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2017 **Vincent Roux**, 1 mois, Licence 2 2B2M, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2017 **Vincent Roux**, 1 mois, Licence 3 2B2M, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2018 **Lucie Cabiro**, 3 mois, Licence 3 BOPE, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2018 **Estelle Schott**, 2 mois, Licence 2 BCP, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2019 **Juan Garcia Ruiz**, 2 mois, Licence 2 2B2M, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2019 **Patrick Macedo Ribeiro**, 1 mois, Licence 3 BCP, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2022 **Lucie Camp**, 1 semaine, 1^{ère} année à l'INSA Toulouse (50%)
- 2022 **Alban Bertolissi**, 1 mois, 3^{ème} année de Pharmacie, Université Paul Sabatier (50%)
- 2022 **Aurélia Coutarel**, 1 mois, Licence 2 BCP, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2022 **Aroha Boutin**, 1 mois, Licence 2 BCP-BioMIP, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2023 **Victor Volker**, 1 mois, Licence 3 BCP, Université de Poitiers (50%)
- 2023 **Aroha Boutin**, 2 mois, Licence 3 BCP-BioMIP, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)

Niveau Master 1 (avec taux d'encadrement):

- 2013 **Anthony Kischel**, 2 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2015 **Marie Corsini**, 1 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2016 **Alexia Brocario**, 2 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2017 **Benjamin Schmitt**, 1 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2018 **Axel Philipart**, 1 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2019 **Célia Hay**, 2 mois, Master 1 Biologie, Université de Besançon (50%)
- 2019 **Siham Bouziane**, 2 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2019 **Célia Bak**, 1 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2019 **Julie Beauduffe**, 1 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2019 **Mélissa Vilatte**, 1 mois, Master 1 BioSanté, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2023 **Chloé Lattes**, 2 mois, Master Neurosciences, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2024 **Zoé Castagnet**, 2 mois, Master Neurosciences, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)

Niveau Master 2 (avec taux d'encadrement):

- 2012 **Raphaël Bouton**, 5 mois, Master 2 Neurosciences, Comportement, Cognition, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2013 **Khaoula Rekik**, 5 mois, Master 2 Innovation Pharmacologique, Université Paul Sabatier Toulouse (33%)

- 2013 Hélène Villain**, 5 mois, Master 2 Neurosciences, Comportement, Cognition, Université Paul Sabatier Toulouse (50%)
- 2014 Marie Rieux**, 5 mois, Master 2 Innovation Pharmacologique, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2016 Adel Ben-Kraeim**, 5 mois, Master 2 Neurosciences, Comportement, Cognition, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2018 Clara Margarido**, 5 mois, Master 2 Neurosciences, Comportement, Cognition, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2020 Célia Bak**, 5 mois, Master 2 Neurosciences, Comportement, Cognition, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)
- 2024 Elsa Moise**, 5 mois, Master Neurosciences Cognitives et Intégrées, Université Paul Sabatier Toulouse (100%)

Niveau Doctorat (avec taux d'encadrement):

2013-2016 Hélène Villain, thèse de Neurosciences ED BSB (co-direction Cédrick Florian 50%, Pascal Rouillet 50%) – soutenue le 20 Décembre 2016

Sujet de thèse: Rôle du système noradrénergique et des mécanismes épigénétiques dans la reconsolidation de la mémoire : implication dans un modèle murin du trouble de stress post-traumatique

2020-2024 Célia Bak, thèse de Neurosciences ED BSB (co-direction Cédrick Florian 80%, Claire Rampon 20%) – soutenance prévue en Juillet 2024.

Sujets de thèse: Rôle du complexe corépresseur transcriptionnel Sin3A dans les mécanismes de la mémoire chez la souris adulte et âgée / Etude du circuit neuroanatomique sous-tendant la réponse comportementale de peur innée chez la souris adulte et âgée

6. Responsabilités scientifiques

Depuis 2017 : Responsable scientifique de la plateforme technique de phénotypage comportemental chez la souris (MBC, Mouse Behavioral Core, CBI- Toulouse)

Depuis 2020 : Membre titulaire de la commission scientifique spécialisée (CSS) INRAE, section « Biologie Animale » (mandat : 4 ans)

2021 : Membre titulaire du groupe d'avancement de grade d'enseignant-chercheur (GAEC) E rang B, Université Paul sabatier-Toulouse3

7. Autres activités scientifiques

Rapporteur de jury de thèse (1) :

- 2016 : Benjamin BESSIERES (doctorat en Neurosciences), Thèse dirigée par Olivier Nicole, Université de Bordeaux 1

Titre : Implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours des processus de consolidation systémique et d'oubli de la mémoire associative chez le rat

Membre de comité de suivi de thèse (3) :

- 2019-2020 : Florent MARTY (thèse dirigée par Elsa Suberbielle (CPTP, Toulouse), ED BSB

Titre : Rôle de la réponse aux cassures double-brin de l'ADN des neurones en conditions pathologiques : Impact sur les fonctions neuronales

- 2021-2022 : Marcy BELLOY (thèse dirigée par Nicolas Blanchard (Infinity, Toulouse), ED BSB

Titre : Impact de la neuro-inflammation et des lymphocytes T CD8 résidents mémoires intracérébraux associés à l'infection par *T. gondii* sur le fonctionnement et la dégénérescence du système nerveux central

- 2023-2024 : Nina COLITTI (thèse dirigée par Carla Cirillo et Isabelle Loubinoux (TONIC, Toulouse), Fondation des gueules cassées/ANR

Titre : Stratégie thérapeutique dans la régénération cérébrale : le système nerveux périphérique comme source innovante

Membre de jury de concours de Maître de conférences (1) :

- 2023 : profil pédagogique et de recherches - Biochimie, physiologie, neurobiologie et nutrition
Section 64-Biochimie et biologie moléculaire, 69-Neurosciences, 66-Physiologie (Université de Bordeaux)

8. Conférences invitées dans des congrès nationaux et internationaux

2009 Molecular & Cellular Cognition Society, SfN, Chicago

2009 6th Annual Circadian & Sleep Research Retreat, Philadelphia

2014 GDR Mémoire, Grasse (06)

2021 GDR Mémoire, Vers (46)

9. Séminaires invités et communications orales

2005 Upenn, Philadelphia

2008 Temple University, Philadelphia

- 2010 Institut Cochin, Paris
- 2016 Laboratoire de Neurosciences Cognitive (LNC), Marseille
- 2011 Centre de Recherche Cerveau et Cognition (CerCO), Toulouse
- 2011 Centre de Physiopathologie Toulouse Purpan (CPTP), actuellement « Infinity », Toulouse

10. Bourses et financements de recherche

- 2003 Bourse de mobilité ATUPS internationales (1.45k€)
- 2005 Temple University Grant
- 2006 National Institutes of Health (NIH)
- 2021 Appel d'Offre interne CRCA (14.8k€)
- 2022 Fondation France Alzheimer (98k€)
- 2023 ANR SweetBrainDev (responsable d'un workpackage : 170 k€)

11. Conférences ou interventions grand public

- 2017 Semaine du cerveau, Université Paul Sabatier, Toulouse
- 2017 Grandes ouvertures, Hôtel d'Assézat, Toulouse
- 2024 Semaine du cerveau, Toulouse

12. Collaborations

- 2003 **Andrea Mele** (Département de génétique et de biologie moléculaire, Université La Sapienza, Rome)
- 2006 **Nicole Mons** (Laboratoire de Neurosciences Cognitives, Talence)
- 2006 **Geneviève Rougon** (Institut de Biologie du Développement de Marseille-Luminy, Marseille)
- 2008 **Phil Haydon** (Département de Neurosciences, Université de Tufts, Boston, USA)
- 2009 **Stephen J. Gould** (Département de psychologie, Université de Temple, Philadelphie, USA)
- 2016 **Jérôme Cavallé** (Laboratoire de Biologie Moléculaire Eucaryote, Université de Toulouse)
- 2019 **Ted Abel** (Institut de Neurosciences d'Iowa, Université d'Iowa, USA)
- 2023 **Anna Oliveira** (Institut de Neurobiologie du Centre Interdisciplinaire pour les Neurosciences, Hiedelberg, Allemagne)
- 2023 **Sylvie Granon** (NeuroPsi, Paris-Saclay)

13. Publications dans des revues à comité de lecture

**These authors have contributed equally*

1. Adraini T., Moulédous L., Petsophonsakul P., **Florian C.**, Lopez S., Botella-Daloyau M., Arrazola M., Nikolla K., Philip A., Leydier A., Marque M., Arnaudé-Pelloquin L., Belenguer P., Rampon C. and Miquel M.C. (2023) Mitochondrial OPA1 deficiency causes reversible defects in adult neurogenesis-associated spatial memory in mice. *eNeuro* <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0073-23.2023>
2. Hamelin H., Poizat G., **Florian C.**, Bartosk Kursa M., Pittaras E., Callebert J., Rampon C., Taouis M., Hamed A. and Granon S. (2021) Prolonged consumption of sweetened beverages lastingly deteriorates cognitive functions and reward processing in mice. *Cerebral Cortex* <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab274>
3. Dahan L., Rampon C. and **Florian C.** (2020) Age-related memory decline, dysfunction of the hippocampus and therapeutic opportunities. *Progress in Neuropsychopharmacology and biological psychiatry* <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109943>
4. Bridi MS., Schoch H., **Florian C.**, Poplawski S.G., Hawk J.D., Banks G.S., Lejards C., Hahn C.G., Giese K.P., Havekes R., Spruston N. and Abel T. (2020) Transcriptional co-repressor Sin3a regulates hippocampal synaptic plasticity via Homer1/mGluR5. *JCI Insight* <https://doi.org/10.1172/jci.insight.92385>
5. Rekik K., Francès B., Valet P., Dray C*. and **Florian C.*** (2017) Cognitive deficit in hippocamp-dependent tasks in Werner syndrome mouse model. *Behavioural Brain Research*, 323, 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.01.034>
6. Villain H., **Florian C.*** and Rouillet P.* (2016) HDAC inhibition promotes both initial consolidation and reconsolidation of spatial memory in mice. *Scientific report*, 6, 27015. <https://doi.org/10.1038/srep27015>
7. Marty V., Labialle S., Bortolin-Cavaillé M.L., Ferreira de Medeiros G., Moisan M.P., **Florian C.** and Cavaillé J. (2016) Deletion of the miR-379/miR-410 gene cluster at the imprinted Dlk1-Dio3 locus enhances anxiety-related behavior. *Human Molecular Genetics*, 25: 728-739. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv510>
8. **Florian C.**, Bahi-Buisson N. and Bienvenu T. (2012) FOXP1-related disorders: from clinical description to molecular genetics. *Molecular Syndromology*. 2:153-63. <https://doi.org/10.1159/000327329>

9. Nectoux J., **Florian C.**, Delepine C., Bahi-Buisson N., Khelifaoui M., Reibel S., Chelly J. and Bienvenu T. (2012) Altered microtubule dynamics in Mecp2-deficient astrocytes. *Journal of Neuroscience Research*. 90:990-8. <https://doi.org/10.1002/jnr.23001>
10. Hawk J.D., **Florian C.** and Abel T. (2011) Post-training intrahippocampal inhibition of class I histone deacetylases enhances long-term object location memory. *Learning & Memory*, 18:367-70. <https://doi:10.1101/lm.2097411>
11. **Florian C.**, Vecsey C.G., Halassa M.M., Haydon P.G. and Abel T. (2011) Astrocyte-derived ATP Release and Adenosine A₁ Receptor Activity Contribute to Sleep Loss-Induced Deficits in Hippocampal Synaptic Plasticity and Memory in Mice. *Journal of Neuroscience*, 31:6956-62. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5761-10.2011>
12. **Florian C***, Tretter V*, Revilla-Sanchez R*, Houston C*, Terunuma M*, Havekes R*, Jurd R*, Vithlani M., Michels G., Couve A., Sieghart W., Brandon N., Abel T., Smart T.G. and Moss S.J. (2009) Deficits in spatial memory correlate with modified γ -aminobutyric acid type A receptor tyrosine phosphorylation in the hippocampus. *PNAS* 106:20039-44. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908840106>
13. Kenney J.W., **Florian C.**, Portugal G.S., Abel T. and Gould T.J. (2009) Involvement of hippocampal Jun-N terminal pathway in the enhancement of learning and memory by nicotine. *Neuropsychopharmacology*, 35:783-492. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.153>
14. Halassa M.M., **Florian C.**, Fellin T., Munoz J.R., Lee S.Y., Abel T., Haydon P.G and Frank M.G. (2009) Astrocytic modulation of sleep homeostasis and cognitive consequences of sleep loss. *Neuron*, 61:213-219. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.11.024>
15. Fellini L., **Florian C.**, Courtney J. and Roulet P. (2009) Pharmacological intervention of hippocampal CA3 NMD receptors impairs acquisition and long-term memory retrieval of spatial pattern completion task. *Learning & Memory* 16:387-94. <https://doi:10.1101/lm.1433209>
16. **Florian C.**, Mons N. and Roulet P. (2006) CREB antisense oligodeoxynucleotide administration into the dorsal Hippocampal CA3-region impairs long- but not short-term spatial memory in mice. *Learning & Memory* 13:465-72. <https://doi:10.1101/lm.249306>

17. **Florian C.**, Foltz J., Norreel J.C., Rougon G. and Roullet P. (2006) A synthetic poly-alpha 2,8-sialic acid-neural cell adhesion molecule mimetic peptide improves spatial long-term performances in mice. *Learning & Memory*, 13:335-41. <https://doi:10.1101/lm.187506>
18. Ferretti V., **Florian C.**, Costantini V.J.A., Roullet P., Rinaldi A., De Leonibus E., Oliverio A. and Mele A. (2004) Co-activation of glutamate and dopamine receptors within the nucleus accumbens is required for spatial memory consolidation in mice. *Psychopharmacology*, 179:108-116. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-2144-3>
19. **Florian C.** and Roullet P. (2004) Hippocampal CA3-region is crucial for acquisition and memory consolidation in Morris water maze tasks in mice. *Behavioural Brain Research*, 154: 365-374. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.03.003>
20. Sargolini F., **Florian C.**, Oliverio A., Mele A. And Roullet P. (2003) Differential involvement of NMDA and AMPA receptors within the nucleus accumbens in consolidation of information necessary for place navigation and guidance strategy, in mice. *Learning & Memory*, 10: 285-293. <https://doi:10.1101/lm.54003>
21. Stupien G., **Florian C.** and Roullet P. (2003) Involvement of the hippocampal CA3-region in acquisition and in memory consolidation of spatial but not in object information in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80, 32-41. [https://doi.org/10.1016/S1074-7427\(03\)00022-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7427(03)00022-4)

TRAVAUX DE RECHERCHE
DOCTORAL
ET
POST-DOCTORAL

1. Travaux de Thèse (période 2001-2005)

Un des enjeux de la recherche en neurosciences est la **compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent les processus mnésiques** qui font suite aux apprentissages. De nombreuses études, notamment menées chez les invertébrés, ont montré que des modifications neuronales et structurales qui apparaissent pendant et après un apprentissage, peuvent supporter les différentes formes de la mémoire. Chez les vertébrés, cette avancée reste encore fébrile, et en particulier, pour ce qui est des apprentissages plus complexes. Un apprentissage complexe nécessite d'acquérir une multitude d'informations, de les traiter dans son ensemble, de les mettre en mémoire et de les restituer, et ceci dans le but d'obtenir une récompense ou d'éviter une punition. Les apprentissages spatiaux chez les rongeurs représentent un bon moyen d'étude pour les apprentissages complexes. En effet, l'animal doit par exemple extraire de son environnement les éléments spatiaux pertinents afin de répondre au mieux à une tâche demandée.

L'objectif de mon travail de Thèse a été d'identifier les supports nerveux des activités cognitives liées à la connaissance de l'espace. De nombreuses données de la littérature font de l'hippocampe la principale structure responsable de la représentation spatiale (O'Keefe and Nadel, 1978), et son dysfonctionnement est, de plus, mis en relation avec différentes pathologies affectant les activités d'ordre cognitif comme la mémoire. Mon étude portait sur le rôle d'une région de l'hippocampe, la région CA3, dans le traitement des informations mises en jeu au cours d'un repérage spatial et dans la reconnaissance de l'environnement. J'ai focalisé mon attention sur cette région CA3 pour plusieurs raisons. La première est que cette région fait l'objet de peu d'études alors qu'elle est un véritable carrefour des informations sensorielles arrivant au sein de la structure hippocampique. Il faut savoir par exemple, que les cellules pyramidales du CA3 sont capables de répondre aux afférences corticales issues des aires entorhinales. La deuxième raison est qu'elle est considérée comme une matrice d'auto-association pour le stockage et le rappel de l'information (Treves and Rolls, 1992; Rolls and Treves, 1997) lui affectant ainsi, un rôle dans les processus de mémoire.

1.1. Etude de la région CA3 de l'hippocampe dorsal dans la mémoire spatiale

Le premier objectif de mes travaux de thèse a été d'étudier l'implication de la région CA3 de l'hippocampe dorsal dans les différentes phases de mémorisation d'une information spatiale, c'est-à-dire au cours des processus d'acquisition de cette information (*phase d'acquisition*), au cours du traitement et du stockage à long terme de l'information (*phase de consolidation*) et enfin, lors de la

récupération de l'information stockée (*phase de rappel*). Nous avons tenté de répondre à deux questions principales.

La région CA3 participe-t-elle à la réalisation de ces trois phases mnésiques ? L'implication de cette région de l'hippocampe dorsal est-elle ou non spécifique à un type d'apprentissage donné (associatif/non associatif ou spatial/non spatial) ?

Pour étudier le rôle de la région CA3 de l'hippocampe dans les différentes phases de la mémoire spatiale, il est essentiel de développer au préalable une nouvelle procédure comportementale. C'est pourquoi, nous avons mis en place une nouvelle procédure d'apprentissage dans la piscine de Morris, dans laquelle les animaux doivent localiser une plate-forme cachée en utilisant des éléments visuels distaux, en un minimum de temps (max. 80 minutes). Cette procédure d'apprentissage dite « à essais massés » nous a permis d'étudier les différentes phases de la mémoire. En effet, lors de séances d'apprentissage étalées sur plusieurs jours (dite « à essais distribués »), la trace mnésique formée est réactivée et puis reconsolidée entre chaque séance d'apprentissage rendant difficile la dissociation entre les processus d'acquisition et de consolidation (Sara, 2000; Nader, 2003). En outre, pour étudier les différentes phases de la mémoire séparément, il est nécessaire de bloquer temporairement la région CA3 de l'hippocampe uniquement pendant la phase spécifique que l'on souhaite examiner. Nous avons eu recours à des injections intra-hippocampiques de diéthylthiocarbamate (DDC), dont la durée d'action maximale dans l'hippocampe dorsal est d'environ 2 heures (Stupien et al., 2003). Le DDC est reconnu pour ses propriétés de chélation des métaux lourds extra- et intracellulaires, notamment le zinc, présent en grande quantité dans la région CA3 (Danscher et al., 1973; Holm et al., 1991). Le DDC permet de perturber la transmission synaptique au niveau des fibres moussues et des cellules pyramidales de la région CA3 (Danscher et al., 1973) et d'altérer la plasticité synaptique en inhibant l'action d'enzymes post-synaptiques (Heikkila et al., 1976). *In vitro*, le DDC a été utilisé pour inhiber l'induction de la potentialisation à long terme au niveau des fibres moussues (Lu et al., 2000). Le DDC est également connu pour bloquer temporairement l'hippocampe dorsal (Lassalle et al., 2000) et la région CA3 (Stupien et al., 2003). Ainsi, grâce à la courte durée d'action du DDC, couplée à notre approche comportementale à essais massés, nous étions en mesure d'étudier le rôle de la région CA3 de l'hippocampe dans les trois phases de la mémoire spatiale.

Nos résultats ont montré que la région CA3 de l'hippocampe dorsal est impliquée dans l'acquisition d'une information spatiale. Nous avons également montré que le blocage de l'activité de CA3 par une injection bilatérale de DDC diminuait de façon significative les performances des animaux au moment de la consolidation de la mémoire (c'est-à-dire quand les injections étaient réalisées immédiatement après la dernière séance d'apprentissage). La mémoire à long terme des animaux n'est pas perturbée quand les injections de DDC sont réalisées 2 heures après la fin de l'acquisition, suggérant que la région CA3 est importante pour l'initiation de la consolidation de la mémoire spatiale. Enfin, nous avons

également montré que cette région de l'hippocampe dorsal ne participe pas au rappel de l'information spatiale, ni à l'acquisition, ni à la consolidation et ni au rappel d'une information non spatiale.

Cette étude a montré pour la première fois le rôle de la région CA3 de l'hippocampe dorsal dans l'acquisition et la formation de la mémoire spatiale à long terme (Florian and Roulet, 2004).

1.2. Etude des mécanismes moléculaires de la consolidation de la mémoire spatiale dans la région CA3 de l'hippocampe dorsal

Dans un deuxième temps, nous avons tenté de déterminer quels étaient les éléments moléculaires qui sous-tendent les processus de la consolidation mnésique d'une information spatiale au niveau de l'aire CA3. Notre étude s'est focalisée sur deux protéines-clés connues pour être activement impliquées dans ces processus de mémorisation à long terme : les protéines CREB et NCAM.

1.2.1. Rôle de du facteur de transcription CREB dans la consolidation de la mémoire

Le facteur de transcription CREB (cAMP response-element binding protein) joue un rôle important dans les processus de plasticité qui sous-tendent les processus d'apprentissage et de mémoire (Frank and Greenberg, 1994; Carew, 1996; Silva et al., 1998). Chez le rongeur, l'inactivation de CREB dans l'hippocampe dorsal perturbe la consolidation de la mémoire spatiale (Guzowski and McGaugh, 1997). De plus, des souris mutantes présentant un déficit d'expression des deux isoformes de la protéine CREB (CREB^{α-δ}) montrent également un déficit de la mémoire à long terme (Bourtchuladze et al., 1994). L'objectif de cette étude a été d'étudier le rôle de ce facteur de transcription dans la consolidation d'une information spatiale suite à un apprentissage « à essais massées » dans la piscine de Morris.

