



comme candidats dans des pathologies plus complexes, à caractère multigénique (exemple : autisme, épilepsie). Par ailleurs, l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans la dégénérescence neuronale dans les formes EA2 ou SCA6 pourrait renseigner sur les mécanismes mis en jeu dans le vieillissement.

Toute évolution dans la compréhension mécanistique des canalopathies calciques devrait à terme ouvrir sur des perspectives thérapeutiques mieux définies. Pour cela, il convient de développer les modèles d'études mimant au mieux les pathologies humaines. Suite aux études *in vitro*, en expression hétérologue, le développement de modèles animaux porteurs des mutations humaines (*knock-in*) présente un grand potentiel [5], non seulement pour l'étude du mécanisme

et de l'évolution des pathologies, mais également pour la recherche de molécules, ou d'autres stratégies thérapeutiques, capables de corriger ou d'atténuer les défauts identifiés. ♦

Calcium channelopathies : the current challenges

RÉFÉRENCES

1. Miller TM, Dias da Silva MR, Miller HA, et al. Correlating phenotype and genotype in the periodic paralyses. *Neurology* 2004 ; 63 : 1647-55.
2. Splawski I, Timothy KW, Decher N, et al. Severe arrhythmia disorder caused by cardiac L-type calcium channel mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 8089-96
3. Mansergh F, Orton NC, Vessey JP, et al. Mutation of the calcium channel gene *Cacna1f* disrupts calcium signaling, synaptic transmission and cellular organization in mouse retina. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 3035-46.
4. Pietrobon D. Calcium channels and channelopathies of the central nervous system. *Mol Neurobiol* 2002 ; 25 : 31-50.
5. Van den Maagdenberg AM, Pietrobon D, Pizzorusso T, et al. A *Cacna1a* knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. *Neuron* 2004 ; 41 : 701-10.
6. Jeng CJ, Chen YT, Chen YW, et al. Dominant-negative effects of human P/Q-type Ca^{2+} channel mutations associated with episodic ataxia type 2. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006 ; 290 : C1209-20.
7. Page KM, Hebllich F, Davies A, et al. Dominant-negative calcium channel suppression by truncated constructs involves a kinase implicated in the unfolded protein response. *J Neurosci* 2004 ; 24 : 5400-9.
8. Gomez CM. Polyglutamine aggregates in SCA6 Purkinje cells: a tail of two toxicities. *Neurology* 2001 ; 56 : 1618-9.
9. Kordasiewicz HB, Thompson RM, Clark HB, et al. Carboxyl termini of P/Q-type Ca^{2+} channel-1A subunits translocate to nuclei and promote polyglutamine-mediated toxicity. *Hum Mol Genet* 2006 ; 15 : 1587-99.
10. Chen Y, Lu J, Pan H, et al. Association between genetic variation of *CACNA1H* and childhood absence epilepsy. *Ann Neurol* 2003 ; 54 : 239-43.
11. Vitko I, Chen Y, Arias JM, et al. Functional characterization and neuronal modeling of the effects of childhood absence epilepsy variants of *CACNA1H*, a T-type calcium channel. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 4844-55.

NOUVELLE

Un nouveau mécanisme de mémoire : connexions et déconnexions de neurones dans le néocortex de jeunes rats

Jean-Vincent Le Bé, Henry Markram

Laboratoire de Neurosciences des Microcircuits,
Institut Brain Mind, EPFL, 1015 Lausanne, Suisse.