Pour inactiver le facteur CREB nous avons utilisé des oligodésoxynucléotides (ODNs) antisens dirigés contre les ARN messager du CREB, injectés directement dans la région CA3 de l'hippocampe. Nous avons précédemment montré que cette région de l'hippocampe est impliquée dans la phase initiale de la consolidation la mémoire spatiale (Florian and Roulet, 2004). Ainsi pour montrer le rôle de la protéine CREB dans la consolidation de la mémoire dépendante de CA3, nous avons réalisé ces injections d'ODNs immédiatement après la dernière séance d'acquisition en piscine Morris. Nous avons ensuite testé les animaux 1 heure ou 24 heures plus tard, afin d'évaluer respectivement leur mémoire à court terme et à long terme.

Les principaux résultats de cette étude ont montré qu'une injection intra-hippocampique d'ODNs dirigés contre les ARNm de CREB immédiatement après l'acquisition réduit le niveau de la forme phosphorylée et active de la protéine CREB et induit ainsi un déficit de mémoire à long terme. La mémoire à court terme de ces animaux reste quant à elle intacte. Ces résultats ont montré pour la première fois qu'une action locale de la protéine CREB dans la région CA3 participe à la consolidation de la mémoire spatiale à long terme.

Nos résultats ont suggéré qu'une injection bilatérale d'ODNs dirigés contre les ARNm de CREB dans la région CA3 de l'hippocampe perturbe la consolidation de mémoire spatiale à long terme mais pas la mémoire à court terme (Florian et al., 2006b).

1.2.2. Rôle des PSA-NCAM dans la consolidation de la mémoire

Nous avons observé une diminution des performances de la mémoire spatiale à long terme lorsque la région CA3 de l'hippocampe dorsal est complètement bloquée pendant la consolidation (Florian et Rouillet, 2004). Nous avons également constaté ce même déficit de mémoire lorsque que la forme active et phosphorylée de la protéine CREB est perturbée au niveau de la région CA3 (Florian et al., 2006b). Ces travaux suggèrent non seulement que la région CA3 intervient dans le traitement de l'information spatiale, mais qu'il y aurait au sein de cette région CA3, une réorganisation synaptique capable de soutenir la mémoire à long terme. Dans ce contexte, la molécule d'adhésion neuronale (NCAM) nous a semblé être un candidat idéal pour jouer un rôle important dans ces processus de réorganisation synaptique et dans les modifications des patterns d'activité des cellules nerveuses (Pradel et al., 1999; Cambon et al., 2004).

En effet, la mémorisation à long terme dépend fortement de modifications structurales au niveau synaptique et de la synthèse de nouvelles protéines et glycoprotéines (Bailey et al., 1996). Les premiers travaux concernant l'implication des glycoprotéines dans la formation de la mémoire remontent à un peu plus de 40 ans, quand il a été montré, pour la première fois chez l'animal, qu'un apprentissage pouvait entraîner une augmentation de la glycosylation des protéines (Routtenberg, 1979). Plus tard, Kandel et ses collaborateurs identifièrent chez un mollusque marin, le rôle d'une molécule d'adhésion cellulaire NCAM dans la formation de la mémoire (Mayford et al., 1992). Le but de notre expérience a été d'étudier le rôle de ces molécules d'adhésion cellulaire au sein de la région CA3 au cours de la consolidation mnésique d'un apprentissage spatial.

Pour cela, nous avons utilisé un peptide mimétique de l'acide polysialique des PSA-NCAM. Ce peptide a été caractérisé, lors de test *in vitro*, comme étant un facilitateur de la pousse axonale et un précurseur de la migration cellulaire. Lors de tests *in vivo*, ce peptide s'est révélé être un facilitateur de la migration de neuroblastes préalablement greffés dans le cerveau de souris (Torregrossa et al., 2004).

Nos résultats ont suggéré qu'une injection d'un peptide mimétique de l'acide polysialique dans la région CA3 augmente les performances de rappel de la mémoire spatiale 24 heures (mémoire à long terme) mais également un mois (mémoire à très long terme) après l'apprentissage (Florian et al., 2006a).

L'ensemble des travaux de ma Thèse a permis de préciser le rôle de la région CA3 de l'hippocampe dans les processus d'apprentissage et de mémoire spatiale et non spatiale chez la souris. Ces travaux ont notamment identifié que cette région de l'hippocampe est le siège de mécanismes cellulaires et

moléculaires qui participent à la consolidation d'une information spatiale, c'est-à-dire à la mise en place de la mémoire à long terme (figure 1).

Figure 1

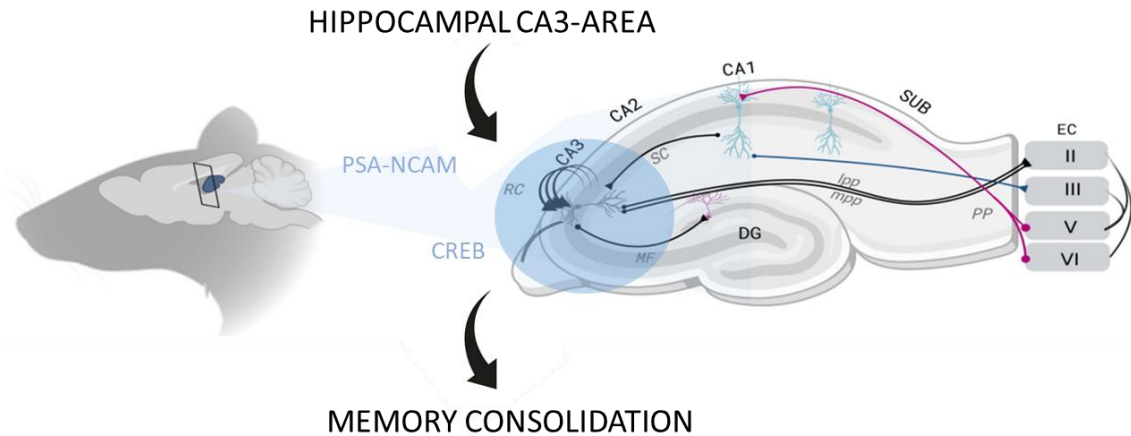


Schéma modifié de Roux et al., 2021

2. Travaux de recherche post-doctoral (période 2005-2010)

Après ma Thèse, j'ai rejoint l'équipe de Ted Abel du département de biologie à l'université de Pennsylvanie (UPenn, USA) pour m'intéresser plus particulièrement aux mécanismes moléculaires de la consolidation de la mémoire.

2.1. Etude du système adénoenergique astrocytaire dans la formation d'une mémoire dépendante de l'hippocampe

Dans un premier temps, je me suis intéressé aux événements pouvant altérer la mise en place de la mémoire à long terme chez la souris. Grâce à une collaboration avec Mickael Hallassa et Philip G. Haydon (School of Medicine, Tufts University, USA), nous avons révélé le rôle des cellules nerveuses non-neuronales, comme les astrocytes, dans les processus de plasticité synaptique, d'apprentissage et de mémoire, suite à une privation du sommeil chez la souris.

De nombreuses études de la littérature ont montré que les troubles du sommeil participaient aux déficits cognitifs tant chez l'Humain que chez les animaux, suggérant un rôle important du sommeil dans le stockage et la consolidation de la mémoire (Wagner et al., 2004; Stickgold, 2005). En effet, les sujets Humains soumis à une tâche de discrimination visuelle ou à un test de séquence motrice montrent une amélioration de performance après une nuit complète de sommeil, mais pas après une période d'éveil

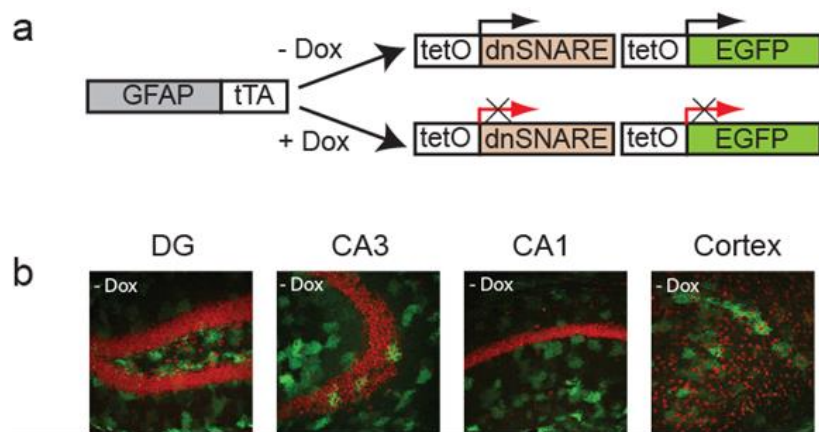
(Stickgold et al., 2000). De manière similaire, les troubles du sommeil affectent la plupart des souvenirs dépendant de l'hippocampe chez les rongeurs, tels que l'évitement passif (Silva, 2004), les tâches d'apprentissage spatial (Guan et al., 2004) ou le conditionnement à la peur (Vecsey et al., 2009). Les souvenirs non dépendants de l'hippocampe, comme dans la tâche de reconnaissance d'objets nouveaux, sont également affectés lorsque le sommeil est perturbé (Halassa et al., 2009). Cependant, les mécanismes cellulaires et moléculaires par lesquels les troubles du sommeil modulent la consolidation de la mémoire restaient à l'époque encore assez peu décrits dans la littérature.

Les troubles du sommeil sont également connus pour augmenter le niveau d'adénosine extracellulaire dans le cerveau, suggérant que l'adénosine peut agir comme un facteur endogène favorisant le sommeil (Porkka-Heiskanen et al., 1997). En effet, l'infusion d'un analogue d'adénosine dans le cerveau de souris favorise l'endormissement (Porkka-Heiskanen et al., 2000). De même, l'administration chronique d'un agoniste du récepteur A1 de l'adénosine améliore les performances mnésiques des souris dans le labyrinthe aquatique de Morris, alors que l'antagoniste sélectif les diminue (Von Lubitz et al., 1993).

Les cellules astrocytaires jouent un rôle dans l'homéostasie du sommeil en libérant des transmetteurs chimiques appelés gliotransmetteurs. De manière générale, les astrocytes libèrent de l'ATP qui est rapidement dégradée en adénosine, et qui active à son tour des récepteurs à l'adénosine de type 1, responsables de la réaction homéostatique durant le sommeil.

En utilisant un modèle de souris transgéniques (GFAP-tTA/tetO-dnSNARE, alias dnSNARE) qui présente une mutation au niveau d'un complexe protéique (le complexe SNARE) et qui perturbe spécifiquement l'exocytose dépendante de la protéine SNARE dans les astrocytes (figure 2), Pascual et ses collaborateurs ont découvert que le blocage de la gliotransmission empêche l'accumulation extracellulaire d'adénosine, qui est formée à partir d'ATP libérée par les astrocytes (Pascual et al., 2005). Dans cette étude, les auteurs ont montré que les souris dnSNARE sont protégées contre les effets dégradants de la perte de sommeil sur la mémoire. Nous avons montré la même protection contre la privation de sommeil est observée lorsque des souris non transgéniques et de type sauvage sont traitées avec l'antagoniste de l'AA1R, la 8-cyclopentyl-1,3-diméthylxanthine (Halassa et al., 2009). L'ensemble de ces découvertes suggèrent donc que **l'adénosine/ATP issue des astrocytes peut être responsable des déficits cognitifs causés par les troubles du sommeil.**

Figure 2. Les transgènes dnSNARE sont exprimés dans les astrocytes de l'hippocampe et du cortex en l'absence de nourriture à base de Doxycycline. **a**, Schéma de la génération des souris bitransgéniques exprimant dnSNARE. Deux lignées différentes de souris transgéniques ont été décrites précédemment par Pascual et al. (2005). Une lignée de souris dans laquelle le promoteur de la protéine acide fibrillaire gliale humaine (GFAP) conduit



l'expression du transactivateur de tétracycline "tet-off" (tTA). La deuxième, tetO.dnSNARE, contient un domaine dnSNARE régulé par un opérateur tétracycline (tetO) et un gène rapporteur de protéine verte fluorescente (EGFP). En croisant ces deux lignées, ces auteurs ont exprimé le domaine dnSNARE uniquement dans les astrocytes. Toutes les souris étaient maintenues en présence de nourriture à base de doxycycline (+Dox) jusqu'au début des expériences. De 3 à 4 semaines avant les expériences, la nourriture à base de doxycycline (-Dox) a été retirée pour induire l'expression du domaine dnSNARE. **b**, Images en microscopie confocale montrant l'expression du transgène rapporteur EGFP (en vert) dans les différents sous-champs de l'hippocampe, gyrus denté (DG), CA3 et CA1, et le cortex après 4 à 5 semaines d'absence de nourriture à base de doxycycline (-Dox). Le propidium iodide (en rouge) a été utilisé comme marqueur neuronal. Grossissement x20. (Pascual et al., 2005)

Dans l'hippocampe, la phase tardive de la potentialisation à long terme (L-LTP), un modèle cellulaire de la consolidation de la mémoire, nécessite l'activation de la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique (PKA) et du facteur de transcription CREB (Kandel, 2001). De plus, la L-LTP dépend de la synthèse de nouvelles protéines, tout comme la mémoire à long terme (Barco et al., 2002). Vecsey et ses collègues ont mesuré la L-LTP en enregistrant les potentiels de champ dans des tranches d'hippocampe de souris C57Bl6 après une perturbation du sommeil. Ces auteurs ont démontré qu'une brève privation de sommeil (5 heures) perturbe l'induction de la LTP au niveau de la région CA1 de l'hippocampe (Vecsey et al., 2009). Dans mon premier travail post-doctoral, je me suis alors demandé si le blocage de la gliotransmission ou le blocage de la signalisation des récepteurs A1 peut prévenir les effets d'une brève privation de sommeil sur la L-LTP hippocampique.

En effet, comme cette réduction d'ATP/adénosine dans l'espace synaptique astrocytaire réduit le besoin de sommeil (ou la pression de sommeil qui est naturellement associée à un éveil prolongé), et qu'une privation de sommeil engendre une augmentation de cette pression de sommeil et provoque un déficit de la mémoire, il est alors légitime de se demander si le blocage de la libération d'ATP/adénosine par les cellules astrocytaires a une incidence quelconque sur la mémoire, suite à une privation de sommeil. Étant donné qu'il existe différentes formes de mémoire dépendantes de différentes régions du cerveau (par exemple la reconnaissance d'objets nouveaux dépend essentiellement des régions extra-hippocampiques, comme les régions corticales, tandis que la mémoire spatiale dépend fortement de l'hippocampe proprement dit), je me suis également demandé si la mémoire dans une version spatiale de la tâche de reconnaissance d'objets peut être affectée par la privation de sommeil.

Dans cette étude, nous avons d'abord cherché à déterminer si perturber la libération de neurotransmetteurs par les astrocytes à l'aide d'un modèle de souris transgénique (dnSNARE) peut prévenir les effets de la privation de sommeil sur la fonction hippocampique. Nos résultats ont montré clairement que la L-LTP hippocampique est préservée après une brève période de privation de sommeil lorsque la gliotransmission est atténuée. Nous avons obtenu le même résultat lorsque les souris sont injectées avec un antagoniste des récepteurs adénosine de type A1 (8-cyclopentyl-1,3-diméthylxanthine, CPT), suggérant un rôle des récepteurs adénosine A1 dans les altérations de la plasticité synaptique hippocampique induites par la privation de sommeil. Étant donné que les infusions chroniques intrahippocampiques ou intracérébroventriculaires de l'antagoniste des récepteurs adénosine A1 ont des effets similaires sur l'activité synaptique de base et sur la LTP, nous avons alors proposé un rôle spécifique de l'hippocampe, et plus particulièrement des récepteurs adénosine A1 de l'hippocampe, dans l'altération de la plasticité synaptique induite par la privation de sommeil. Ensuite, nous avons cherché à déterminer si ces mêmes récepteurs adénosine A1 sont également responsables des déficits mémoire spatiale à long terme dépendant de l'hippocampe (figure 3). Ainsi, nous avons soumis les souris dnSNARE et celles traitées avec le CPT à un test de mémoire de reconnaissance spatiale d'objets après une brève privation de sommeil. Ce test de mémoire consiste en une exploration préalable de deux objets identiques présents dans une arène. La mémoire est évaluée en déplaçant un des deux objets vers une localisation spatiale différente et en mesurant le temps passé à explorer l'objet déplacé par rapport à l'objet non déplacé. Nous avons constaté que les souris dnSNARE et les souris sauvages traitées avec l'antagoniste spécifique des récepteurs adénosine A1, ne présentent aucun déficit de mémoire 24 heures après l'induction de la privation de sommeil. Nos résultats ont montré pour la première fois un rôle du système purinergique hippocampique dans les déficits de la mémoire spatiale induits par la privation de sommeil (Florian et al., 2011).

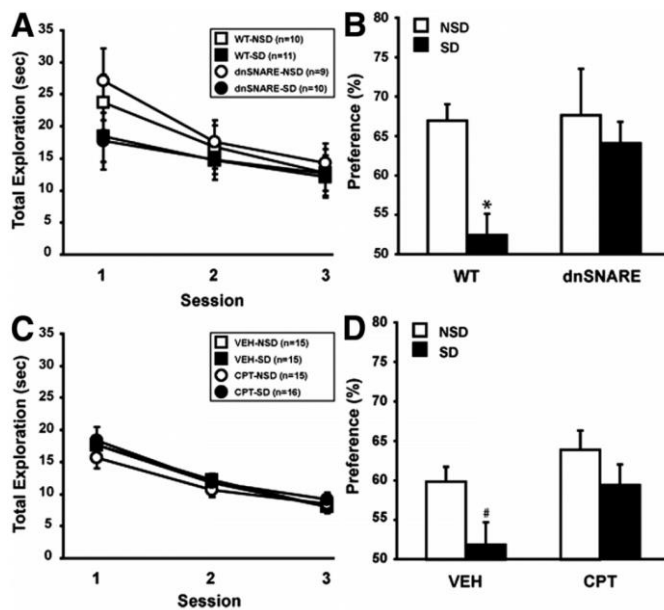


Figure 3. Dans le paradigme de reconnaissance d'objet spatial, les souris ont été entraînées lors de trois sessions de formation consécutives pour reconnaître deux objets différents. **(A)** Aucune différence de temps d'exploration total des objets entre les souris dnSNARE et leurs homologues de type sauvage n'a été observée. Immédiatement après l'entraînement, les souris ont été soit laissées tranquilles (NSD) soit privées de sommeil pendant 6 heures (SD). Vingt-quatre heures plus tard, les souris ont été testées pour leur capacité à détecter le changement spatial de l'un des objets. **(B)** La privation de sommeil altère la mémoire spatiale des objets chez les souris de type sauvage, mais pas chez les souris dnSNARE lors du test de 24 heures. **(C)** Similaire aux souris de type sauvage et aux souris dnSNARE, le traitement hippocampique avec l'antagoniste des récepteurs adénosine A1, le CPT, chez les

souris de type sauvage, n'a pas modifié l'exploration des objets au cours des trois sessions de formation. **(D)** La privation de sommeil altère la mémoire spatiale des objets chez les souris traitées avec un véhicule, mais pas chez les souris recevant une administration intra-hippocampique de CPT pendant une semaine avant l'expérimentation. #p < 0,05, *p < 0,001. (Florian et al., 2011)

L'ensemble de nos résultats ont montré que l'ATP libérée par les cellules gliales de l'hippocampe est responsable des effets délétères d'une privation de sommeil sur la plasticité synaptique et sur la mémoire dépendante de l'hippocampe.

2.2. Etude des récepteurs nicotiques de type $\alpha 4\beta 2$ dans la formation de la mémoire dépendante de l'hippocampe

J'ai poursuivi ensuite mes travaux de recherche sur la compréhension des mécanismes moléculaires qui sous-tendent la formation de la mémoire à long terme dépendante de l'hippocampe en étudiant le rôle de la nicotine et de ses récepteurs. Dans cette étude, nous avons tenté de comprendre les mécanismes et les cascades moléculaires qui sous-tendent un effet facilitateur lié à l'action du système nicotinique dans l'hippocampe. Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Ted Abel et en collaboration avec Justin Kenney et Thomas J. Gould (Department of Psychology, Temple University, USA).

L'hippocampe reçoit de nombreuses afférences cholinergiques et présente de nombreux récepteurs nicotiques à acétylcholine localisés essentiellement au niveau des cellules pyramidales et des interneurons. L'action de la nicotine sur ces récepteurs est connue pour faciliter les processus de l'apprentissage et de la mémorisation au cours de tâches comportementales impliquant l'hippocampe (Kenney and Gould, 2008). La consolidation de la mémoire à long terme nécessite la transcription de gènes et la synthèse de nouvelles protéines (Hernandez and Abel, 2008; Alberini, 2009). Bien que l'apprentissage et l'administration de la nicotine puissent indépendamment altérer la transcription

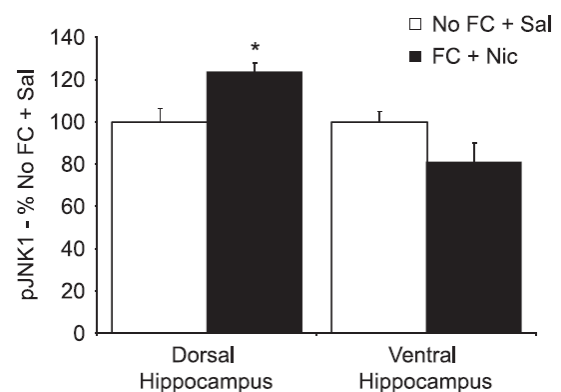
(Greenberg et al., 1986), on ne sait pas si l'apprentissage et la nicotine pouvaient interagir au niveau de la transcription pour modifier les processus de la consolidation de la mémoire.

La conditionnement de peur contextuelle s'est avéré être un bon paradigme comportemental pour explorer les effets de la nicotine sur l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe (Fanselow and Poulos, 2005; Sigurdsson et al., 2007). Le test consiste pour l'animal à apprendre une association entre un contexte (environnement nouveau) et un stimulus aversif (chocs électriques aux pattes), et à mesurer la réponse comportementale de peur de l'animal caractérisée par une absence de mouvement (Freezing) chaque fois que celui-ci est remis dans le contexte d'apprentissage. Les effets de la nicotine sur le conditionnement de peur contextuelle ont déjà été montrées par l'équipe de Thomas J. Gould (Gould and Stephen Higgins, 2003; Davis et al., 2007). Au niveau de l'hippocampe, la nicotine agit spécifiquement sur les récepteurs nicotiques présentant des sous-unités $\beta 2$ (Davis et al., 2007) et participe à l'activation de la voie des kinases ERK1/2 de la famille des MAPKs (Raybuck and Gould, 2007). L'équipe de Thomas J. Gould a montré qu'un traitement à la nicotine lors d'un conditionnement de peur contextuelle entraîne une augmentation du taux d'ARN messagers pour deux familles des MAPKs, à savoir les JNK1 et JNK3.

Étant donné l'implication des MAPK dans la consolidation de l'apprentissage et de la mémoire (Sweatt, 2004), et sachant que le conditionnement de peur en présence de nicotine modifie l'expression de certaines familles des MAPKs, nous nous sommes alors demandés si la nicotine et l'apprentissage pouvaient interagir pour provoquer des changements dans l'expression de gènes et dans l'activité des MAPKs sous-jacentes à l'amélioration du conditionnement de peur contextuelle par la nicotine.

Au cours de ce travail, nous avons montré une augmentation de la transcription de gène codant pour la protéine JNK1 au sein de l'hippocampe uniquement chez des animaux qui avaient reçu une injection de nicotine au cours d'un conditionnement de peur au contexte. Nous avons également démontré qu'un conditionnement de peur au contexte en présence de nicotine entraîne une augmentation de la forme active de la protéine JNK1 dans l'hippocampe dorsal pendant la phase précoce de la consolidation (figure 4).

Figure 4. Les niveaux de phosphorylation de JNK1 sont augmentés dans l'hippocampe dorsal après l'entraînement au conditionnement de la peur en présence de nicotine. Immunoréactivité à la phospho-JNK1 dans les hippocampes dorsal et ventral de souris C57B6 en cage et de souris C57B6 entraînées en présence de nicotine (n = 5). Les données de la phospho-JNK1 sont normalisées par rapport à la β -tubuline. * p < 0,05 par rapport au groupe en cage avec saline. (Kenney et al., 2010)



De plus, nous avons observé que l'inactivation de la voie de signalisation des JNKs dans l'hippocampe dorsal par un inhibiteur spécifique (SP600125) au moment de la phase précoce de la consolidation de mémoire annule l'effet facilitateur de la nicotine via les récepteurs $\alpha 4\beta 2$ (figure 5). Ceci suggère que l'activation de JNK hippocampique pendant la consolidation est nécessaire pour l'amélioration du conditionnement de peur contextuelle par la nicotine (Kenney et al., 2010).

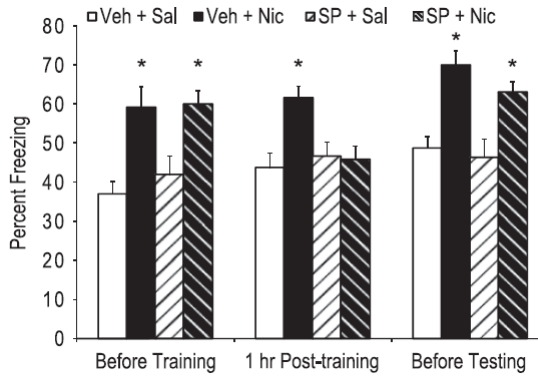
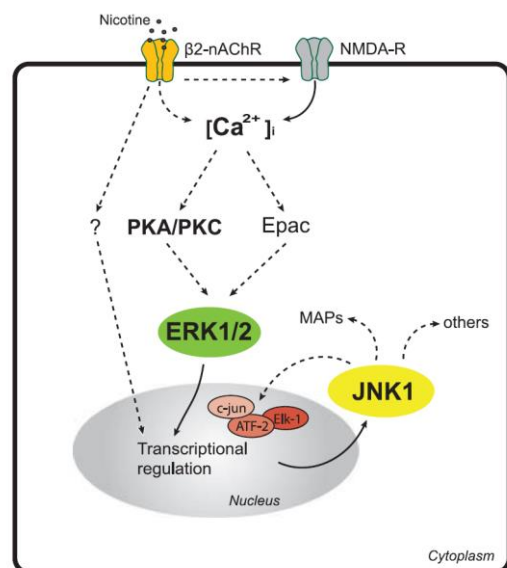


Figure 5. L'inhibition pharmacologique de l'activation de JNK dans l'hippocampe dorsal lors de la consolidation empêche l'amélioration du conditionnement de peur contextuelle par la nicotine. L'injection de l'inhibiteur JNK (SP, 15 mM) dans l'hippocampe avant l'entraînement (n = 8-9) ou le test (n = 8-10) n'a eu aucun effet sur l'amélioration du conditionnement de peur par la nicotine (0,09 mg/kg). En revanche, les injections de SP dans l'hippocampe 60 minutes après l'entraînement au conditionnement de peur au contexte ont bloqué cette amélioration induite par la nicotine (n = 8-9). (Kenney et al., 2010)

L'ensemble de ces travaux ont permis de proposer un modèle quant au rôle de la nicotine dans les mécanismes de la consolidation de la mémoire (figure 6). Ce modèle indique que la nicotine agit sur ses récepteurs nicotiniques $\beta 2$ pour réguler directement ou indirectement l'entrée de calcium au travers des récepteurs NMDA. Cette augmentation du calcium intracellulaire peut alors activer la PKC, la PKA ou l'Epac, connus pour activer les kinases ERK1/2. La translocation d'ERK1/2 dans le noyau va alors favoriser la transcription et permettre notamment une augmentation de la transcription de l'ARNm de JNK1. Cette activation de JNK1 pourrait à son tour transcrire des gènes impliqués dans la mémoire et participer ainsi à améliorer le processus de consolidation.

Figure 6. Une cascade de signalisation cellulaire proposée sous-jacente à l'amélioration du conditionnement de peur contextuelle par la nicotine. Les lignes en pointillés représentent des voies de signalisation hypothétiques que la nicotine pourrait modifier pour améliorer le conditionnement de peur contextuelle, et les lignes pleines représentent des voies que l'on sait que la nicotine module pour améliorer le conditionnement de peur contextuelle. (Kenney et al., 2010)



2.3. Etude des HDACs de classe I dans la consolidation de la mémoire dépendante de l'hippocampe

Dans cette dernière étude postdoctorale, je me suis focalisé sur les mécanismes moléculaires qui régulent l'expression des gènes au cours de la consolidation de la mémoire. Des données récentes à l'époque ont montré que des mécanismes épigénétiques peuvent jouer un rôle essentiel dans la régulation de la transcription des gènes, notamment pour la formation de la mémoire à long terme (Zovkic et al., 2013; Grinkevich, 2014). Parmi ces mécanismes épigénétiques, l'acétylation des histones semble particulièrement cruciale pour l'initiation et le maintien des processus de consolidation de la mémoire (Levenson et al., 2004; Peixoto and Abel, 2013). En effet, suite à un apprentissage, des acétylations se produisent sur les protéines histones favorisant ainsi la décondensation de la molécule d'ADN et la transcription des gènes. De nombreuses données de la littérature montrent le rôle de ces acétylations dans les processus d'apprentissage et de mémoire (Levenson et al., 2004; Sweatt, 2009; Peleg et al., 2010). Cette acétylation est réalisée par une enzyme appelée histone acétyltransférase (HAT). Cette activité HAT est portée notamment par la protéine CREB-binding protein (CBP) qui se lie au facteur de transcription CREB. Cette protéine CBP est essentielle pour le stockage de la mémoire. En effet, chez la souris, des mutations ponctuelles réalisées sur le gène codant pour la protéine CBP qui bloquent spécifiquement le recrutement de CBP par le facteur de transcription CREB (Wood et al., 2006) ou qui éliminent l'activité HAT de CBP (Korzus et al., 2004), altèrent la mémoire à long terme des animaux. Par ailleurs, un traitement par des inhibiteurs spécifiques des histones deacetylases (HDACs), enzymes qui diminuent le niveau d'acétylation des histones, améliore la mémoire à long terme des souris mutantes pour le gène CBP (Alarcón et al., 2004). De façon générale, l'utilisation d'inhibiteurs des HDACs améliore la mémoire à long terme chez les rongeurs (Alarcón et al., 2004; Korzus et al., 2004; Levenson et al., 2004; Lattal et al., 2007; Vecsey et al., 2007; Peleg et al., 2010; Guan et al., 2009; Stefanko et al., 2009).

Le but de notre étude a été d'étudier le rôle des HDACs de classe I (HDACs 1, 2, 3 et 8) au cours de la mise en place de la mémoire spatiale à long terme. En effet, la plupart des études publiées à l'époque ont examiné le rôle des HDACs au cours d'une tâche de conditionnement de peur contextuelle (Alarcón et al., 2004; Levenson et al., 2004; Vecsey et al., 2007; Guan et al., 2009; Peleg et al., 2010) ou lors de l'extinction de cette mémoire de peur (Lattal et al., 2007; Bredy and Barad, 2008). D'autres types mémoires, comme la mémoire de reconnaissance d'objets (Stefanko et al., 2009) ou bien la mémoire de reconnaissance spatiale d'objets (Haettig et al., 2011), sont facilités après un traitement avec des inhibiteurs de HDACs. Par exemple, l'injection de butyrate de sodium (NaB), un inhibiteur des HDACs de classe I et II, dans le cortex insulaire de rats améliore la mémoire de reconnaissance d'objets sans affecter la mémoire spatiale des objets. De façon similaire, l'administration de NaB dans l'hippocampe améliore la mémoire spatiale des objets sans affecter la mémoire de reconnaissance d'objets (Roosendaal et al., 2010). Ces résultats confirment une étude précédente de Ted Abel selon laquelle

l'hippocampe est nécessaire pour établir une mémoire spatiale des objets, mais pas pour une mémoire de reconnaissance d'objets (Oliveira et al., 2010).

Les inhibiteurs des HDACs qui ont été utilisés pour étudier les processus de mémoire agissent généralement sur les HDACs de classe I et de classe II. Par exemple, la trichostatine A (TSA) et l'acide subérylanilide hydroxamique (SAHA) inhibent divers HDACs de classe I et de classe II avec une efficacité similaire. Cependant, une étude publiée en 2009 a montré que les HDAC2 de classe I jouent un rôle important dans la mémoire à long terme et que l'inactivation (génétique ou pharmacologique) des HDAC 2 provoque une amélioration de cette mémoire à long terme en agissant sur des gènes de plasticité synaptique (Guan et al., 2009). De plus, l'inhibition des HDACs de classe I restaure des déficits de mémoire chez une souris modèle de la maladie Alzheimer (Kilgore et al., 2010). Ces résultats suggèrent donc qu'un inhibiteur sélectif de la classe I des HDACs peut être aussi efficace pour l'amélioration de la mémoire que les inhibiteurs ciblant à la fois les HDACs de classe I et de classe II. Nous avons donc utilisé le MS275, un inhibiteur sélectif des HDACs de classe I (Suzuki et al., 1999; Simonini et al., 2006; Beckers et al., 2007; Khan et al., 2008) connu pour cibler en particulier l'activité des HDAC2 (Covington et al., 2009). Pour tester hypothèse selon laquelle le composé MS275 peut également moduler les processus de consolidation de la mémoire, nous avons injecté du TSA ou le MS275 directement dans l'hippocampe dorsal de souris immédiatement après la phase d'apprentissage (exploration d'objets) et testé la mémoire 24 heures plus tard.

Comme indiqué sur la figure 7, nos résultats ont montré qu'une inhibition des HDACs de classe I et II immédiatement après un apprentissage permettait d'initier un processus de consolidation et la mise en place d'une mémoire à long terme (Hawk et al., 2011). Cette étude confirme également un rôle des HDACs de classe I dans la consolidation de la mémoire spatiale.

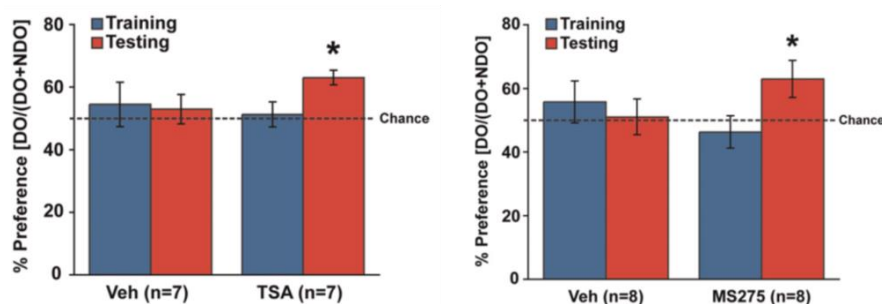


Figure 7. (A gauche). Les souris injectées avec le TSA (inhibiteur des HDACS de classe I et II) montrent une préférence pour l'objet déplacé DO ($P = 0.017$). Les souris contrôle ne montrent aucune préférence d'exploration entre objecté déplacé t et non déplacé NDO. (A

droite) Les souris injectées avec MS275 (inhibiteur des HDACS de classe I) explorent davantage l'objet déplacé DO lors de la phase de test ($P = 0,019$), tandis qu'aucune augmentation de la préférence pour l'objet déplacé n'a été observée chez les souris injectées avec le véhicule ($P = 0,539$). Une exploration équivalente des deux objets est indiquée par une ligne en pointillés à 50% ("chance"). (Hawk et al., 2011)

En conclusion, l'ensemble des études et des travaux réalisés au sein de l'équipe de Ted Abel m'ont permis de préciser les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la consolidation de la mémoire chez la souris.

3. Travaux de recherches post-doctoral (2010-2011)

De retour en France, j'ai effectué un court séjour post-doctoral dans l'équipe de Thierry Bienvenu et Jamel Chelly de l'Institut Cochin à Paris (INSERM U.1016, Département Génétique et Développement, Génétique et Physiopathologie des Retards Mentaux).

Cette équipe de recherche s'est intéressée en particulier au syndrome de Rett (RTT), un trouble du développement neurologique du spectre autistique causé par des mutations dans le gène MECP2. Ce syndrome affecte principalement les individus de sexe féminin et se caractérise par une phase normale du développement cérébral et comportemental de 8 à 18 mois, suivie d'une régression neurologique entraînant des altérations des fonctions motrices et cognitives.

En comparant les patrons d'expression de gènes dans des cultures de fibroblastes dérivées de clones de trois filles non apparentées et atteintes du syndrome RTT, l'équipe de Thierry Bienvenu et Jamel Chelly a montré que 22 gènes étaient significativement dérégulés dans les cellules exprimant une mutation de MECP2 (Nectoux et al., 2010). Parmi ces gènes, le gène stathmin-like 2 (Stmn2), sous-régulé dans les cellules déficientes en MeCP2, a retenu notre attention en raison de son rôle important dans le cerveau. En effet, la STMN2 est l'une des protéines les plus abondantes dans les cônes de croissance pendant le développement cérébral. Nous avons montré que la STMN2 est également exprimée dans les astrocytes, où elle favorise le désassemblage des microtubules, suggérant ainsi que la sous-expression de la STMN2 entraîne un taux de croissance accru des microtubules dans les astrocytes déficients en Mecp2. Compte tenu de l'influence des astrocytes sur la croissance et la formation des dendrites, la maturation et le maintien des synapses, nous avons suggéré que la sous-régulation de la STMN2 dans les astrocytes déficients en Mecp2 peut être impliquée dans les troubles de l'arborisation synaptique et dendritique dans les cerveaux de patients atteints du RTT. Ainsi au cours de ce stage postdoctoral j'ai participé à une première étude montrant une diminution significative de l'expression de la protéine STMN2 dans les fibroblastes de patients atteints du RTT, ainsi que dans le cervelet de souris déficientes en Mecp2 (Nectoux et al., 2012). Étant donné que la croissance des neurites dépend de l'intégrité et de la stabilité des microtubules, nous avons analysé la stabilité et la dynamique des microtubules dans les fibroblastes humains atteints du RTT et dans les cellules cérébrales de souris dépourvues de Mecp2. Nos observations ont révélé que l'absence de MeCP2 affecte la dynamique des microtubules à la fois dans les cellules non neuronales humaines atteintes du RTT et dans les astrocytes de souris dépourvues de Mecp2. De plus, nous avons constaté que la stabilité des microtubules était altérée à la fois dans les cellules exprimant l'allèle mutant et l'allèle de type sauvage des fibroblastes humains provenant de patients atteints du RTT, suggérant ainsi que les cellules porteuses de la mutation

MecP2 pouvaient perturber les cellules de type sauvage de manière non cellulaire autonome. Enfin, nos données renforçaient l'idée que la perte de MeCP2 dans les astrocytes peut influencer l'apparition et l'évolution du RTT. *Ces résultats ont suggéré que MeCP2 joue un rôle stabilisateur dans la dynamique des microtubules, et que la déficience en MeCP2, associée à une dérégulation de la STMN2, peut entraîner des anomalies de la stabilité des microtubules, expliquant ainsi les altérations des dendrites observées dans les cerveaux atteints du RTT (Nectoux et al., 2012).*

Dans un second temps, je me suis intéressé aux mutations situées en dehors du gène MECP2 et qui ont également été identifiées chez des individus présentant un syndrome RTT atypique. Parmi ces mutations, on trouve celles dans le gène forkhead box G1 (FOXG1). Le gène FOXG1 code pour un répresseur transcriptionnel essentiel au développement du télencéphale ventral dans le cerveau embryonnaire précoce, et il continue d'être exprimé dans les zones neurogénétiques du cerveau après la naissance. Au début de mon projet, la littérature recensait environ 12 mutations ponctuelles et 13 cas de modifications moléculaires de FOXG1, dont des translocations, des duplications et des délétions importantes sur le chromosome 14q12. Les individus porteurs de mutations de FOXG1 présentent des caractéristiques morphologiques et un parcours clinique similaires à ceux du syndrome RTT, notamment une période périnatale normale, une microcéphalie après la naissance, des crises d'épilepsie et un retard mental sévère.

Il est intéressant de noter que les modèles animaux de déficience en FOXG1 ont reproduit un phénotype similaire, suggérant que ces modèles peuvent être utiles pour la compréhension de cette maladie chez l'humain. *Dans cette dernière étude, j'ai rédigé une revue de la littérature sur les impacts des mutations de FOXG1 et les phénotypes associés dans des modèles humains et murins (Florian et al., 2011a).*

TRAVAUX DE RECHERCHE DEPUIS MON RECRUTEMENT

1.1 Etude des mécanismes épigénétiques dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire chez la souris adulte

Ce travail a fait l'objet de la thèse d'Hélène Villain (soutenue en 2016; co-direction avec Pascal Rouillet)

Lors de mon recrutement au Centre de Recherches sur la Cognition Animale en 2011, j'ai poursuivi mes travaux sur les mécanismes moléculaires de la mémoire en me focalisant dans un premier temps sur les modifications épigénétiques qui surviennent après un apprentissage et qui participent à la formation de la mémoire à long terme.

Comme nous l'avons vu précédemment, les mécanismes de formation de la mémoire sont exceptionnellement dynamiques. En effet, les informations nouvellement acquises lors des séances d'apprentissage sont d'abord stockées dans la mémoire à court terme avant de subir des modifications progressives au cours de la consolidation (McGaugh, 2000). Lorsqu'une information consolidée est récupérée, elle devient de nouveau instable et labile, rendant ainsi la mémoire réactivée "modifiable" (Lee et al., 2008; De Jaeger et al., 2014). Pour stabiliser de nouveau la trace mnésique, un processus appelé reconsolidation de la mémoire est nécessaire (Przybylski and Sara, 1997; Sara, 2000). Comme la consolidation de la mémoire, la reconsolidation de la mémoire nécessite également l'expression de nouveaux gènes (Guzowski, 2002; Lee et al., 2004) et une synthèse protéique (Davis and Squire, 1984; Artinian et al., 2008). Néanmoins, la reconsolidation de la mémoire n'est pas considérée comme une simple répétition du processus de consolidation (Alberini, 2005).

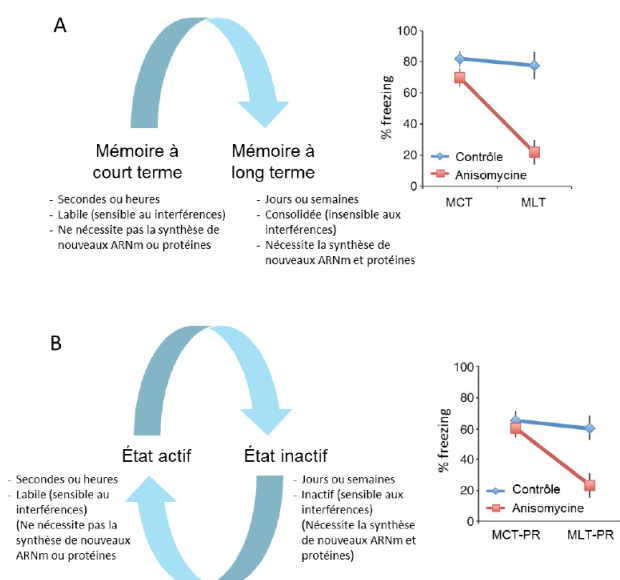


Figure 8. Deux modèles conceptuels des processus de mémoire dépendant du temps. **(A)** Le modèle classique de la consolidation stipule qu'une fois stocké en mémoire à long terme, un souvenir reste permanent. **(B)** Le modèle de Lewis (Lewis, 1979) intègre les deux concepts de consolidation et reconsolidation de la mémoire, proposant qu'une mémoire réactivée entre à nouveau dans un état actif et sensible aux interférences, nécessitant une re-stabilisation. MCT : mémoire à court terme. MLT : mémoire à long terme. MCT-PR : mémoire à court terme post-réactivation. MLT-PR : mémoire à long terme post-réactivation. D'après (Nader, 2003, 2015) – Hélène Villain©.