Jean-Vincent Le Bé

jean-vincent.lebe@epfl.ch

henry.markram@epfl.ch

> L'apprentissage et la mémoire sont supposés provenir de changements dans les connexions synaptiques entre les neurones [1]. Le néocortex est le lieu d'intégration le plus avancé du cerveau. Il n'est présent que chez les mammifères et, chez l'homme, représente 80 % de la masse cérébrale. Il est possible de délimiter 6 couches de neurones dans le néocortex du rat qui sont numérotées du pia vers la substance blanche. Certains neurones pyramidaux de la couche 5 ont un dendrite apical qui s'étend jusque dans la couche 1 et y forme un épi. Ils ont un corps cellulaire plus grand que les autres neurones pyramidaux

du cortex, nous les appellerons les larges cellules pyramidales (LCP). Une récente étude [2] a montré que l'axone d'une LCP donnée forme plusieurs appositions (rapprochements de moins de 2 μ m) sur les dendrites de toutes les LCP dont le corps cellulaire est situé dans un rayon de 200 μ m. La différence entre les paires de neurones connectées et celles qui ne le sont pas réside dans la présence ou non de boutons sur l'axone présynaptique. Cet état de proximité des neurones suggère que les LCP peuvent se connecter et se déconnecter entre elles sans grand changement morphologique.

Le changement d'état du microcircuit à 12 heures d'intervalle

Pour tester cette hypothèse, nous avons utilisé la technique du *patch clamp*¹ sur des tranches sagittales de 300 μ m d'épaisseur de cortex de rats Wistar âgés de 12 à 14 jours. Cette étude a été publiée en détail il y a quelques mois [3]. Notre installation dispose de 7 électrodes, permettant d'enregistrer et de stimuler jusqu'à 7 neurones simultanément. Lors d'un premier

¹ Enregistrement intracellulaire de l'activité électrique des neurones avec des microélectrodes en verre. La membrane est percée à l'intérieur de la pipette par application d'une pression négative dans la pipette qui contient une solution ionique proche de celle des cellules (même pH et même osmolarité).

enregistrement, nous avons mesuré la connectivité ainsi que les caractéristiques des connexions présentes dans un microcircuit de 5 à 7 LCP. Les électrodes ont ensuite été retirées des cellules dans les 15 minutes après que la première membrane a été ouverte, et ce, pour prévenir tout lavage du milieu interne de la cellule qui aurait pu empêcher certains mécanismes. Les mêmes neurones (identifiés avec un microscope infra-rouge à contraste d'interférence différentiel) ont été à nouveau enregistrés 12 heures plus tard, permettant ainsi de mesurer l'état de connexion du réseau et les caractéristiques des connexions après 12 heures passées dans la chambre d'enregistrement. Nous avons constaté que 4 % des paires de LCP non connectées l'étaient spontanément au bout des 12 heures. Parallèlement, pour 13 % des paires de cellules connectées, les connexions avaient disparu. Lorsque les neurones sont soumis à une activité induite par du glutamate (soit en perfusant 100 μ m de glutamate dans l'environnement des

neurones, soit en projetant 50 mM de glutamate 100 μ m au dessus du groupe de neurones enregistrés), le pourcentage d'apparitions de connexions quadruple presque (15 %). De même, le nombre de paires de neurones qui se déconnectent a tendance à diminuer dans ces mêmes conditions sans pour autant que ce phénomène soit significatif. Malgré les disparitions de connexions, le pourcentage de neurones connectés après 12 heures est presque deux fois plus grand que le pourcentage de connexions lors d'un enregistrement habituel.

Dynamique des connexions qui apparaissent et disparaissent

Afin de mesurer la connectivité et les caractéristiques des connexions entre LCP, nous avons stimulé systématiquement les cellules enregistrées avec un train de potentiels d'action qui permet d'extraire des paramètres caractéristiques tels que l'efficacité synaptique (A), la probabilité de libération de neurotransmetteurs (Pr) et deux constantes

de temps mesurant la dépression et la facilitation des synapses. Cette extraction se fait en ajustant une trace théorique, calculée en utilisant le modèle de Tsodyks-Markram [4], à la trace réelle mesurée expérimentalement. Les connexions apparues sont significativement plus faibles que celles existant déjà dans la tranche (A = 1,5 mV contre 2,4 mV respectivement) et ont aussi une probabilité de libération des neurotransmetteurs plus basse (Pr = 0,36 contre 0,45 respectivement). D'un autre côté les connexions qui ont disparu étaient significativement plus faibles (A = 1,1 mV) que celles qui sont en général