L'un des processus clés impliqués dans la mémoire est le remodelage de la chromatine par des modifications post-traductionnelles des histones. En effet, l'acétylation des histones (par les HATs) active la transcription en relâchant la chromatine. En revanche, la déacétylation des histones (par les HDACs)

confère à la chromatine un rôle dans la répression de la transcription des gènes (Peixoto and Abel, 2013). Bousiges et ses collègues ont montré une augmentation spécifique de l'acétylation des histones H2B et H4 suite à un apprentissage spatial dans le labyrinthe aquatique de Morris (Bousiges et al., 2010). De plus, le traitement avec les inhibiteurs de HDAC améliore les performances en mémoire à long terme dans le conditionnement de peur contextuelle (Levenson et al., 2004; Fischer et al., 2007; Vecsey et al., 2007), le labyrinthe aquatique de Morris (Fischer et al., 2007), la reconnaissance d'objets (Stefanko et al., 2009) et les paradigmes de localisation d'objet (Hawk et al., 2011).

Bien que le rôle essentiel de l'acétylation des histones dans la consolidation de la mémoire ait été bien établi, peu d'études ont examiné le rôle de ces modifications post-traductionnelles des histones pendant la réactivation de la trace mnésique. Lubin et Sweatt ont montré une augmentation du niveau d'acétylation des histones H3 dans l'hippocampe dorsal suite à la réactivation de la mémoire de la peur contextuelle (Lubin and Sweatt, 2007). Cet effet a été également observé dans l'amygdale latérale après la réactivation d'une mémoire de peur conditionnée à un stimulus sonore (Maddox and Schafe, 2011). De plus, l'utilisation d'un inhibiteur non spécifique des HDACs, comme le butyrate de sodium (NaB), permet de restaurer les déficits de mémoire de la peur chez les rongeurs (Lubin and Sweatt, 2007), mais également d'améliorer la reconsolidation de la mémoire (Bredy and Barad, 2008; Maddox and Schafe, 2011). Enfin, l'injection d'un inhibiteur des HATs dans l'amygdale de souris perturbe la reconsolidation d'une mémoire de peur conditionnée à un stimulus sonore (Maddox et al., 2013), suggérant un rôle important de l'acétylation des histones dans la reconsolidation de la mémoire de peur.

La plupart des études se sont consacrées au rôle des mécanismes épigénétiques dans la phase de reconsolidation des souvenirs aversifs, et plus particulièrement des souvenirs dépendants de l'amygdale. Dans ce travail, nous avons examiné le rôle de l'acétylation des histones dans la formation de la mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe à la fois pendant une phase précoce de la consolidation de la mémoire mais également durant la reconsolidation. Pour ce faire, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle l'acétylation des histones était nécessaire pour la réactivation de la mémoire spatiale chez la souris.

Nous avons soumis des souris à un apprentissage spatial à essais massés (protocole modifié de celui développé pendant ma thèse), suffisant pour induire une mémoire à court terme (testée 1h après l'apprentissage) mais insuffisant pour assurer un transfert en mémoire à long terme (testée 24h après l'apprentissage). Nous avons ensuite administré du NaB, un inhibiteur sélectif des HDACs de classe I et II, dans l'hippocampe dorsal, soit immédiatement après l'apprentissage pour étudier la consolidation (figure 9A), soit immédiatement après la réactivation de la mémoire pour examiner la reconsolidation (figure 10A).

Nos résultats ont montré que l'inhibition des HDAC après l'apprentissage permet l'établissement d'une mémoire à long terme suite à un apprentissage modéré, sans altérer les performances mnésiques à

court terme. De plus, l'inhibition des HDACs après la réactivation favorise la reconsolidation de la mémoire, permettant ainsi la formation d'une mémoire à long terme après la réactivation, sans modifier la mémoire à court terme post-réactivation.

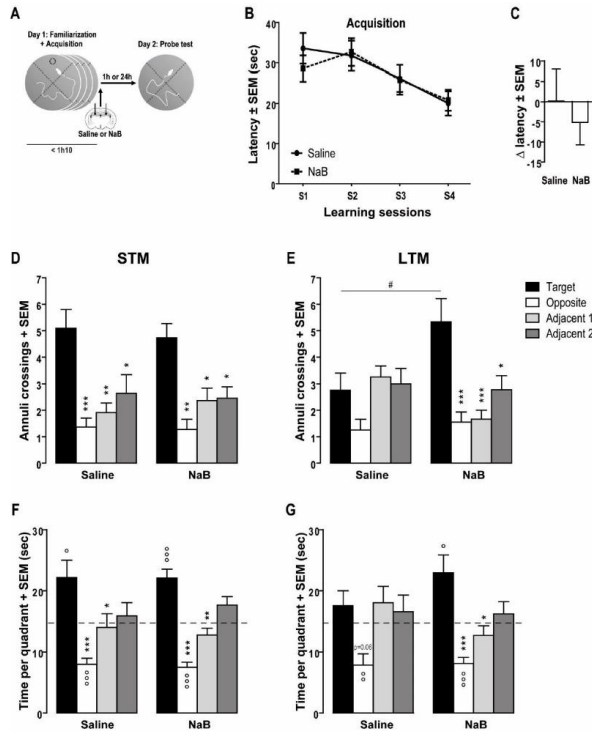


Figure 9. Injection intra-hippocampique d'un inhibiteur de HDAC après l'apprentissage favorise la mémoire spatiale à long terme. (A) Schéma de la procédure expérimentale. (B) Temps moyen (en secondes) pour trouver la plateforme lors des quatre sessions d'entraînement de la tâche spatiale du labyrinthe aquatique de Morris. Immédiatement après l'entraînement, les souris ont reçu une injection intra-hippocampique de solution saline (n=19) ou de NaB (n=20). (C) Différence de latences (Δ latence) entre la dernière session d'acquisition et la première traversée de la cible lors du test de mémoire réalisé à 24 heures. (D à G) Nombre de traversées d'annuli (+SEM) et temps passé dans chaque quadrant (+SEM) lors du test de mémoire réalisé 1h (D, F) ou 24h (E, G) après l'injection. D'après (Villain et al., 2016).

Nos données comportementales ont suggéré des mécanismes d'action similaires de l'inhibition des HDAC sur la consolidation de la mémoire et la reconsolidation. Cependant, nous ne pouvons pas affirmer que des mécanismes moléculaires identiques soient véritablement impliqués dans ces deux processus de la mémoire. De manière intéressante, les HDACs jouent un rôle dans la régulation de la transcription des gènes cibles de CREB tels que *cFos* et *Zif268 (Erg1)* pouvaient également être affectés par le traitement au NaB (Fass et al., 2003). L'inhibiteur des HDACs pourrait entraîner une altération de l'expression à la fois des gènes liés à la plasticité synaptique et de la mémoire spatiale, ce qui pourrait expliquer l'effet facilitateur observé dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire.

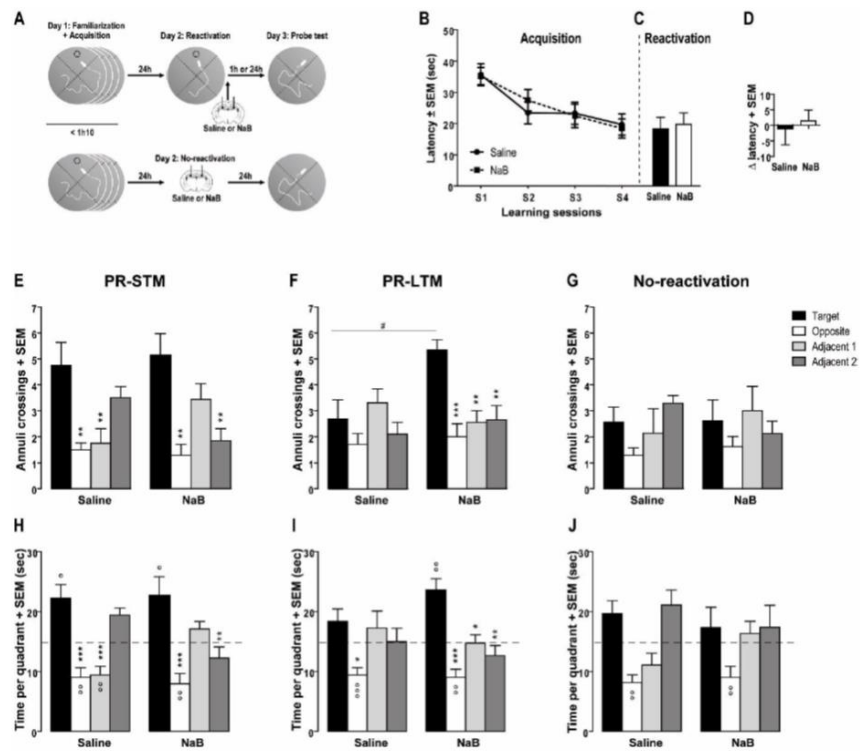
Figure 10. Injection intra-hippocampique d'un inhibiteur de HDAC après la réactivation favorise la mémoire spatiale à long terme post-réactivation. (A)

Schémas des procédures expérimentales.

Temps moyen (en secondes) pour trouver la plateforme lors des quatre séances d'apprentissage (B) et de l'essai de réactivation (C) de la tâche spatiale du labyrinthe aquatique de Morris.

Immédiatement après la réactivation, les souris ont reçu une injection intra-hippocampique de solution saline (n=18) ou de NaB (n=16). (D) Différence de latences (Δ latence) entre la dernière séance d'apprentissage et l'essai de réactivation.

(E à J) Nombre de traversées d'annuli (+SEM) et temps passé dans chaque quadrant (+SEM) lors du test de mémoire réalisé 1h (E, H) ou 24h (F, I) après la séance de réactivation, et sans réactivation (G, J). D'après (Villain et al., 2016).



Une hypothèse moléculaire, appelée l'hypothèse du "frein moléculaire" (molecular break pad hypothesis), affirme que les HDACs agissent comme un verrou transcriptionnel qui bloque l'expression des gènes liés à la mémoire (McQuown and Wood, 2011). Cette hypothèse stipule que ce verrou transcriptionnel peut être levé par des apprentissages suffisamment intenses permettant ainsi une activation spécifique des gènes pour former une mémoire à long terme stable. *A contrario*, un apprentissage modéré ne permet pas de lever cette inhibition de la transcription sur ces gènes de plasticité, empêchant ainsi la consolidation de la mémoire. Par contre, l'action d'un inhibiteur des HDACs associé à un apprentissage modéré, permet de lever de façon pharmacologique ce verrou transcriptionnel et de transcrire des gènes liés à la mémoire, aboutissant alors à une mémoire à long terme stable. Au niveau comportemental, nos résultats étaient cohérents avec une telle hypothèse et pouvaient indiquer que ce "frein moléculaire" peut également se produire lors de la réactivation de la mémoire.

En conclusion, cette étude a confirmé le rôle essentiel de l'acétylation des histones dans les processus de mémoire à long terme. Plus particulièrement, elle suggère que des mécanismes épigénétiques ne sont pas impliqués uniquement lors de la reconsolidation dans des tâches de conditionnement simples ou dans des conditions stressantes. En réalité, la reconsolidation de la mémoire dans une tâche cognitive telle qu'une tâche d'apprentissage spatial, dans laquelle les animaux doivent créer une

représentation complexe de l'environnement distal, est également favorisée par la régulation épigénétique dans la partie dorsale de l'hippocampe.

Ces résultats soutiennent le fait que la régulation de la transcription par les mécanismes d'acétylation des histones dans l'hippocampe est cruciale pour la phase de consolidation d'une mémoire spatiale, mais surtout pour sa reconsolidation. L'implication de ces processus épigénétiques pendant la reconsolidation n'est donc pas limitée à des apprentissages aversifs ou à des conditionnements simples, mais s'étend aussi aux mémoires plus complexes comme la mémoire spatiale.

1.2 Etude du complexe répresseur transcriptionnel SIN3A dans la mémoire à long terme

Après avoir démontré le rôle des HDACs dans les processus de mémorisation au niveau de l'hippocampe (Hawk et al., 2011; Villain et al., 2016), j'ai étudié la contribution du corépresseur transcriptionnel SIN3A, principal recruteur de l'activité HDAC, dans la mise en place de la mémoire à long terme.

La consolidation de la mémoire à long terme est dépendante de l'expression de gènes liés, entre autres, à une activité neuronale et non neuronale. C'est le cas des gènes précoces immédiats (cFos, Zif268), qui sont eux-mêmes régulés par des mécanismes épigénétiques tels que les modifications post-traductionnelles des histones (Fischer et al., 2010; Peixoto and Abel, 2013). Nous avons vu que le niveau d'acétylation des histones, associé à une activation transcriptionnelle, est augmenté pendant la consolidation de la mémoire (Levenson et al., 2004; Mahan et al., 2012; Maze et al., 2013). Les niveaux d'acétylation sont déterminés par l'activité des enzymes HAT et HDAC, qui sont recrutées sur la chromatine par des facteurs protéiques co-activateurs et corépresseurs de la transcription (Vecsey et al., 2007; Guan et al., 2009; McQuown and Wood, 2011). Par exemple, les HAT sont recrutés par le facteur de transcription CREB et les protéines co-activatrices CBP/p300 en réponse aux cascades de signalisation déclenchées par l'activité synaptique (Vo and Goodman, 2001). Le complexe CREB-CBP/p300 permet de réguler la transcription par le biais de l'activité HAT, ainsi que par l'association avec d'autres facteurs de transcription liés à la mémoire et la plasticité synaptique (Alarcón et al., 2004; Oliveira et al., 2007; Vecsey et al., 2007). En revanche, les HDACs et d'autres enzymes effectrices modifiant les histones sont recrutés par des protéines corépresseurs de la transcription (figure 11) telles que NCoR, SIN3A, MI-2 (NuRD) et CoREST (Schoch and Abel, 2014). Dans les neurones, les corépresseurs sont liés à la régulation dynamique et dépendante de l'activité de l'expression génique, et des composants spécifiques aux neurones des complexes corépresseurs ont également été décrits (Schoch and Abel, 2014), suggérant que ces protéines sont importantes dans la régulation de la plasticité dépendante de la transcription. Cependant, peu d'études ont directement abordé la fonction des protéines corépresseurs de la transcription dans la mémoire et la plasticité au niveau de l'hippocampe (en effet, la grande majorité des études ont été menées sur les HDACs). Ainsi, dans ce projet de

recherche, j'ai souhaité étudier le rôle du corépresseur transcriptionnel SIN3A dans les mécanismes de la mémoire.

SIN3A est une protéine corépresseur de la transcription hautement conservée entre les espèces et fortement exprimée dans tout le cerveau, à la fois dans les cellules neuronales et non neuronales. Grâce à son domaine d'interaction avec les histones (domaine HID), SIN3A recrute un ensemble de protéines de liaison aux histones comme RBAP46/48, les protéines de stabilisation SAP18/20 et SDS3, ainsi que les enzymes HDAC de la classe I, HDAC1 et HDAC2 (Silverstein and Ekwall, 2005; Grzenda et al., 2009). Quatre domaines (P1 à P4) permettent la liaison du complexe SIN3A-HDAC aux facteurs de transcription, aux facteurs de liaison à l'ADN et à d'autres protéines corépresseurs, facilitant ainsi le recrutement de SIN3A à la chromatine (figure 11). Les partenaires de liaison du complexe SIN3A-HDAC comprennent plusieurs facteurs liés à la fonction neuronale et à la cognition, notamment MEF2, MECP2, NCoR, REST et CoREST (Schoch and Abel, 2014). Certains partenaires de ce complexe, en particulier HDAC2, sont connus pour jouer le rôle de régulateurs de la mémoire et de la plasticité (Guan et al., 2009; Bahari-Javan et al., 2012). Récemment, des mutations ponctuelles présentent au niveau du gène codant pour la protéine SIN3A ont été observées chez des humains présentant un spectre autistique et des troubles intellectuels. De plus, l'inactivation du gène *Sin3a* chez des embryons de souris entraîne un retard et un dysfonctionnement dans le développement cortical (Witteveen et al., 2016).

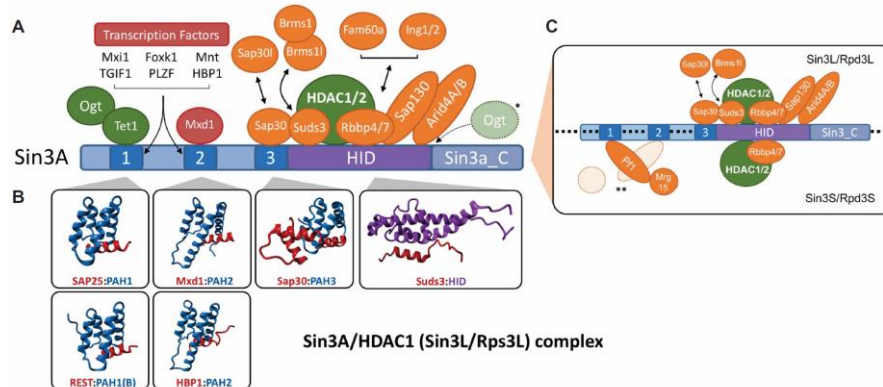


Figure 11. Représentation schématique du complexe Sin3A/HDAC. (A) Les chiffres indiquent les domaines PAH 1 à 3. HID, domaine d'interaction avec les HDAC 1 et 2 ; Sin3a_C, domaine C-terminal de Sin3A. La liaison des facteurs de transcription (en rouge) à Sin3A se produit principalement via PAH1 et 2. Les protéines associées à la chromatine sont colorées en orange et les enzymes en vert. (B) Les structures RMN des domaines PAH isolés liés au SID du facteur indiqué. Les domaines PAH sont représentés en bleu, les SID en rouge et les HID en violet. (C) Sin3 peut être subdivisé en deux complexes majeurs — Sin3L/Rpd3L (L — grand) et Sin3S/Rpd3S (petit). In vivo, le complexe Sin3A forme l'échafaudage du plus grand complexe Sin3L/Rpd3L, tandis que Sin3B remplit le même rôle dans le complexe Sin3S/Rpd3S (Adams et al., 2018).

L'inhibition pharmacologique des HDACs améliore de façon significative la mémoire à long terme et la potentialisation à long terme au niveau de l'hippocampe (Vo and Goodman, 2001; Levenson et al., 2004; Vecsey et al., 2007). Bien que plusieurs gènes régulés par l'acétylation aient été identifiés dans ces

études, il reste encore à définir les mécanismes qui sous-tendent cette facilitation de la plasticité synaptique et de la mémoire. De même, bien que HDAC2 soit identifié comme un régulateur négatif de la mémoire et de la plasticité dans l'hippocampe (Guan et al., 2009), les mécanismes par lesquels il est recruté vers ses cibles régulatrices pour finalement conduire à des changements dans la fonction synaptique ont reçu peu d'attention. De manière intéressante, le blocage du site de liaison de l'HDAC sur le corépresseur NCOR dans un modèle transgénique de souris reproduit l'effet des inhibiteurs de l'HDAC sur la mémoire, mettant en évidence le rôle crucial des corépresseurs dans le recrutement des régulateurs épigénétiques (McQuown and Wood, 2011). Dans l'objectif d'examiner la fonction du corépresseur transcriptionnel SIN3A dans le stockage de la mémoire et la plasticité synaptique, nous avons utilisé le système Cre-LoxP pour générer des souris exprimant conditionnellement une forme tronquée de la protéine SIN3A dans les neurones glutamatergiques du cerveau antérieur (Sin3acKO). Nous avons évalué la mémoire de ces souris mutantes (âgées de 3 mois) lors d'un test de conditionnement de peur. Nos résultats indiquent que la mutation du gène Sin3a conduit à une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la plasticité synaptique, tels que le gène Homer1 et Cdk5. Cette mutation provoque également une modification durable de la plasticité synaptique, en augmentant l'induction et le maintien de la potentialisation à long terme au niveau de l'hippocampe dorsal, et une amélioration de la mémoire à long terme contextuelle dans un test de conditionnement à la peur imitant les effets de l'administration aiguë d'inhibiteurs de l'HDAC. **L'ensemble de ces résultats a montré le rôle du corépresseur transcriptionnel SIN3A dans la consolidation de la mémoire à long terme chez la souris adulte (Bridi et al., 2020).**

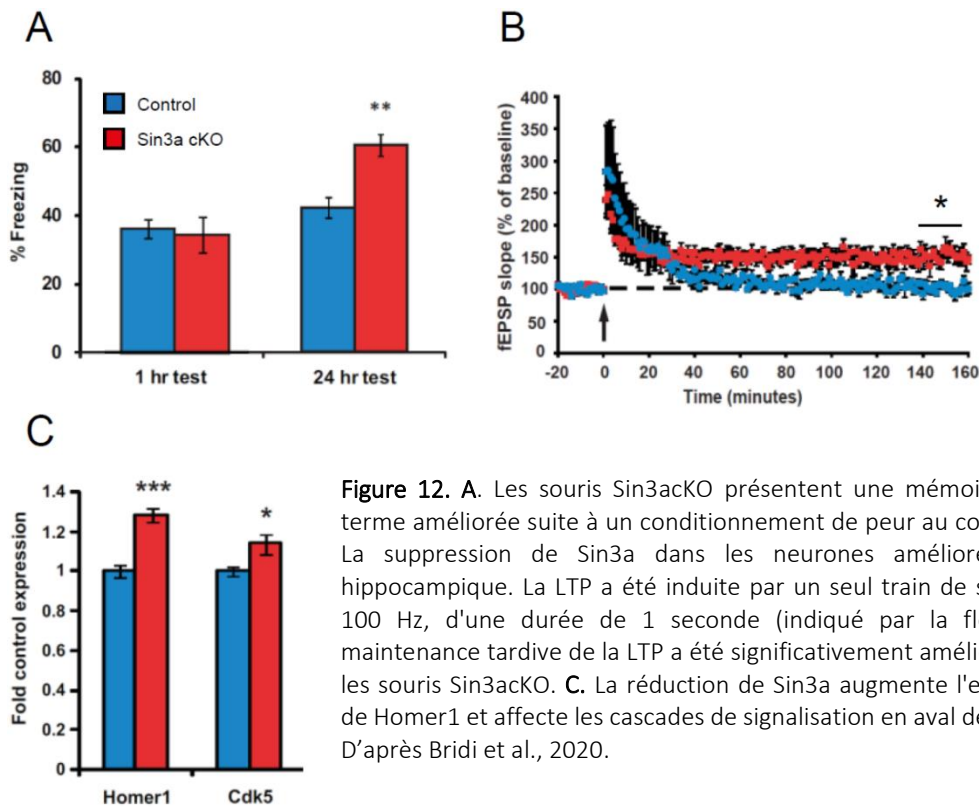


Figure 12. A. Les souris Sin3ackO présentent une mémoire à long terme améliorée suite à un conditionnement de peur au contexte. B. La suppression de Sin3a dans les neurones améliore la LTP hippocampique. La LTP a été induite par un seul train de stimuli de 100 Hz, d'une durée de 1 seconde (indiqué par la flèche). La maintenance tardive de la LTP a été significativement améliorée chez les souris Sin3ackO. C. La réduction de Sin3a augmente l'expression de Homer1 et affecte les cascades de signalisation en aval des mGluR. D'après Bridi et al., 2020.

1.3 Mise en place d'un nouveau modèle murin pour l'étude du rôle du corépresseur transcriptionnel SIN3A dans la mémoire à long terme chez la souris adulte et âgée

Ce projet a été mené par Célia Bak dans le cadre de sa thèse de que je co-encadre avec Claire Rampon. Ce projet visait à développer une approche innovante pour examiner le rôle du corépresseur transcriptionnel Sin3A dans les processus mnésiques chez la souris adulte et âgée.

Le premier objectif a été de mettre en place un nouveau modèle de souris déficient pour la protéine SIN3A au niveau de l'hippocampe dorsal et à l'âge adulte afin de confirmer nos travaux précédents. En effet, le modèle génétique murin précédemment décrit (Sin3ackO) exprimait une forme tronquée de la protéine SIN3A dans l'ensemble du cerveau antérieur (Bridi et al., 2020). Dans ce projet, notre objectif a été de restreindre une délétion de la forme totale de la protéine Sin3A à la région de l'hippocampe afin de préciser le rôle de cette protéine dans la formation de la mémoire spécifiquement dépendante de l'hippocampe.

Notre première approche a consisté à utiliser un siRNA (small interfering RNA) dirigés contre les transcrits de Sin3a, afin de cibler spécifiquement l'hippocampe mais aussi d'induire une diminution transitoire de la protéine, au moment de la consolidation de la mémoire à long terme. Néanmoins, nos résultats ont montré que les siRNA utilisés ne diminuaient pas les ARNm de Sin3a, ni la protéine elle-même.

Grace à une collaboration avec le Dr Ana Oliveira, travaillant à l'Institut de Neurobiologie du Centre Interdisciplinaire pour les Neurosciences (IZN) à Hiedelberg (Allemagne), nous avons développé 4 adénovirus AAV recombinants (rAAV) : l'un d'eux exprimant un shRNA contrôle (scrambled) et les trois autres exprimant des shRNA différents, tous ciblant les transcrits de Sin3a sous le contrôle d'un même promoteur (U6). L'ensemble de ces virus exprime la hrGFP sous le contrôle d'un promoteur CBA afin de visualiser leur diffusion au sein du cerveau. L'efficacité de chaque shRNA a été vérifiée au préalable *in vitro* par l'équipe du Dr Oliveira qui a montré une diminution des transcrits de Sin3a allant jusqu'à 50% du niveau du contrôle (figure 13).

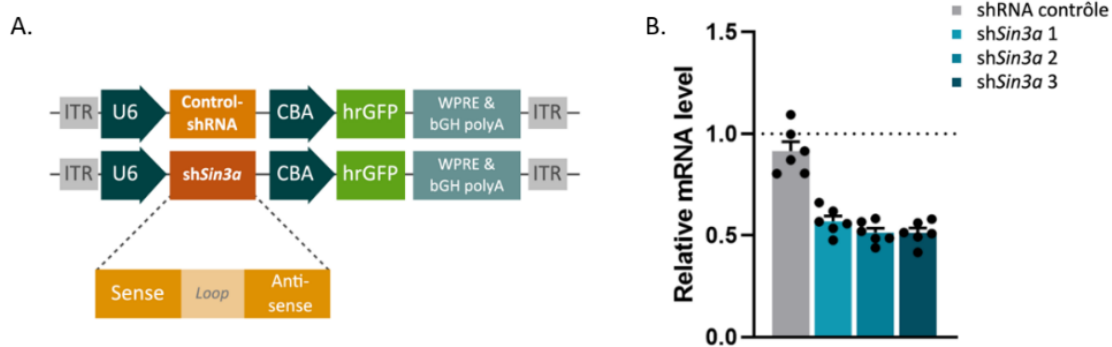


Figure 13. (A) Construction portée par les rAAV utilisés. Les shRNA sont exprimés sous contrôle d'un promoteur U6, la hrGFP est exprimée sous contrôle d'un promoteur CBA. **(B)** Analyse par RT-qPCR du knock down (KD) de Sin3a induit par les rAAV shSin3a sur des neurones en culture (moyenne \pm SEM) – Célia Bak©

Malheureusement ces shRNA n'ont pas permis pas de diminuer de façon significative les transcrits de Sin3a dans un contexte *in vivo*, c'est-à-dire lorsqu'ils étaient injectés dans l'hippocampe dorsal de souris C57Bl/6Jrj adulte (figure 14). Il reste encore des questions sans réponses, notamment sur la demi-vie de la protéine SIN3A dans une cellule nerveuse mature, sur sa dynamique fonctionnelle au sein du complexe répresseur de la transcription, sur ses partenaires, rendant difficile la validation d'un modèle d'étude.

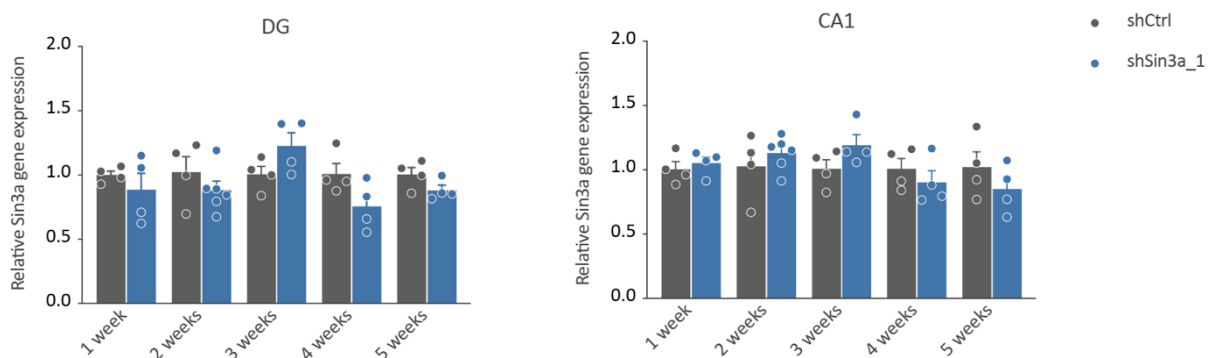


Figure 14. Suite à une injection intra-hippocampique de rAAV exprimant soit des shRNA ciblant les transcrits de Sin3a (shSin3a_1) ou son contrôle (shCtrl), nous avons quantifié par RTqPCR le nombre de transcrits Sin3a dans deux régions de l'hippocampe dorsal, le gyrus denté (DG) et la région CA1, à différents délais post-injection (1 à 5 semaines) – Célia Bak©.

Malgré le fait que nous n'ayons pas réussi à valider les rAAV sur la cible Sin3A, nous avons pu néanmoins montrer que la diffusion de ces virus dans l'hippocampe dorsal de souris adultes entraîne une augmentation significative de leur mémoire à long terme dans le test de conditionnement de peur (figure 15B), confirmant ainsi le rôle de SIN3A dans les processus mnésiques en corroborant nos résultats précédents (Bridi et al., 2020).

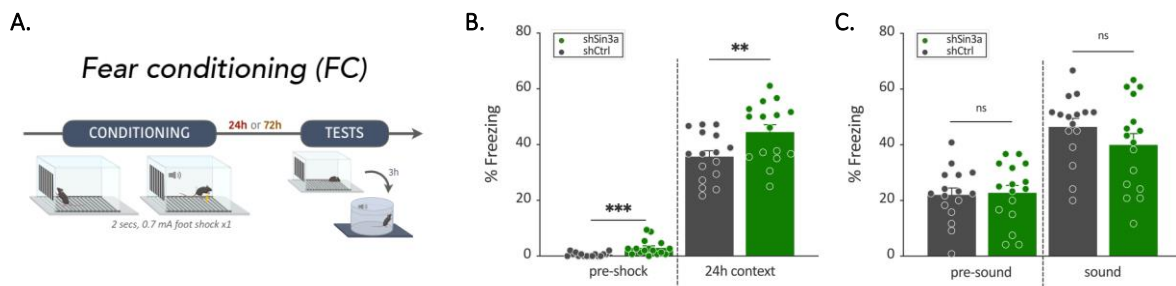


Figure 15. (A) Protocole expérimental du test de conditionnement de peur au contexte. **(B)** Réponse de peur (% de freezing) des souris adultes injectées avec le rAAV exprimant des shRNA ciblant les transcrits de Sin3a (shSin3a) ou un shRNA contrôle (sh Ctrl) avant l'induction du choc électrique (pre-shock) lors du conditionnement et lors du test de mémoire réalisé 24h après le conditionnement (24h context). **(C)** Réponse comportementale de peur (% de Freezing) des animaux placés dans un contexte différent de celui de l'apprentissage. ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ – Célia Bak©.

Suite à de nombreux essais techniques et méthodologiques au cours desquels nous n'avons pas réussi à bloquer l'expression du gène Sin3a dans l'hippocampe dorsal de souris C57Bl/6Jrj adulte, pour étudier son rôle dans la mémoire dépendante de l'hippocampe, j'ai donc décidé de suspendre ce travail, du moins temporairement.

1.4 Etude du circuit neuroanatomique sous-tendant la réponse comportementale de peur innée chez la souris adulte et âgée

Parallèlement au projet précédent, Célia Bak a développé dans le cadre de sa thèse une étude consacrée à la réponse de peur innée, déclenchée par divers stimuli visuels, qui provoquent des comportements de défense indépendamment des expériences passées de l'individu avec le stimulus en question (Yilmaz & Meister, 2013). En d'autres termes, le stimulus n'a pas été préalablement associé à une menace ou un danger. Les stimuli déclencheurs de cette réponse peuvent être liés à des prédateurs, mais aussi à des congénères agressifs, à la douleur, ou même à des caractéristiques de l'environnement telles que la hauteur.

Le conditionnement de la peur est largement utilisé dans l'étude du comportement défensif émotionnel chez les rongeurs. Il s'agit d'un paradigme d'apprentissage robuste dans lequel les animaux apprennent l'association d'un stimulus neutre (stimulus conditionné, CS, généralement une lumière ou un son) avec

un stimulus inconditionnel aversif concomitant (US, généralement une légère décharge électrique au niveau des pattes). Un des conditionnements de peur les plus utilisés dans l'apprentissage et la mémoire est le paradigme du conditionnement auditif à la peur, dans lequel un son, initialement neutre, est associé à un choc électrique. Après l'acquisition de l'association CS-US, les rongeurs présentent des réponses défensives conditionnées lors de la réexposition au CS, notamment une réaction d'immobilisation complète appelée comportement de « freezing » (immobilité totale de l'animal à l'exception des mouvements respiratoires). Bien que la plupart des recherches menées dans le domaine de la peur chez les rongeurs aient porté sur la peur apprise, des réponses défensives peuvent être observées spontanément, y compris en conditions de laboratoire, chez des souris nées en laboratoire et naïves. En effet, des réponses de peur telles que le « freezing », par exemple, peuvent être observées sans un apprentissage préalable de l'association CS-US.

Contrairement à la peur apprise, on parle de peur innée lorsqu'il n'est pas nécessaire d'établir une association entre un stimulus neutre et un résultat négatif pour considérer le stimulus comme une menace et observer des réponses défensives. La peur innée regroupe la peur des prédateurs, des congénères agressifs et des stimuli internes tels que l'asphyxie ou l'étouffement. Les réponses comportementales de peur généralement observées en réponse aux menaces innées sont la fuite - définie comme une échappée rapide loin de la menace pouvant être dirigée vers un abri -, le « freezing », et la lutte (« fight »). Les menaces innées peuvent être détectées par une multitude de modalités sensorielles telles que l'odorat, la vision, le goût, l'ouïe, ou une combinaison de sens. En conditions de laboratoire, il a été démontré que des souris naïves présentent des réponses de peur à l'odeur d'urine de renard, à la présence de rats ou de chats, à un stimulus visuel menaçant ou à un son aversif.

La plupart des animaux montrent des réponses de fuite à une menace approchante ou imminente (Blumstein, 2006), en particulier si une voie de fuite et un abri sûr sont disponibles (Blanchard et al., 1993).

L'objectif de cette étude a été de créer une cartographie des zones cérébrales activées en réponse à la peur innée et de comparer ces schémas d'activation entre des souris adultes (3 à 4 mois) et des souris plus âgées (23 à 25 mois). Pour provoquer cette réponse de peur innée, nous avons exposé les souris à des stimuli de "Looming", simulant l'approche rapide d'un prédateur. Il s'agit de faire apparaître dans le dispositif, un disque noir qui grandit rapidement au-dessus de l'animal, imitant l'attaque d'un oiseau de proie. Ces stimuli ont été présentés dans une arène avec un abri, incitant principalement les souris à fuir vers l'abri.

Les souris étaient d'abord laissées libres dans l'arène pendant 5 minutes, et elles pouvaient déclencher les stimuli en passant par une zone centrale de l'arène. Les souris "Témoins" (« Control ») n'étaient exposées à aucun stimulus et passaient seulement 5 minutes dans l'arène. Une fois le stimulus terminé,

les animaux étaient retirés de l'arène et leur cerveau était prélevé 90 minutes après le début de leur passage. Une immunohistochimie contre la protéine c-fos, un marqueur de l'activation neuronale, a été ensuite réalisée sur des coupes issues des cerveaux prélevés. Le marquage c-fos a permis de réaliser une cartographie de l'activité des régions cérébrales (heat maps) et d'identifier ainsi les structures impliquées dans cette réponse de peur innée.

Les résultats ont montré que les souris adultes C57Bl/6Jrj (âgées de 3-4 mois) réagissaient aux stimuli de looming en fuyant systématiquement vers l'abri. En revanche, les souris plus âgées (âgées de 20-24 mois) présentaient principalement une réponse de "freezing" sans fuir vers l'abri. Face à ces différences de comportement entre les souris adultes et âgées, nous avons cherché à déterminer si les cartographies d'activation neuronale différaient également en fonction de l'âge. Les résultats obtenus chez les souris adultes ont montré une forte corrélation dans l'activation des trois noyaux de l'amygdale (amygdale basolatérale, amygdale centrale et amygdale latérale) en réponse aux stimuli de looming, corrélation qui n'était pas observée dans le groupe « témoin » (figure 16).

Concernant les souris âgées, nous avons montré une cartographie différente de celles des adultes, ce qui pourrait en partie expliquer que les souris âgées montrent une réponse de peur innée différente (figure 17).

Cette étude visait à étudier l'effet de l'âge sur un comportement défensif inné en réponse à un stimulus menaçant et si ces réponses comportementales sont associées à des modifications de l'activité des structures cérébrales. Nous avons montré que les souris âgées manifestent davantage de comportements de freezing plutôt que de fuite vers un abri lorsqu'elles sont confrontées à ce stimulus menaçant visuel, tandis que les souris jeunes présentent une réponse de fuite robuste. Suite à la présentation du stimulus, les souris âgées montrent une augmentation de l'activation cellulaire uniquement dans le BLA et le dlPAG, tandis que les souris jeunes présentent des modifications de l'activité dans l'hippocampe (DG et CA3), les noyaux amygdaliens (BLA et LA), le LPTN et le dlPAG. De plus, la connectivité cérébrale fonctionnelle est altérée chez les souris âgées en réponse à un stimulus menaçant.

En conclusion nous avons montré que 1) la réponse de peur innée était différente en fonction de l'âge, et que 2) les structures amygdaliennes impliquées dans la peur apprise (comme le conditionnement de peur) sont également sollicitées lors de la peur innée, du moins chez l'adulte. Ce travail fait l'objet d'une publication soumise au Journal *Neurobiology of Aging* (Back et al., submitted).

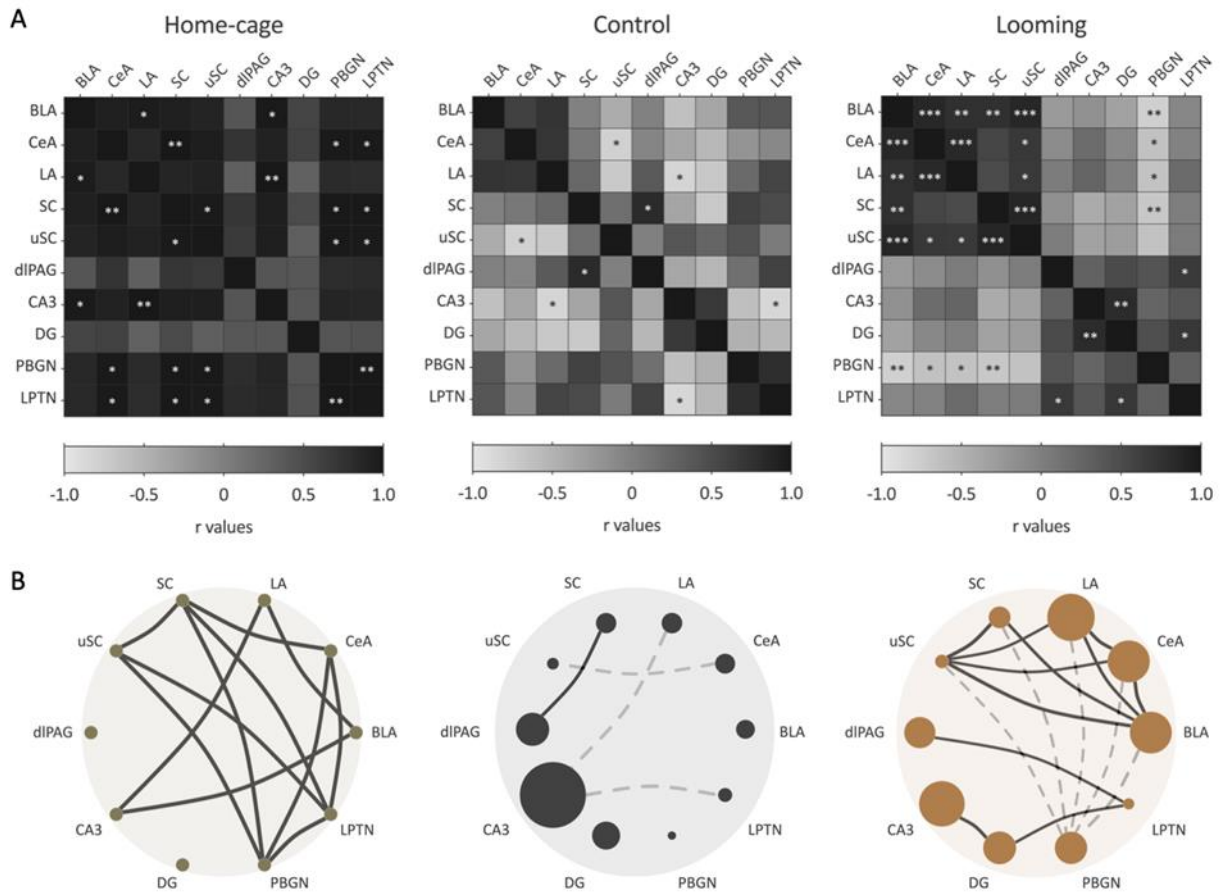


Figure 16. Matrice de corrélation et réseaux de connectivité cérébrale fonctionnelle recrutés par les stimuli menaçants chez de jeunes souris adultes (3 à 4 mois). **A.** Analyse de corrélation de l'expression de c-Fos entre les régions cérébrales des jeunes animaux dans les groupes "Home-cage", "Témoin" (Control) et "Looming". La couleur de chaque case représente le coefficient de corrélation de Pearson (les valeurs de r vont de -1 à 1) selon les régions cérébrales comparées. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. **B.** Les représentations en réseau pour chaque matrice de corrélation montrent uniquement des corrélations positives significatives (traits noirs pleins) ou négatives (traits gris en pointillés). Chaque structure cérébrale est représentée par un cercle dont la taille représente le changement relatif de densité cellulaire c-Fos+ entre les conditions expérimentales (« Control » et « Looming ») et la condition en cage d'élevage (« Home-cage »). L'épaisseur du lien représente la valeur de r de la corrélation. LA (amygdale latérale), CeA (amygdale centrale), BLA (amygdale baso-latérale), LPTN (noyau thalamique postérieur latéral), PBGN (noyau parabigéminale), DG (gyrus denté de l'hippocampe dorsal), CA3 (région CA3 de l'hippocampe dorsal), dIPAG (substance grise périaqueducale dorso-latérale), uSC (couches supérieures du colliculus supérieur), SC (colliculus supérieur) – Célia Bak©.