Récepteurs et canaux impliqués dans la réorganisation du microcircuit

Le glutamate, élément à l'origine de l'augmentation du nombre d'apparitions de connexions, agit sur un grand nombre de récepteurs identifiés. Nous avons donc successivement inhibé les différents récepteurs ou groupes de récepteurs présents sur les neurones pyramidaux du néocortex. Le type de récepteur qui est impliqué dans l'apparition de connexions est le récepteur au glutamate métabotrope 5 (mGluR5). Par ailleurs, lorsque la production de potentiels d'action est bloquée (en inhibant les canaux sodiques avec de la tétrodothine), le nombre de connexions qui apparaissent est aussi significativement réduit. L'inhibition des groupes 2 et 3 des récepteurs métabotropiques ainsi que des récepteurs ionotropiques impliqués dans la potentialisation à long terme (AMPA et NMDA [5]) n'a pas donné lieu à une réduction de l'apparition de connexions. En revanche, l'analyse des dynamiques de connexions d'un enregistrement à l'autre dans les différentes conditions a montré que seule l'amplitude de la réponse synaptique change. Cette amplitude augmente en 12 heures lorsque la tranche est laissée dans la chambre

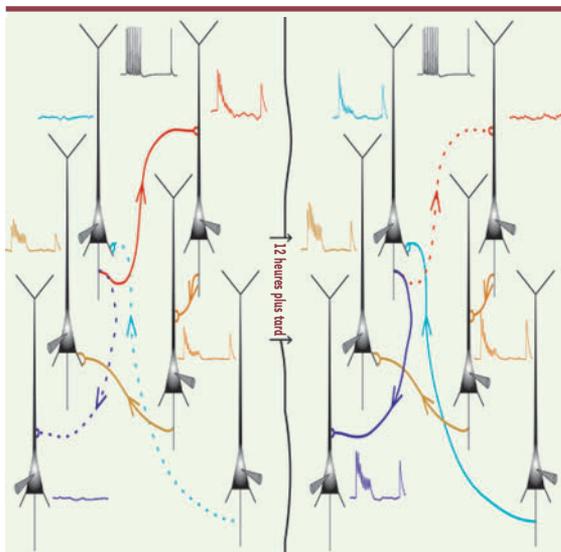


Figure 1. Reconfiguration du microcircuit. Les neurones sont successivement stimulés avec un train de potentiels d'action (trace noire en haut au milieu de chaque panneau) et les réponses des cellules adjacentes enregistrées (traces de couleur). Dans cet exemple, une connexion a disparu (trace rouge) et deux sont apparues (traces bleues) d'un enregistrement à l'autre, espacés de 12 heures. Les flèches pleines montrent la présence d'une connexion, les flèches pointillées représentent une absence de connexion.



d'enregistrement. Cette augmentation est plus importante en présence de glutamate et nécessite les récepteurs mGluR5 et une activité neuronale, comme les nouvelles connexions, mais aussi les récepteurs AMPA et NMDA. L'inhibition de ces récepteurs réduit significativement le changement d'amplitude de la réponse synaptique d'un enregistrement à l'autre par rapport au changement en présence de glutamate seul.

Nous sommes donc en présence d'un nouveau mécanisme de formation de

la mémoire qui passe par la création de nouvelles connexions fonctionnelles à travers l'activité neuronale (les potentiels d'action) et l'activation des mGluR5. Cette découverte ouvre de nouvelles perspectives sur les mécanismes de la mémoire et sur le traitement des déficiences dans lesquelles la mémoire est impliquée. ♦

A new mechanism for memory: neuronal networks rewiring in the young rat neocortex

RÉFÉRENCES

1. Axmacher N, Mormann F, Fernandez G, et al. Memory formation by neuronal synchronization. *Brain Res Brain Res Rev* 2006 ; 52 : 170-82.
2. Kalisman N, Silberberg G, Markram H. The neocortical microcircuit as a tabula rasa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 880-5.
3. Le Be, JV, Markram H. Spontaneous and evoked synaptic rewiring in the neonatal neocortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 13214-9.
4. Tsodyks M, Pawelzik K, Markram H. Neural networks with dynamic synapses. *Neural Comput* 1998 ; 10 : 821-35.
5. Cooke SF, Bliss TV. Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 2006 ; 129 : 1659-73.