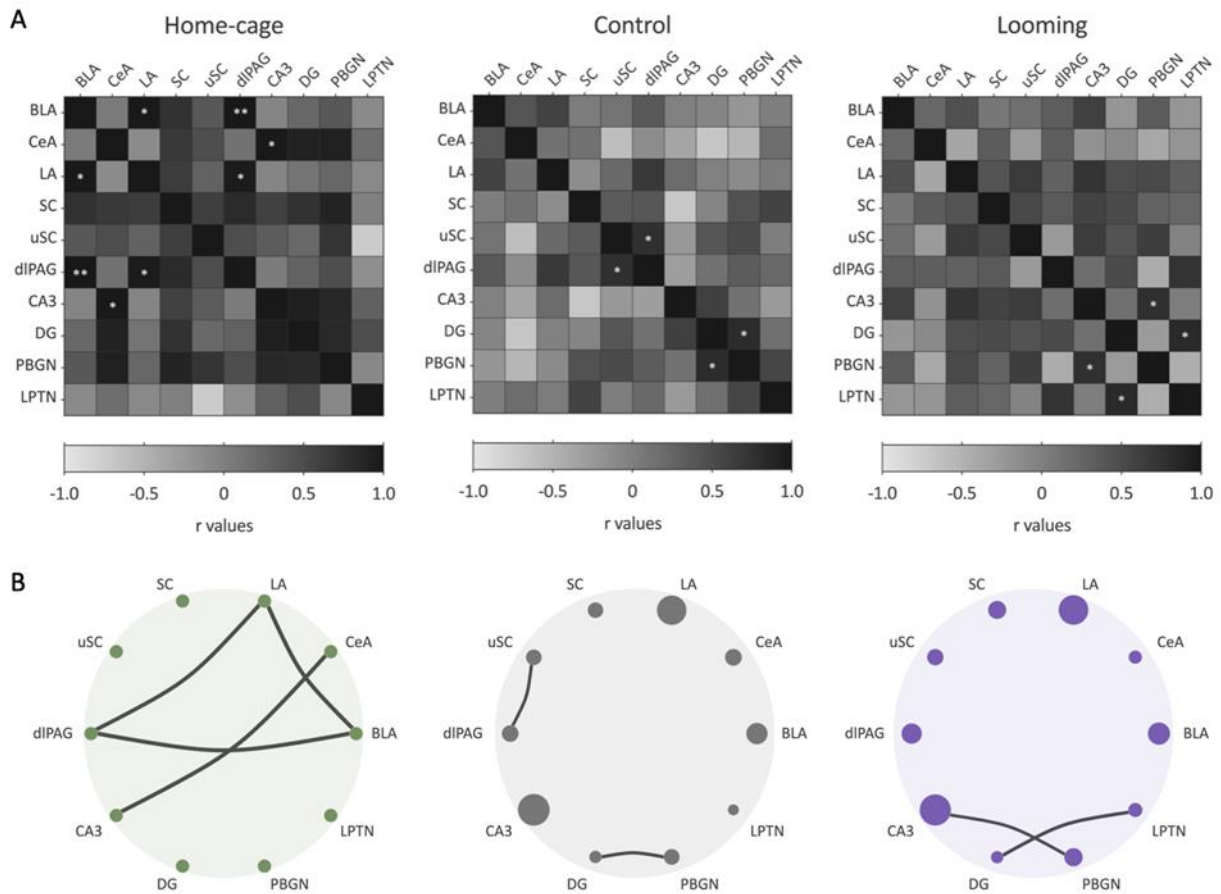


Figure 17. Matrice de corrélation et réseaux de connectivité cérébrale fonctionnelle recrutés par les stimuli menaçants chez les souris âgées (23 à 25 mois). **A.** Analyse de corrélation de l'expression de c-Fos entre les régions cérébrales des souris âgées dans les groupes « Home-Cage », « Control » (Témoin) et « Looming ». La couleur de chaque case représente le coefficient de corrélation de Pearson (allant de -1 à 1) selon les régions cérébrales comparées. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. **B.** Les représentations en réseau pour chaque matrice de corrélation montrent uniquement les corrélations positives significatives. Chaque structure cérébrale est représentée par un cercle dont la taille représente le changement relatif de densité cellulaire c-Fos+ entre les conditions expérimentales (« Control » et « Looming ») et la condition en cage d'élevage (« Home-cage »). L'épaisseur de la ligne représente la valeur de corrélation r . LA (amygdale latérale), CeA (amygdale centrale), BLA (amygdale baso-latérale), LPTN (noyau thalamique postérieur latéral), PBGN (noyau paraventriculaire), DG (gyrus denté de l'hippocampe dorsal), CA3 (région CA3 de l'hippocampe dorsal), dlPAG (substance grise périaqueducale dorso-latérale), uSC (couches supérieures du colliculus supérieur), SC (colliculus supérieur) – Célia Bak©.

Bien que nous ayons une compréhension relativement solide des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les mémoires de peur apprise, telles que le conditionnement de peur à un contexte, de nombreuses questions subsistent encore concernant les mécanismes moléculaires sous-jacents aux réponses de peur innée. Par exemple, comment les marques épigénétiques contribuent-elles au maintien des comportements innés, comme observé dans une tâche de Looming ? De plus, comment ces réponses comportementales non acquises sont-elles transmises à travers les générations ? Dans une étude récente menée par Bravo-Rivera et al. (2020), les chercheurs ont examiné la réaction de macaques rhésus vivant en liberté face à un serpent en caoutchouc placé dans une boîte contenant

de la nourriture. Les singes ont observé le serpent pendant un certain temps pour évaluer les risques liés à l'obtention de la récompense alimentaire, étant donné leur peur innée des serpents. Les résultats ont montré que les singes plus âgés étaient moins timorés face au serpent en plastique que les individus plus jeunes, et que cette différence de comportement était associée à différents profils de méthylation de l'ADN. À ma connaissance, aucune étude n'a encore exploré le rôle des mécanismes épigénétiques dans les mémoires de peur innée et les réponses adaptatives associées chez les rongeurs, la plupart se concentrant plutôt sur les mécanismes de la peur acquise lors de tâches de conditionnement à la peur

1.5 Etude du rôle du complexe de corépression transcriptionnelle REST dans l'apparition des déficits de mémoire liés à la maladie d'Alzheimer

Projet « TCORAD : Deciphering the role of REST-transcriptional corepressor complex in the onset of Alzheimer's disease-related memory deficits ». Ce projet, dont je suis le porteur, a reçu un soutien financier de la fondation France Alzheimer (2024-2026).

REST (restrictive element-1 silencing transcription factor) est un régulateur transcriptionnel majeur agissant par le biais d'un remodelage épigénétique. En tant que protéine échafaudage, REST est associée à des protéines et enzymes nucléaires telles que CoREST, Sin3A et HDAC1/2. Ensemble, ils forment un complexe de corépression transcriptionnelle qui réprime activement un grand nombre de gènes spécifiques des neurones et qui favorise le remodelage structurel, la plasticité synaptique et la formation de la mémoire (Ballas et al., 2005; Hwang et al., 2017). Au cours du vieillissement, REST favorise la neuroprotection en réprimant les gènes impliqués dans le stress oxydatif et la toxicité de l'amyloïde- β .

Des études récentes indiquent que la dérégulation de REST et du remodelage épigénétique dépendant de REST est un mécanisme central essentiel aux processus neurodégénératifs associés à des troubles, notamment la maladie d'Alzheimer (Lu et al., 2014; Hwang and Zukin, 2018).

L'objectif principal de ce projet est d'étudier le rôle du complexe corépresseur REST dans l'apparition et la progression des déficits de mémoire dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer.

Comme illustré sur la Figure 18, REST se lie à l'élément RE1/NRSE des gènes cibles et recrute CoREST et Sin3A. À leur tour, ils recrutent des HDAC1/2, qui déacétylation des histones et provoque la répression de la transcription. Il est intéressant de noter que le blocage de l'activité des HDAC dans l'hippocampe de divers modèles murins de la maladie d'Alzheimer abolit leurs déficits de mémoire et rétablit l'acétylation des histones dans l'hippocampe (Lassalle et al., 2008; Ricobaraza et al., 2009; Gräff et al., 2012; Janczura et al., 2018). Bien qu'il soit clair que le corégulateur transcriptionnel REST soit impliqué

dans le déclin cognitif lié à l'âge (Lu et al., 2014), son rôle dans la maladie d'Alzheimer reste en grande partie non résolu.

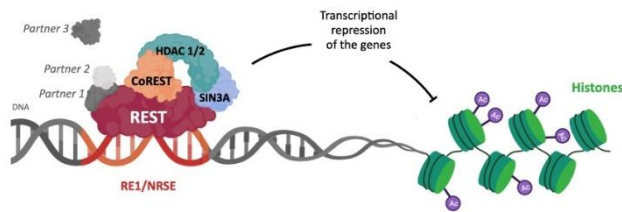


Figure 18. Représentation schématique des interactions entre la protéine REST et ses partenaires corépresseurs au niveau de la molécule d'ADN.

Pour aborder cette question, nous utiliserons le modèle murin Tg2576 (APP^{swe}) de la maladie d'Alzheimer, largement caractérisé dans notre équipe à la fois au niveau comportemental et cellulaire (Lassalle et al., 2008; Krezymon et al., 2013; Verret et al., 2013; Cattaud et al., 2018). Cette lignée de souris présente l'avantage de développer des déficits de mémoire spatiale à long terme de manière progressive et liée à l'âge (Ricobaraza et al., 2009; Verret et al., 2013) qui « imite » la pathologie de la maladie chez l'humain. Cela nous permettra d'examiner si les altérations du complexe REST précèdent ou non le développement des déficits de mémoire chez les souris Tg2576. Les souris seront étudiées à une étape asymptomatique (3 mois) et lorsque des déficits de mémoire graves et des plaques amyloïdes sont présents (10 mois).

Étant donné que la maladie d'Alzheimer présente une prévalence plus importante chez les femmes, nous comparerons les mâles et les femelles. Le projet TCORAD tourne autour de trois objectifs principaux qui abordent la question de la contribution du complexe corépresseur transcriptionnel REST aux déficits de mémoire dans la maladie d'Alzheimer et remettent en question l'impact du génotype, de l'âge et du sexe.

Le **premier objectif** sera de caractériser le complexe REST au cours de la progression de la maladie. Nous comparerons le profil du complexe REST chez les souris transgéniques et non transgéniques mâles et femelles à des stades clés de la maladie (3 et 10 mois). Pour ce faire, nous comparerons les profils transcriptomiques et protéomiques de REST et de ses partenaires de corépression connus dans l'hippocampe (siège des processus de mémoire déclarative) de ces souris. Nous avons également l'intention de réaliser des expériences de co-immunoprécipitation (Co-IP) couplées à la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) pour identifier tous les partenaires du complexe REST (figure 19). Ce travail est actuellement réalisé par Elsa Moise lors de son stage de recherche de Master 2 Neurosciences (période : janvier-mai 2024).

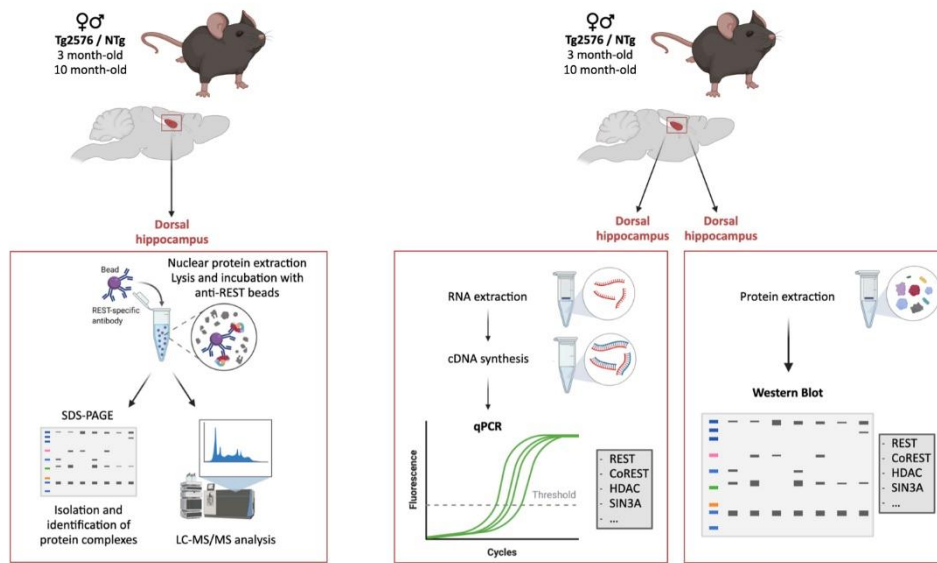


Figure 19. Approches méthodologiques pour caractériser le complexe REST dans l'évolution de la pathologie Alzheimer dans le modèle murin Tg2576.

Notre **deuxième objectif** permettra d'étudier le rôle spécifique du complexe REST dans le déclin cognitif lié à l'âge. Nous examinerons si la suppression ou la surexpression de REST et de ses partenaires empêchent les déficits de mémoire spatiale dans notre modèle murin de la maladie d'Alzheimer. Nous déploierons une stratégie virale qui consistera à modifier l'expression de gènes qui codent pour la protéine REST ou l'un des partenaires protéiques du complexe REST dans l'hippocampe des souris Tg2576. La mémoire spatiale des souris injectées sera évaluée à 3 et 10 mois. Ensuite, une analyse transcriptomique de l'hippocampe sera effectuée à l'aide de la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR). Nous nous concentrerons sur les gènes liés à la mémoire et à la plasticité synaptique, et les données moléculaires seront analysées en fonction des performances comportementales des individus (figure 20). Une partie de ce travail est réalisé par Elsa Moise lors de son stage de recherche de Master 2 Neurosciences (période : janvier-mai 2024) et par Zoé Castagnet lors de son stage de Master Neurosciences (période : mars-avril 2024).

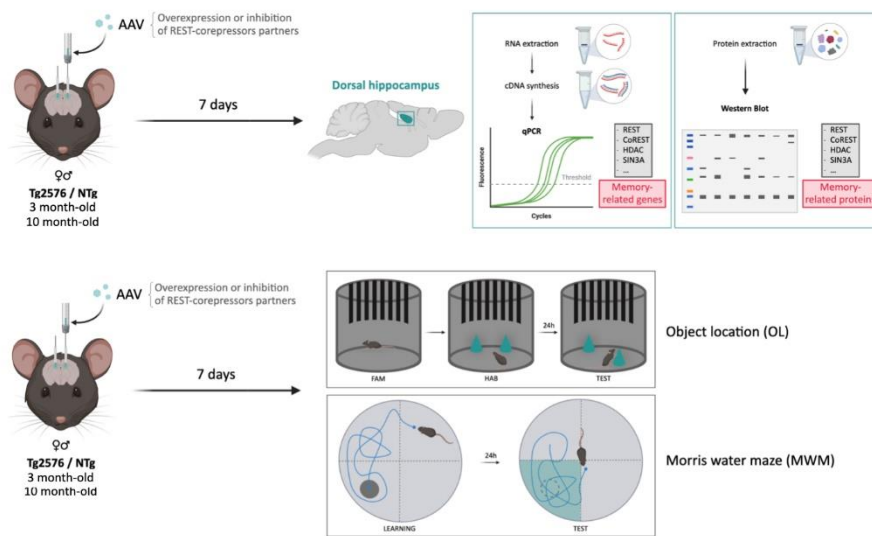


Figure 20. Evaluation des performances de mémoire suite à une manipulation de l'expression de REST et de ses partenaires le modèle murin Tg2576.

Le **troisième objectif** permettra de déterminer si un séjour temporaire dans un environnement enrichi (EE) modifie l'expression des partenaires du complexe REST chez les souris femelles Tg2576. Nous évaluerons l'impact de l'exposition précoce (3 mois) ou tardive (10 mois) à l'EE chez les souris Tg2576 sur la modulation du complexe REST. Les souris Tg2576 et NTg âgées de 3 et 10 mois (EE3m et EE10m, respectivement) seront exposées à l'EE pendant 10 jours avant d'être soumises à des tâches de mémoire. Un second groupe de souris EE3m et EE10m sera généré pour étudier le remodelage de la chromatine dans l'hippocampe. Les niveaux d'expression des partenaires de REST et des gènes/protéines liés à la mémoire seront analysés (figure 21).

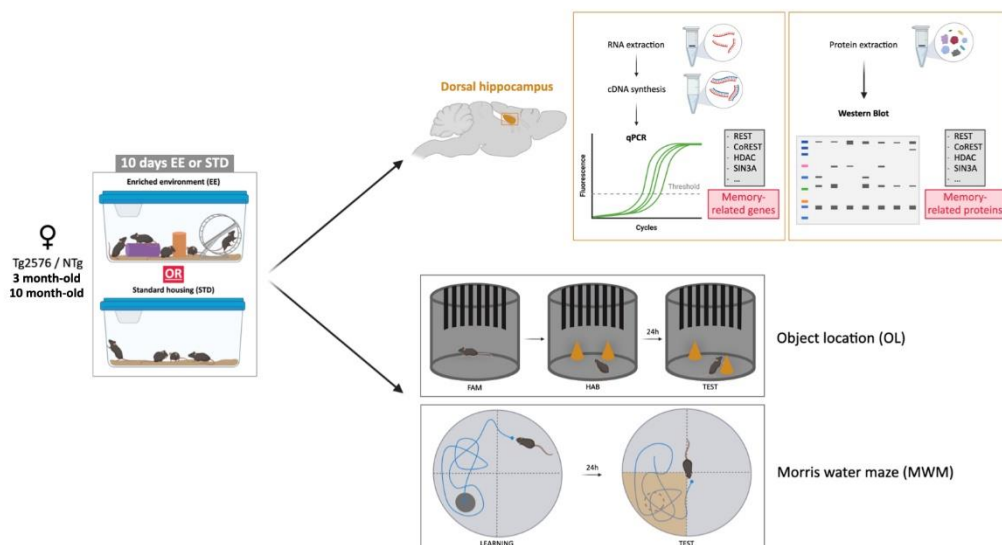


Figure 21. Evaluation des performances de mémoire suite à une exposition transitoire des souris Tg2576 dans un milieu enrichi.

Nous avons précédemment montré que les souris Sin3AcKO mâles et femelles âgées de 3 mois, portant une délétion du corépresseur Sin3A, présentaient une meilleure mémoire à long terme suite à un conditionnement à la peur (Bridi et al., 2020). Au niveau cellulaire, ces souris Sin3AcKO présentaient une expression plus élevée de gènes liés à la plasticité synaptique. De plus, nos données préliminaires semblent indiquer que les souris Sin3AKO âgées (18-20 mois) de sexe masculin et féminin présentent également de meilleures performances en mémoire à long terme dans un autre paradigme d'apprentissage dépendant de l'hippocampe, comme la reconnaissance spatiale des objets. Ces données préliminaires suggèrent alors que la protéine SIN3A pourrait agir comme un facteur limitant dans les processus cognitifs, soulevant la possibilité que des stratégies visant à atténuer l'action des systèmes de corépression transcriptionnelle associés à SIN3A puissent être pertinentes pour améliorer la mémoire dans le contexte de la maladie d'Alzheimer.

Les HDAC, et plus particulièrement HDAC1 et 2, sont également associés au complexe REST pour réguler négativement l'expression des gènes. De manière intéressante, l'expression de HDAC2 est augmentée dans les neurones de l'hippocampe des patients atteints de la maladie d'Alzheimer et dans deux modèles murins de la pathologie (Gräff et al., 2012). De plus, plusieurs rapports ont montré des altérations des protéines d'histones dans cette maladie neurodégénérative. Par exemple, la phosphorylation de l'histone H3 est augmentée dans les neurones de l'hippocampe des patients atteints de maladie d'Alzheimer (Ogawa et al., 2003). De plus, l'acétylation de l'histone H4 est réduite dans le cortex frontal des souris Tg2576 de 16 mois par rapport aux souris contrôles NTg (Ricobaraza et al., 2009). Malgré les preuves croissantes indiquant une altération des modifications post-transcriptionnelles des histones concomitantes avec les déficits de mémoire dans la maladie d'Alzheimer, il reste encore à découvrir comment l'altération de ces mécanismes épigénétiques survient au cours de la maladie. Dans ce contexte, le projet TCORAD vise d'abord à caractériser l'organisation et la fonction du complexe REST au début de la maladie d'Alzheimer dans un modèle murin de la pathologie. Ensuite, un deuxième objectif sera de dévoiler la contribution spécifique de REST et de ses partenaires de corépression tout au long de la progression du déclin de la mémoire au cours de la maladie d'Alzheimer. La région cérébrale d'intérêt pour cette étude est l'hippocampe dorsal, une région cruciale pour la mémoire déclarative (spatiale) et où nous avons déjà décrit de nombreuses modifications cellulaires anormales et des altérations liées à la maladie d'Alzheimer.