NOUVELLE

Polycomb maîtrise la destinée cellulaire

Nicolas Nègre, Giacomo Cavalli



Institut de Génétique Humaine, CNRS,
141, rue de la Cardonille,
34396 Montpellier Cedex 5, France.
giacomo.cavalli@igh.cnrs.fr
nnegre@bsd.uchicago.edu

► Les protéines du groupe Polycomb (PcG) sont des facteurs chromatinien connus pour maintenir l'état transcriptionnel réprimé de leurs gènes cibles au cours du développement. Ces facteurs agissent

au niveau de leurs gènes cibles sous forme de larges complexes multimériques appelés *Polycomb Repressive Complex* (PRC). Ces complexes agissent sur la transcription de leurs gènes cibles en se

fixant sur l'ADN au niveau de séquences régulatrices appelées *PcG response elements* (PRE). La structure et la fonction des deux complexes identifiés à ce jour (PRC1 et PRC2) sont conservées depuis la drosophile jusqu'à l'Homme. Après recrutement sur un PRE par des facteurs de transcription précoces, le complexe PRC2 est capable d'ajouter trois groupes méthyl à la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me3) des nucléosomes. Cette marque épigénétique permet le recrutement du complexe PRC1 qui maintient la répression des gènes cibles associés au

PRE soit par compaction de la chromatine, soit par interaction directe avec la machinerie transcriptionnelle au niveau du promoteur du gène cible [1].

Les gènes cibles les plus connus des protéines du PcG sont les gènes homéotiques. Mais seul un très faible pourcentage de gènes cibles avait été identifié à ce jour. Cependant, la caractérisation de certains de ces gènes cibles chez la drosophile — comme les gènes *ph*, *en*, *hh* et *ci* — suggère que les protéines du PcG régulent beaucoup de gènes impliqués dans le développement et l'embryogenèse. De plus, chez l'homme et la souris, plusieurs types de cancers ont été associés à des défauts d'expression des protéines du PcG, suggérant un rôle plus général dans l'identité cellulaire ainsi que dans la prolifération cellulaire [2]. Plusieurs autres fonctions ont également été associées aux protéines du PcG, notamment leur implication dans les cellules souches.

Les cellules souches se définissent par leur capacité à se diviser de manière extensive et à donner naissance à de

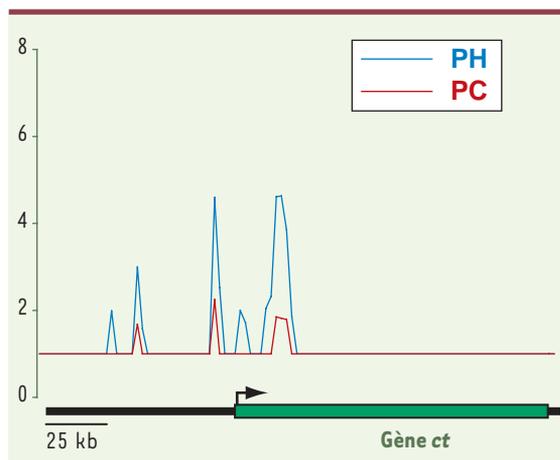


Figure 1. Exemple de cartographie des protéines PC et PH au niveau du gène *cut* (*ct*) chez la drosophile. Les courbes représentent l'intensité du signal détecté sur puces à ADN après expérience de ChIP et donc la fixation des protéines. Les signaux statistiquement non significatifs ont une valeur de 1. On peut voir sur cette région de 200 kb la fixation de PC et de PH dans des zones régulatrices aux alentours du promoteur du gène *ct*.