Enfin, notre projet visera à examiner si l'établissement d'une réserve cognitive, connue pour modifier la relation entre les caractéristiques pathologiques et la cognition chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer, modifie également le profil transcriptionnel de l'hippocampe des souris atteintes par cette pathologie. Nous avons précédemment signalé que l'exposition temporaire des femelles Tg2576 à un environnement enrichi (EE) à un stade asymptotique (3 mois) réduit de manière robuste et constante la gravité des déficits de mémoire liés à la MA habituellement observés à 13 mois (Verret et al., 2013).

Forts de nos données non publiées montrant que des effets cognitifs bénéfiques similaires sont obtenus après seulement 10 jours d'EE, nous étudierons maintenant l'influence de l'exposition de 10 jours à l'EE sur la fonction du complexe de corépression REST chez les souris Tg2576, en relation avec ses conséquences sur les processus cognitifs. Le comportement agressif des mâles dans des conditions d'EE les empêche d'être étudiés dans cette expérience spécifique. Nous nous attendons à démontrer que le complexe REST peut être positivement influencé par l'EE et que cela peut contribuer à retarder l'apparition des déficits de mémoire dans le modèle murin Tg2675 de la maladie d'Alzheimer.

Nous prévoyons de démontrer que le remodelage épigénétique lié à l'âge est impliqué dans l'apparition des déficits cognitifs. Nous prédisons que nos manipulations ciblées *in vivo* des corépresseurs transcriptionnels modifieront le cours de la progression de la maladie d'Alzheimer, en particulier au niveau cognitif. Cela révélera des liens de causalité entre la régulation altérée de la transcription des gènes dans l'hippocampe et les déficits mnésiques au cours de la maladie. Plus précisément, nous nous attendons à ce que l'expression des corépresseurs REST et de ses partenaires associés dans l'hippocampe soit affectée de manière différentielle par l'apparition de la maladie chez les souris Tg2576 de sexe masculin et féminin. Il est difficile d'anticiper les résultats des expériences, mais nous prévoyons une augmentation de l'expression de Sin3A et de HDAC corrélée avec un taux élevé de HDAC à partir du stade sévère de la maladie (à 10 mois, lorsque le déclin cognitif est observé chez les souris Tg2576). Une réduction de l'expression de REST (et peut-être de CoREST) à l'âge de 10 mois serait également attendue, comme cela a déjà été montré précédemment (Lu et al., 2014).

Suite à la stratégie de ciblage génétique par voie virale conçue pour réprimer Sin3A ou surexprimer REST dans l'hippocampe des souris atteintes de maladie d'Alzheimer, nous nous attendons à observer une amélioration des performances de mémoire spatiale de ces souris. Le travail précédent de l'équipe a démontré la capacité de la stratégie de ciblage génétique à rétablir les déficits de mémoire dans les modèles murins de maladie d'Alzheimer (Richetin et al., 2015).

Enfin, nous nous attendons à ce que l'exposition des souris à l'EE modifie l'expression des corépresseurs REST et Sin3A chez les souris Tg2576 après le début de la pathologie, ce qui préviendrait les déficits de mémoire spatiale. Dans l'ensemble, nos résultats permettront de mieux comprendre le rôle éventuel du complexe corépresseur REST dans la maladie d'Alzheimer et le déclin cognitif lié à l'âge.

1.6 Perspectives et réflexion sur la « mémoire transcriptionnelle »

Pendant plus de 15 ans je me suis focalisé sur les mécanismes moléculaires de la mémoire à long terme en abordant plusieurs aspects et utilisant différentes approches et modèles. Il est désormais admis que les répresseurs transcriptionnels, à l'image des coactivateurs de la transcription comme le facteur CREB, CBP/p300, participent à la mise en place de la mémoire à long terme. Il reste néanmoins encore des

pistes de réflexions et d'investigations à aborder pour comprendre un peu mieux l'implication de ces complexes répresseurs de la transcription dans la consolidation de la mémoire. Nous avons tenté lors de la thèse de doctorat de Célia Bak de répondre à certaines questions sur l'implication de la protéine SIN3A dans la mémoire à long terme, mais malheureusement nous nous sommes heurtés à des difficultés techniques qui ne nous ont pas permis de valider notre modèle d'étude. Il reste encore tant de questions sans réponses notamment sur la demi-vie de cette protéine dans un neurone ou une cellule nerveuse mature, rendant ainsi difficile la mise en place d'une stratégie pour altérer son fonctionnement dans le cerveau.

Je souhaiterais pour l'avenir développer davantage de projets de recherches qui visent à comprendre comment les formes de mémoires et les traces mnésiques (engrammes) peuvent évoluer et/ou être modifiées au cours du temps par divers facteurs environnementaux comme l'alimentation, l'activité physique, les interactions sociales, etc... dans un cerveau sain et vieillissant. En effet, il est désormais admis que les circuits neuronaux sont façonnés par l'expérience au cours des périodes critiques du développement, ce qui permet notamment aux individus d'adapter leur comportement à l'environnement qui les entoure. En particulier les modifications épigénétiques induites par l'activité neuronale modulent l'accessibilité de l'ADN, altérant ainsi les profils d'expression génique et, par conséquent, les niveaux de plasticité cérébrale. La configuration de base de la chromatine est constamment mise à jour par les expositions environnementales au cours de la vie de l'individu (Fraga et al., 2005). De multiples modifications des protéines histones (par exemple, phosphorylation, acétylation, méthylation) et des méthylations de l'ADN peuvent réguler de manière combinatoire l'expression des gènes, comme on le voit dans la formation de la mémoire (Jenuwein and Allis, 2001), ou lors d'un déclin cognitif associé au vieillissement (Penner, 2010).

L'étude des mécanismes de la transcription au cours de la formation de la mémoire à long terme présente désormais ses limites. En effet, chez les mammifères (y compris les rongeurs), le principal challenge est d'identifier les différentes populations cellulaires qui forment l'engramme. Une stratégie consiste à identifier les cellules activées de l'engramme par un marquage immunohistochimique des protéines *Fos* ou *Arc* (*marqueurs de référence pour l'activité cellulaire*). Mais cette approche se heurte à la fois à l'aspect spatial et temporel de la mémoire. En effet, la plupart des études se concentrent sur une structure particulière telle que l'hippocampe ou le cortex préfrontal, alors qu'un circuit neuronal composé de différentes régions et structures du cerveau est nécessaire pour la formation, la consolidation et la récupération de la mémoire. De plus, cette identification de marqueurs cellulaires se fait généralement 90 minutes après un apprentissage alors que l'on sait que la trace mnésique continue à évoluer avec le temps. Les études transcriptionnelles publiées ces dernières années ne tiennent pas compte non plus de l'aspect temporel et spatial (Choi et al., 2018; Roy et al., 2022). Actuellement, des techniques de séquençage des ARNs sur cellule unique (*single-cell sequencing*) tente de résoudre ce

problème, bien que cette technologie doit encore être améliorée (Armand et al., 2021). Dans une étude récente publiée dans la revue *Nature communications*, Vanrobaeys et collaborateurs ont développé une technique innovante alliant à la fois les approches du RNA sequencing (RNAseq) avec celles de l'histologie pour déterminer les profils transcriptomiques des différents types cellulaires (neurones, astrocytes, etc..) dans les différentes régions cérébrales lors de la formation de la mémoire (Vanrobaeys et al., 2023). En effet, la technologie *single-cell sequencing (scRNAseq)* fournit une image très détaillée du paysage transcriptionnel des différents types cellulaires, mais à un moment donné. La consolidation de la mémoire est un processus progressif qui nécessitent des heures, des jours voire des semaines. S'il est progressif, nous devons donc définir des étapes qui impliquent de suivre le développement temporel des changements transcriptionnels pour plusieurs gènes. Par exemple, est-il possible d'identifier le moment précis où une mémoire est pleinement consolidée ou stockée ? Le point clé peut résider dans la nature dynamique intrinsèque de la mémoire et de ses engrammes. Pour comprendre les différentes étapes de la mémoire, il faut donc pouvoir réaliser une sorte de « film » transcriptionnel de la mémoire. Malheureusement le réalisateur de ce film n'est pas encore connu !

Cela nous amène donc à nous poser une question importante : existe-t-il une « trace transcriptionnelle » de la mémoire ? Nous commençons à peine à identifier le répertoire transcriptionnel de la mémoire notamment grâce aux nouvelles techniques émergentes (nouvelles technologies de séquençage) et de la bioinformatique. Nous sommes encore loin de comprendre parfaitement l'organisation de la mémoire en raison de la grande complexité de cette dernière et de la nature dynamique des processus qui la sous-tendent. Néanmoins, nous pouvons envisager que les signatures transcriptionnelles qui surviennent après un apprentissage semblent être spécifiques à chaque type cellulaire et/ou de mémoire. Mais comment identifier une telle « trace transcriptionnelle » de la mémoire ?

Un des problèmes récurrents que l'on rencontre dans les études épigénétiques est que la transcription des gènes ne correspond pas systématiquement avec une forme active de la chromatine active (Lopez-Atalaya and Barco, 2014). En effet, les marques épigénétiques, et notamment les acétylations des histones, sont d'abord établies et qu'ensuite des changements transcriptionnels apparaissent parfois après plusieurs heures voire plusieurs jours (Marco, 2022). Il semble donc que l'acétylation des histones soit une marque permissive pour la transcription des gènes mais ne permet pas directement la transcription de ces derniers. De plus, il a été montré que les facteurs de transcriptions peuvent également recruter ces marques épigénétiques au niveau de l'ADN, plongeant ainsi l'acétylation des histones et la transcription dans un dilemme de la poule et de l'œuf (Guertin and Lis, 2010).

Je terminerai en disant que les processus de la mémoire sont complexes, dynamiques, impliquant une diversité de type cellulaires et une multitude de régions cérébrales sur une durée étendue. La plupart des études jusqu'à présent n'ont saisi que des « snapshots » (instantanés) des mécanismes

épigénétiques de la mémoire, se focalisant sur des altérations spécifiques de la chromatine et/ou sur des régions cérébrales isolées, sans prendre en compte la variété des types cellulaires ni la résolution temporelle. Les avancées technologiques récentes, telles que le *single-cell bisulfite sequencing* (scBS-seq), le *single-cell CUT&Tag* (scCUT&Tag), le *single-cell ATAC-seq* (scATAC-seq) et le *single-cell Hi-C* (scHi-C), permettent désormais de caractériser respectivement la méthylation de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones, l'accessibilité de la chromatine (occupation des facteurs de transcription), l'organisation tridimensionnelle de la chromatine sur cellule individuelle. Pour certaines de ces techniques, il est même envisageable de combiner le profil transcriptomique et épigénomique d'une même cellule. Avec ces perspectives, la recherche en neuro-épigénétique se trouve à l'aube d'atteindre des niveaux de précision inégalés jusqu'à présent pour étudier les mécanismes de la mémoire (Coda and Gräff, 2024).

1.7 Projets annexes

L'organisation mondiale de la santé (OMS) indique que la consommation mondiale de sucre dépasse largement l'apport recommandé, de sorte que l'impact de ces doses élevées sur l'apparition de troubles métaboliques, notamment l'obésité, le diabète de type 2 ou les maladies cardiovasculaires, est devenu un domaine de recherche important. En plus de ces effets métaboliques liés à une consommation élevée de sucre, des études ont révélé le pouvoir addictif du sucre, qui s'est avéré égal ou même surpasser celui de drogues dures telles que la cocaïne. Cependant, les effets de la consommation de sucre à long terme sur le modelage des réseaux cérébraux et des fonctions cognitives associées restent encore énigmatiques.

Compte tenu qu'une consommation excessive de sucre est néfaste pour la santé, des édulcorants non nutritifs (NNS, par exemple, l'aspartame, le sucralose et la saccharine) sont largement utilisés pour améliorer la saveur des produits alimentaires sans en augmenter la teneur en sucre et en calorie. Leur consommation mondiale et leur intérêt commercial sont énormes, ce qui exclut toute diminution prévisible de leur abondance, car les édulcorants artificiels représentent actuellement un marché de 7000 millions d'euros au niveau mondial, avec une croissance annuelle de 5 %. Malgré des découvertes récentes montrant une association entre une forte consommation de NNS et une augmentation des maladies cardiovasculaires et du cancer, ils restent un sujet controversé. Pourtant, l'impact d'une consommation continue et « potentiellement » excessive d'édulcorants artificiels sur les fonctions cérébrales reste peu exploré. Dans une étude récente, nous avons montré qu'une consommation continue d'un édulcorant nutritif (NS), ainsi que d'un NNS chez des souris adultes altère considérablement les niveaux de dopamine (DA) dans le cortex préfrontal (PFC) et le striatum en favorisant les comportements dits « à risque » (Hamelin et al., 2022). Lors de ce projet j'ai formé et

encadré Eloïse Hamelin et Anastasia Mirofle, étudiantes en Thèse de Sylvie Granon, aux techniques de la RTqPCR.

Dans cette étude publiée en 2022, nous avons montré qu'une altération des propriétés mentales peut alors se développer (peut-être pendant plusieurs mois ou années) sans qu'aucun signe clinique périphérique ne soient détectés par des analyses métaboliques. Il serait donc particulièrement intéressant d'identifier des indicateurs précoces montrant les effets de ces consommations d'édulcorants sur les fonctions du cerveau afin de prévenir les risques sur la santé. Pour ce faire, il est d'abord nécessaire de comprendre les mécanismes par lesquels les édulcorants exercent leurs effets sur le cerveau. Il est également nécessaire de caractériser tous les aspects de leurs effets au niveau comportemental à court et à long terme.

Dans ce cadre, le projet SWEETBRAINDEV vise à explorer l'influence de l'exposition chronique à des édulcorants artificiels non nutritifs (NNS) ou à des édulcorants nutritifs (NS) tels que le sucre sur la santé cérébrale et le comportement. Ce projet ANR vise à comprendre les conséquences à long terme de la consommation de NS et de NNS chez les humains et les souris, et à évaluer le rôle causal des modulations dopaminergiques sur les comportements de prise de décision afin de comprendre les mécanismes cérébraux par lesquels ces effets sont produits. Le développement cérébral postnatal est associé à l'établissement de connexions neuronales largement dépendantes de l'expérience, ce qui implique d'importants mécanismes de plasticité fonctionnelle et morphologique. Nous savons que le développement cérébral des juvéniles/adolescents est caractérisé par des périodes critiques de remodelage dépendantes de l'expérience. De plus, la fin de cette période de plasticité intense est associée à la mise en place de divers circuits neuronaux, permettant un traitement efficace de l'information. En conséquence, des événements perturbateurs survenant pendant cette période sensible entraîneraient une désorganisation des réseaux neuronaux et des fonctions cérébrales associées. Comme le système dopaminergique atteint sa maturité jusqu'à la fin de l'adolescence chez tous les mammifères, nous mènerons ici des expériences sur des souris commençant des régimes alimentaires sucrés à des stades plus précoces de la vie, *in utero* et à l'adolescence, afin d'étudier les effets à long terme (études chez l'adulte) et de comprendre l'effet développemental de leur exposition précoce.

Pour étudier comment la consommation chronique d'édulcorants influence les fonctions cérébrales, notre projet SWEETBRAINDEV se déclinera en 3 objectifs qui seront décrits dans trois workpackages (WP) ci-dessous:

WP1 : Explorer les changements moléculaires et physiologiques du système de récompense induits par la consommation de NS par rapport à celle de NNS. *Responsables : Cédric Florian (CBI-Toulouse) et Glenn Dallerac (Paris-Saclay)*

WP2 : Caractériser l'influence à court et à long terme de la consommation de NS par rapport à celle de NNS sur les fonctions comportementales et cognitives chez les souris. *Responsables : Sylvie Granon (Paris-Saclay) et Glenn Dallerac (Paris-Saclay)*

WP3 : Établir les relations causales entre les profils cognitifs/émotionnels humains et la consommation à long terme d'édulcorants. *Responsables : Nicolas Dallerac (Agro Paris-Tech) et Sylvie Granon (Paris-Saclay)*

De nombreuses études récentes suggèrent que les marques épigénétiques qui affectent l'expression des gènes peuvent également être influencées par des facteurs environnementaux tels que les polluants, les toxines et les pesticides. Ces facteurs peuvent modifier directement ou indirectement les niveaux et le renouvellement des marques épigénétiques, entraînant des changements dans les schémas d'expression des gènes qui peuvent affecter notre santé de manière positive ou négative. De plus, d'autres études récentes ont montré que l'alimentation ou les composés présents dans les aliments peuvent également modifier l'expression des gènes par le biais de mécanismes épigénétiques. Ainsi, mon travail dans le WP1 consistera à évaluer si la consommation à long terme de NS ou NSS entraîne des modifications épigénétiques sur les cellules de l'aire tegmentale ventrale (VTA), à la base du système de récompense.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adams GE, Chandru A, Cowley SM (2018) Co-repressor, co-activator and general transcription factor: the many faces of the Sin3 histone deacetylase (HDAC) complex. *Biochemical Journal* 475:3921–3932.

Alarcón JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, Barco A (2004) Chromatin Acetylation, Memory, and LTP Are Impaired in CBP+/- Mice. *Neuron* 42:947–959.

Alberini CM (2005) Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends in Neurosciences* 28:51–56.

Alberini CM (2009) Transcription Factors in Long-Term Memory and Synaptic Plasticity. *Physiological Reviews* 89:121–145.

Armand EJ, Li J, Xie F, Luo C, Mukamel EA (2021) Single-Cell Sequencing of Brain Cell Transcriptomes and Epigenomes. *Neuron* 109:11–26.

Artinian J, McGauran AT, De Jaeger X, Mouledous L, Frances B, Roullet P (2008) Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial memory consolidation but also reconsolidation. *Eur J of Neuroscience* 27:3009–3019.

Bahari-Javan S, Maddalena A, Kerimoglu C, Wittnam J, Held T, Bähr M, Burkhardt S, Delalle I, Kügler S, Fischer A, Sananbenesi F (2012) HDAC1 Regulates Fear Extinction in Mice. *J Neurosci* 32:5062–5073.

Bailey CH, Bartsch D, Kandel ER (1996) Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:13445–13452.

Ballas N, Grunseich C, Lu DD, Speh JC, Mandel G (2005) REST and Its Corepressors Mediate Plasticity of Neuronal Gene Chromatin throughout Neurogenesis. *Cell* 121:645–657.

Barco A, Alarcon JM, Kandel ER (2002) Expression of Constitutively Active CREB Protein Facilitates the Late Phase of Long-Term Potentiation by Enhancing Synaptic Capture. *Cell* 108:689–703.

Beckers T, Burkhardt C, Wieland H, Gimmnich P, Ciossek T, Maier T, Sanders K (2007) Distinct pharmacological properties of second generation HDAC inhibitors with the benzamide or hydroxamate head group. *Intl Journal of Cancer* 121:1138–1148.

Blanchard RJ, Yudko EB, Rodgers RJ, Blanchard DC (1993) Defense system psychopharmacology: An ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research* 58:155–165.

Blumstein DT (2006) The Multipredator Hypothesis and the Evolutionary Persistence of Antipredator Behavior. *Ethology* 112:209–217.

Bourtchuladze R, Frenguelli B, Blendy J, Cioffi D, Schutz G, Silva AJ (1994) Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell* 79:59–68.

Bousiges O, Vasconcelos APD, Neidl R, Cosquer B, Herbeaux K, Panteleeva I, Loeffler J-P, Cassel J-C, Boutillier A-L (2010) Spatial Memory Consolidation is Associated with Induction of Several Lysine-Acetyltransferase (Histone Acetyltransferase) Expression Levels and H2B/H4 Acetylation-Dependent Transcriptional Events in the Rat Hippocampus. *Neuropsychopharmacol* 35:2521–2537.

Bredy TW, Barad M (2008) The histone deacetylase inhibitor valproic acid enhances acquisition, extinction, and reconsolidation of conditioned fear. *Learn Mem* 15:39–45.

Bridi M, Schoch H, Florian C, Poplawski SG, Banerjee A, Hawk JD, Porcari GS, Lejards C, Hahn C-G, Giese K-P, Havekes R, Spruston N, Abel T (2020) Transcriptional corepressor SIN3A regulates hippocampal synaptic plasticity via Homer1/mGluR5 signaling. *JCI Insight* 5:e92385.

Cambon K, Hansen SM, Venero C, Herrero AI, Skibo G, Berezin V, Bock E, Sandi C (2004) A Synthetic Neural Cell Adhesion Molecule Mimetic Peptide Promotes Synaptogenesis, Enhances Presynaptic Function, and Facilitates Memory Consolidation. *J Neurosci* 24:4197–4204.

Carew TJ (1996) Molecular Enhancement of Memory Formation. *Neuron* 16:5–8.

Cattaud V, Bezzina C, Rey CC, Lejards C, Dahan L, Verret L (2018) Early disruption of parvalbumin expression and perineuronal nets in the hippocampus of the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease can be rescued by enriched environment. *Neurobiology of Aging* 72:147–158.

Choi J-H, Sim S-E, Kim J, Choi DI, Oh J, Ye S, Lee J, Kim T, Ko H-G, Lim C-S, Kaang B-K (2018) Interregional synaptic maps among engram cells underlie memory formation. *Science* 360:430–435.

Coda DM, Gräff J (2024) From cellular to fear memory: An epigenetic toolbox to remember. *Current Opinion in Neurobiology* 84:102829.

Covington HE, Maze I, LaPlant QC, Vialou VF, Ohnishi YN, Berton O, Fass DM, Renthal W, Rush AJ, Wu EY, Ghose S, Krishnan V, Russo SJ, Tamminga C, Haggarty SJ, Nestler EJ (2009) Antidepressant Actions of Histone Deacetylase Inhibitors. *J Neurosci* 29:11451–11460.

Danscher G, Haug F-MŠ, Fredens K (1973) Effect of diethyldithiocarbamate (DEDTC) on sulphide silver stained boutons reversible blocking of Timm's sulphide silver stain for "heavy" metals in DEDTC treated rats (Light Microscopy). *Exp Brain Res* 16:521–532.

Davis HP, Squire LR (1984) Protein synthesis and memory: A review. *Psychological Bulletin* 96:518–559.

Davis JA, Kenney JW, Gould TJ (2007) Hippocampal $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Involvement in the Enhancing Effect of Acute Nicotine on Contextual Fear Conditioning. *J Neurosci* 27:10870–10877.

De Jaeger X, Courtney J, Brus M, Artinian J, Villain H, Bacquié E, Roulet P (2014) Characterization of spatial memory reconsolidation. *Learn Mem* 21:316–324.

Fanselow MS, Poulos AM (2005) The Neuroscience of Mammalian Associative Learning. *Annu Rev Psychol* 56:207–234.

Fass DM, Butler JEF, Goodman RH (2003) Deacetylase Activity Is Required for cAMP Activation of a Subset of CREB Target Genes. *Journal of Biological Chemistry* 278:43014–43019.

Fischer A, Sananbenesi F, Mungenast A, Tsai L-H (2010) Targeting the correct HDAC(s) to treat cognitive disorders. *Trends in Pharmacological Sciences* 31:605–617.

Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai L-H (2007) Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature* 447:178–182.

Florian C, Foltz J, Norreel J-C, Rougon G, Roulet P (2006a) Post-training intrahippocampal injection of synthetic poly- α -2,8-sialic acid-neural cell adhesion molecule mimetic peptide improves spatial long-term performance in mice. *Learn Mem* 13:335–341.

Florian C, Mons N, Roulet P (2006b) CREB antisense oligodeoxynucleotide administration into the dorsal hippocampal CA3 region impairs long- but not short-term spatial memory in mice. *Learn Mem* 13:465–472.

Florian C, Roulet P (2004) Hippocampal CA3-region is crucial for acquisition and memory consolidation in Morris water maze task in mice. *Behavioural Brain Research* 154:365–374.

Florian C, Vecsey CG, Halassa MM, Haydon PG, Abel T (2011) Astrocyte-Derived Adenosine and A₁ Receptor Activity Contribute to Sleep Loss-Induced Deficits in Hippocampal Synaptic Plasticity and Memory in Mice. *J Neurosci* 31:6956–6962.

Fraga MF et al. (2005) Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:10604–10609.

Frank DA, Greenberg ME (1994) CREB: A mediator of long-term memory from mollusks to mammals. *Cell* 79:5–8.

Gould TJ, Stephen Higgins J (2003) Nicotine enhances contextual fear conditioning in C57BL/6J mice at 1 and 7 days post-training. *Neurobiology of Learning and Memory* 80:147–157.

Gräff J, Rei D, Guan J-S, Wang W-Y, Seo J, Hennig KM, Nieland TJF, Fass DM, Kao PF, Kahn M, Su SC, Samiei A, Joseph N, Haggarty SJ, Delalle I, Tsai L-H (2012) An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature* 483:222–226.

Greenberg ME, Ziff EB, Greene LA (1986) Stimulation of Neuronal Acetylcholine Receptors Induces Rapid Gene Transcription. *Science* 234:80–83.

Grinkevich LN (2014) Epigenetics and the Formation of Long-Term Memory. *Neurosci Behav Physi* 44:200–213.

Grzenda A, Lomber G, Zhang J-S, Urrutia R (2009) Sin3: Master scaffold and transcriptional corepressor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms* 1789:443–450.

Guan J-S, Haggarty SJ, Giacometti E, Dannenberg J-H, Joseph N, Gao J, Nieland TJF, Zhou Y, Wang X, Mazitschek R, Bradner JE, DePinho RA, Jaenisch R, Tsai L-H (2009) HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature* 459:55–60.

Guan Z, Peng X, Fang J (2004) Sleep deprivation impairs spatial memory and decreases extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in the hippocampus. *Brain Research* 1018:38–47.

Guertin MJ, Lis JT (2010) Chromatin Landscape Dictates HSF Binding to Target DNA Elements Lichten M, ed. *PLoS Genet* 6:e1001114.

Guzowski JF (2002) Insights into immediate-early gene function in hippocampal memory consolidation using antisense oligonucleotide and fluorescent imaging approaches. *Hippocampus* 12:86–104.

Guzowski JF, McGaugh JL (1997) Antisense oligodeoxynucleotide-mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:2693–2698.

Haettig J, Stefanko DP, Multani ML, Figueroa DX, McQuown SC, Wood MA (2011) HDAC inhibition modulates hippocampus-dependent long-term memory for object location in a CBP-dependent manner. *Learn Mem* 18:71–79.

Halassa MM, Florian C, Fellin T, Munoz JR, Lee S-Y, Abel T, Haydon PG, Frank MG (2009) Astrocytic Modulation of Sleep Homeostasis and Cognitive Consequences of Sleep Loss. *Neuron* 61:213–219.

Hamelin H, Poizat G, Florian C, Kursu MB, Pittaras E, Callebert J, Rampon C, Taouis M, Hamed A, Granon S (2022) Prolonged Consumption of Sweetened Beverages Lastingly Deteriorates Cognitive Functions and Reward Processing in Mice. *Cerebral Cortex* 32:1365–1378.

Hawk JD, Florian C, Abel T (2011) Post-training intrahippocampal inhibition of class I histone deacetylases enhances long-term object-location memory. *Learn Mem* 18:367–370.

Heikkila RE, Cabbat FS, Cohen G (1976) In vivo inhibition of superoxide dismutase in mice by diethyldithiocarbamate. *Journal of Biological Chemistry* 251:2182–2185.

Hernandez PJ, Abel T (2008) The role of protein synthesis in memory consolidation: Progress amid decades of debate. *Neurobiology of Learning and Memory* 89:293–311.

Holm IE, Andreasen A, Danscher G, Nielsen H (1991) Densitometric analysis of the local bleaching of the Neo-Timm staining pattern following intrahippocampal injection of diethyldithiocarbamate. *Histochem J* 23:63–68.

Hwang J-Y, Aromolaran KA, Zukin RS (2017) The emerging field of epigenetics in neurodegeneration and neuroprotection. *Nat Rev Neurosci* 18:347–361.

Hwang J-Y, Zukin RS (2018) REST, a master transcriptional regulator in neurodegenerative disease. *Current Opinion in Neurobiology* 48:193–200.

Janczura KJ, Volmar C-H, Sartor GC, Rao SJ, Ricciardi NR, Lambert G, Brothers SP, Wahlestedt C (2018) Inhibition of HDAC3 reverses Alzheimer’s disease-related pathologies in vitro and in the 3xTg-AD mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA* 115 Available at: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1805436115> [Accessed July 25, 2023].

Jenuwein T, Allis CD (2001) Translating the Histone Code. *Science* 293:1074–1080.

Kandel ER (2001) The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses. *Science* 294:1030–1038.

Kenney JW, Florian C, Portugal GS, Abel T, Gould TJ (2010) Involvement of Hippocampal Jun-N Terminal Kinase Pathway in the Enhancement of Learning and Memory by Nicotine. *Neuropsychopharmacol* 35:483–492.

Kenney JW, Gould TJ (2008) Modulation of Hippocampus-Dependent Learning and Synaptic Plasticity by Nicotine. *Mol Neurobiol* 38:101–121.

Khan N, Jeffers M, Kumar S, Hackett C, Boldog F, Khramtsov N, Qian X, Mills E, Berghs SC, Carey N, Finn PW, Collins LS, Tumber A, Ritchie JW, Jensen PB, Lichenstein HS, Sehested M (2008) Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors. *Biochemical Journal* 409:581–589.

Kilgore M, Miller CA, Fass DM, Hennig KM, Haggarty SJ, Sweatt JD, Rumbaugh G (2010) Inhibitors of Class 1 Histone Deacetylases Reverse Contextual Memory Deficits in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *Neuropsychopharmacol* 35:870–880.

Korzus E, Rosenfeld MG, Mayford M (2004) CBP Histone Acetyltransferase Activity Is a Critical Component of Memory Consolidation. *Neuron* 42:961–972.

Krezymon A, Richetin K, Halley H, Roybon L, Lassalle J-M, Francès B, Verret L, Rampon C (2013) Modifications of Hippocampal Circuits and Early Disruption of Adult Neurogenesis in the Tg2576 Mouse Model of Alzheimer’s Disease Borlongan CV, ed. *PLoS ONE* 8:e76497.

Lassalle J-M, Bataille T, Halley H (2000) Reversible Inactivation of the Hippocampal Mossy Fiber Synapses in Mice Impairs Spatial Learning, but neither Consolidation nor Memory Retrieval, in the Morris Navigation Task. *Neurobiology of Learning and Memory* 73:243–257.

- Lassalle JM, Halley H, Daumas S, Verret L, Francés B (2008) Effects of the genetic background on cognitive performances of TG2576 mice. *Behavioural Brain Research* 191:104–110.
- Lattal KM, Barrett RM, Wood MA (2007) Systemic or intrahippocampal delivery of histone deacetylase inhibitors facilitates fear extinction. *Behavioral Neuroscience* 121:1125–1131.
- Lee JLC, Everitt BJ, Thomas KL (2004) Independent Cellular Processes for Hippocampal Memory Consolidation and Reconsolidation. *Science* 304:839–843.
- Lee Y-S, Bailey CH, Kandel ER, Kaang B-K (2008) Transcriptional regulation of long-term memory in the marine snail *Aplysia*. *Mol Brain* 1:3.
- Levenson JM, O’Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL, Sweatt JD (2004) Regulation of Histone Acetylation during Memory Formation in the Hippocampus. *Journal of Biological Chemistry* 279:40545–40559.
- Lewis DJ (1979) Psychobiology of active and inactive memory. *Psychological Bulletin* 86:1054–1083.
- Lopez-Atalaya JP, Barco A (2014) Can changes in histone acetylation contribute to memory formation? *Trends in Genetics* 30:529–539.
- Lu T, Aron L, Zullo J, Pan Y, Kim H, Chen Y, Yang T-H, Kim H-M, Drake D, Liu XS, Bennett DA, Colaiácovo MP, Yankner BA (2014) REST and stress resistance in ageing and Alzheimer’s disease. *Nature* 507:448–454.
- Lu Y-M, Taverna FA, Tu R, Ackerley CA, Wang Y-T, Roder J (2000) Endogenous Zn²⁺ is required for the induction of long-term potentiation at rat hippocampal mossy fiber-CA3 synapses. *Synapse* 38:187–197.
- Lubin FD, Sweatt JD (2007) The IκB Kinase Regulates Chromatin Structure during Reconsolidation of Conditioned Fear Memories. *Neuron* 55:942–957.
- Maddox SA, Schafe GE (2011) Epigenetic alterations in the lateral amygdala are required for reconsolidation of a Pavlovian fear memory. *Learn Mem* 18:579–593.
- Maddox SA, Watts CS, Doyère V, Schafe GE (2013) A Naturally-Occurring Histone Acetyltransferase Inhibitor Derived from *Garcinia indica* Impairs Newly Acquired and Reactivated Fear Memories Lyons LC, ed. *PLoS ONE* 8:e54463.
- Mahan AL, Mou L, Shah N, Hu J-H, Worley PF, Ressler KJ (2012) Epigenetic Modulation of Homer1a Transcription Regulation in Amygdala and Hippocampus with Pavlovian Fear Conditioning. *J Neurosci* 32:4651–4659.
- Marco A (2022) Activity-dependent remodeling of genome architecture in engram cells facilitates memory formation and recall. *Neural Regen Res* 17:991.
- Mayford M, Barzilai A, Keller F, Schacher S, Kandel ER (1992) Modulation of an NCAM-Related Adhesion Molecule with Long-Term Synaptic Plasticity in *Aplysia*. *Science* 256:638–644.
- Maze I, Noh K-M, Allis CD (2013) Histone Regulation in the CNS: Basic Principles of Epigenetic Plasticity. *Neuropsychopharmacol* 38:3–22.
- McGaugh JL (2000) Memory--a Century of Consolidation. *Science* 287:248–251.
- McQuown SC, Wood MA (2011) HDAC3 and the molecular brake pad hypothesis. *Neurobiology of Learning and Memory* 96:27–34.

- Nader K (2003) Memory traces unbound. *Trends in Neurosciences* 26:65–72.
- Nader K (2015) Reconsolidation and the Dynamic Nature of Memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a021782.
- Nectoux J, Fichou Y, Rosas-Vargas H, Cagnard N, Bahi-Buisson N, Nusbaum P, Letourneur F, Chelly J, Bienvu T (2010) Cell cloning-based transcriptome analysis in Rett patients: relevance to the pathogenesis of Rett syndrome of new human MeCP2 target genes. *J Cellular Molecular Medi* 14:1962–1974.
- Nectoux J, Florian C, Delepine C, Bahi-Buisson N, Khelifaoui M, Reibel S, Chelly J, Bienvu T (2012) Altered microtubule dynamics in Mecp2-deficient astrocytes. *J Neurosci Res* 90:990–998.
- Ogawa O, Zhu X, Lee H-G, Raina A, Obrenovich ME, Bowser R, Ghanbari HA, Castellani RJ, Perry G, Smith MA (2003) Ectopic localization of phosphorylated histone H3 in Alzheimer's disease: a mitotic catastrophe? *Acta Neuropathol* 105:524–528.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford : New York: Clarendon Press ; Oxford University Press.
- Oliveira AMM, Hawk JD, Abel T, Havekes R (2010) Post-training reversible inactivation of the hippocampus enhances novel object recognition memory. *Learn Mem* 17:155–160.
- Oliveira AMM, Wood MA, McDonough CB, Abel T (2007) Transgenic mice expressing an inhibitory truncated form of p300 exhibit long-term memory deficits. *Learn Mem* 14:564–572.
- Pascual O, Casper KB, Kubera C, Zhang J, Revilla-Sanchez R, Sul J-Y, Takano H, Moss SJ, McCarthy K, Haydon PG (2005) Astrocytic Purinergic Signaling Coordinates Synaptic Networks. *Science* 310:113–116.
- Peixoto L, Abel T (2013) The Role of Histone Acetylation in Memory Formation and Cognitive Impairments. *Neuropsychopharmacol* 38:62–76.
- Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, Cota P, Wittnam JL, Gogol-Doering A, Opitz L, Salinas-Riester G, Dettenhofer M, Kang H, Farinelli L, Chen W, Fischer A (2010) Altered Histone Acetylation Is Associated with Age-Dependent Memory Impairment in Mice. *Science* 328:753–756.
- Penner (2010) An epigenetic hypothesis of aging-related cognitive dysfunction. *FrontiAgNeurosci* Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2010.00009/abstract> [Accessed July 25, 2023].
- Porkka-Heiskanen T, Strecker RE, McCarley RW (2000) Brain site-specificity of extracellular adenosine concentration changes during sleep deprivation and spontaneous sleep: an in vivo microdialysis study. *Neuroscience* 99:507–517.
- Porkka-Heiskanen T, Strecker RE, Thakkar M, Bjørkum AA, Greene RW, McCarley RW (1997) Adenosine: A Mediator of the Sleep-Inducing Effects of Prolonged Wakefulness. *Science* 276:1265–1268.
- Pradel G, Schachner M, Schmidt R (1999) Inhibition of memory consolidation by antibodies against cell adhesion molecules after active avoidance conditioning in zebrafish. *J Neurobiol* 39:197–206.
- Przybylski J, Sara SJ (1997) Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behavioural Brain Research* 84:241–246.

- Raybuck JD, Gould TJ (2007) Extracellular signal-regulated kinase 1/2 involvement in the enhancement of contextual fear conditioning by nicotine. *Behavioral Neuroscience* 121:1119–1124.
- Richetin K, Leclerc C, Toni N, Gallopin T, Pech S, Roybon L, Rampon C (2015) Genetic manipulation of adult-born hippocampal neurons rescues memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain* 138:440–455.
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Pérez-Mediavilla A, Frechilla D, Del Río J, García-Osta A (2009) Phenylbutyrate Ameliorates Cognitive Deficit and Reduces Tau Pathology in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *Neuropsychopharmacol* 34:1721–1732.
- Rolls E, Treves A (1997) *Neural Networks and Brain Function*. Oxford University Press. Available at: <https://academic.oup.com/book/4417> [Accessed July 25, 2023].
- Routtenberg A (1979) Anatomical localization of phosphoprotein and glycoprotein substrates of memory. *Progress in Neurobiology* 12:85–113.
- Roy DS, Park Y-G, Kim ME, Zhang Y, Ogawa SK, DiNapoli N, Gu X, Cho JH, Choi H, Kametsky L, Martin J, Mosto O, Aida T, Chung K, Tonegawa S (2022) Brain-wide mapping reveals that engrams for a single memory are distributed across multiple brain regions. *Nat Commun* 13:1799.
- Sara SJ (2000) Retrieval and Reconsolidation: Toward a Neurobiology of Remembering. *Learn Mem* 7:73–84.
- Schoch H, Abel T (2014) Transcriptional co-repressors and memory storage. *Neuropharmacology* 80:53–60.
- Sigurdsson T, Doyère V, Cain CK, LeDoux JE (2007) Long-term potentiation in the amygdala: A cellular mechanism of fear learning and memory. *Neuropharmacology* 52:215–227.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S (1998) CREB AND MEMORY. *Annu Rev Neurosci* 21:127–148.
- Silva R (2004) Effects of pre- or post-training paradoxical sleep deprivation on two animal models of learning and memory in mice. *Neurobiology of Learning and Memory* 82:90–98.
- Silverstein RA, Ekwall K (2005) Sin3: a flexible regulator of global gene expression and genome stability. *Curr Genet* 47:1–17.
- Simonini MV, Camargo LM, Dong E, Maloku E, Veldic M, Costa E, Guidotti A (2006) The benzamide MS-275 is a potent, long-lasting brain region-selective inhibitor of histone deacetylases. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:1587–1592.
- Stefanko DP, Barrett RM, Ly AR, Reolon GK, Wood MA (2009) Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:9447–9452.
- Stickgold R (2005) Sleep-dependent memory consolidation. *Nature* 437:1272–1278.
- Stickgold R, James L, Hobson JA (2000) Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nat Neurosci* 3:1237–1238.
- Stupien G, Florian C, Rouillet P (2003) Involvement of the hippocampal CA3-region in acquisition and in memory consolidation of spatial but not in object information in mice. *Neurobiology of Learning and Memory* 80:32–41.
- Suzuki T, Ando T, Tsuchiya K, Fukazawa N, Saito A, Mariko Y, Yamashita T, Nakanishi O (1999) Synthesis and Histone Deacetylase Inhibitory Activity of New Benzamide Derivatives. *J Med Chem* 42:3001–3003.

Sweatt JD (2004) Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Current Opinion in Neurobiology* 14:311–317.

Sweatt JD (2009) Experience-Dependent Epigenetic Modifications in the Central Nervous System. *Biological Psychiatry* 65:191–197.

Torregrossa P, Buhl L, Bancila M, Durbec P, Schafer C, Schachner M, Rougon G (2004) Selection of Poly- α 2,8-Sialic Acid Mimotopes from a Random Phage Peptide Library and Analysis of Their Bioactivity. *Journal of Biological Chemistry* 279:30707–30714.

Treves A, Rolls ET (1992) Computational constraints suggest the need for two distinct input systems to the hippocampal CA3 network. *Hippocampus* 2:189–199.

Vanrobaeys Y, Mukherjee U, Langmack L, Beyer SE, Bahl E, Lin L-C, Michaelson JJ, Abel T, Chatterjee S (2023) Mapping the spatial transcriptomic signature of the hippocampus during memory consolidation. *Nat Commun* 14:6100.

Vecsey CG, Baillie GS, Jaganath D, Havekes R, Daniels A, Wimmer M, Huang T, Brown KM, Li X-Y, Descalzi G, Kim SS, Chen T, Shang Y-Z, Zhuo M, Houslay MD, Abel T (2009) Sleep deprivation impairs cAMP signalling in the hippocampus. *Nature* 461:1122–1125.

Vecsey CG, Hawk JD, Lattal KM, Stein JM, Fabian SA, Attner MA, Cabrera SM, McDonough CB, Brindle PK, Abel T, Wood MA (2007) Histone Deacetylase Inhibitors Enhance Memory and Synaptic Plasticity via CREB: CBP-Dependent Transcriptional Activation. *Journal of Neuroscience* 27:6128–6140.

Verret L, Krezymon A, Halley H, Trouche S, Zerwas M, Lazouret M, Lassalle J-M, Rampon C (2013) Transient enriched housing before amyloidosis onset sustains cognitive improvement in Tg2576 mice. *Neurobiology of Aging* 34:211–225.

Villain H, Florian C, Roulet P (2016) HDAC inhibition promotes both initial consolidation and reconsolidation of spatial memory in mice. *Sci Rep* 6:27015.

Vo N, Goodman RH (2001) CREB-binding Protein and p300 in Transcriptional Regulation. *Journal of Biological Chemistry* 276:13505–13508.

Von Lubitz DKJE, Paul IA, Bartus RT, Jacobson KA (1993) Effects of chronic administration of adenosine A1 receptor agonist and antagonist on spatial learning and memory. *European Journal of Pharmacology* 249:271–280.

Wagner U, Gais S, Haider H, Verleger R, Born J (2004) Sleep inspires insight. *Nature* 427:352–355.

Witteveen JS et al. (2016) Haploinsufficiency of MeCP2-interacting transcriptional co-repressor SIN3A causes mild intellectual disability by affecting the development of cortical integrity. *Nat Genet* 48:877–887.

Wood MA, Attner MA, Oliveira AMM, Brindle PK, Abel T (2006) A transcription factor-binding domain of the coactivator CBP is essential for long-term memory and the expression of specific target genes. *Learn Mem* 13:609–617.

Zovkic IB, Guzman-Karlsson MC, Sweatt JD (2013) Epigenetic regulation of memory formation and maintenance. *Learn Mem* 20:61–74.