



**HAL**  
open science

# Les défauts de migration dans le syndrome de l’X fragile

Salima Messaoudi

► **To cite this version:**

Salima Messaoudi. Les défauts de migration dans le syndrome de l’X fragile. Neurosciences [q-bio.NC]. Sorbonne Université, 2023. Français. NNT : 2023SORUS099 . tel-04137254

**HAL Id: tel-04137254**

**<https://theses.hal.science/tel-04137254v1>**

Submitted on 22 Jun 2023

**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.



**Sorbonne Université**  
Ecole doctorale N°158 Cerveau-Cognition-Comportement (ED3C)  
*CNRS 8246, INSERM U1130, Laboratoire Neurosciences Paris Seine*  
*Equipe Développement et Plasticité des Réseaux Neuronaux*

---

# LES DÉFAUTS DE MIGRATION NEURONALE DANS LE SYNDROME DE L'X FRAGILE

---

**Thèse de doctorat en Neurosciences**  
*Dirigée par Isabelle Caillé*

**Présentée et soutenue publiquement par Messaoudi Salima le 16  
mars 2023**

**MEMBRES DU JURY :**

Dr. Olivier Raineteau, Directeur de recherche  
Dr. Hervé Moine, Directeur de recherche  
Dr. Barbara Bardoni, Directrice de recherche  
Dr. Richard Belvindrah, Maître de conférences  
Dr. Isabelle Caillé, Professeure des universités

Rapporteur  
Rapporteur  
Présidente du jury  
Examineur  
Directrice de thèse



# Table des matières

<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>2</b>
<b>TABLE DES FIGURES</b> .....	<b>6</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>8</b>
<b>I. INTRODUCTION</b> .....	<b>11</b>
<b>I.1. SYNDROME DE L'X FRAGILE</b> .....	<b>11</b>
I.1.1. GENERALITES CLINIQUES ET EPIDEMIOLOGIQUES .....	11
I.1.2. SEMIOLOGIE .....	12
I.1.2.1. Manifestations cliniques chez les garçons .....	12
I.1.2.2. Manifestations cliniques chez les filles .....	14
I.1.3. ÉTIOLOGIE.....	15
I.1.3.1. Mutation complète .....	15
I.1.3.2. Pré-mutation .....	16
I.1.3.3. Héritéité.....	17
I.1.4. DEFAUTS ANATOMIQUES ET HISTOLOGIQUES.....	17
I.1.5. MODELES ANIMAUX SXF .....	18
<b>I.2. FRAGILE X MENTAL RETARDATION PROTEIN (FMRP)</b> .....	<b>19</b>
I.2.1. GENERALITES .....	19
I.2.2. DISTRIBUTION TISSULAIRE .....	20
I.2.3. DU GENE <i>FMR1</i> A LA PROTEINE FMRP.....	21
I.2.4. FONCTIONS DE FMRP.....	22
I.2.4.1. Régulation de la traduction .....	23
I.2.4.1.1. Traduction locale .....	24
I.2.4.1.2. La théorie mGluR .....	24
I.2.4.2. Régulation du transport .....	26
I.2.4.3. Contrôle de la stabilité.....	26
I.2.5. CIBLES DE FMRP .....	27
I.2.6. FMRP ET DEVELOPPEMENT.....	28
<b>I.3. MIGRATION NEURONALE</b> .....	<b>30</b>
I.3.1. GENERALITES .....	30
I.3.2. TYPES DE MIGRATION NEURONALE.....	31
I.3.3. MIGRATION NEURONALE AU SEIN DU CORTEX CEREBRAL .....	31
I.3.3.1. Migration radiaire .....	31
I.3.3.2. Migration tangentielle .....	33
I.3.3.3. Différences entre le néocortex murin et humain.....	34
I.3.4. LA NEUROGENESE ADULTE .....	36

I.3.5. LE COURANT DE MIGRATION ROSTRALE .....	37
I.3.5.1. Le courant de migration rostrale murin .....	38
I.3.5.1.1. Prolifération sous-ventriculaire .....	38
I.3.5.1.2. Migration tangentielle .....	38
I.3.5.1.2.1. Environnement extracellulaire du CMR .....	40
I.3.5.1.2.1.1. Signaux attractifs et répulsifs .....	40
I.3.5.1.2.1.2. Matrice extracellulaire .....	42
I.3.5.1.2.2. Mécanistique intrinsèque de la migration saltatoire .....	43
I.3.5.1.2.2.1. Caractéristiques générales .....	43
I.3.5.1.2.2.2. Migration saltatoire .....	44
I.3.5.1.3. Arrivée dans le bulbe olfactif.....	46
I.3.5.2. Le courant de migration rostrale humain .....	46
<b>I.4. MAP1B .....</b>	<b>48</b>
I.4.1. GENERALITES .....	48
I.4.2. STRUCTURE ET MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES.....	49
I.4.2.1. Structure.....	49
I.4.2.2. Modifications post-traductionnelles : phosphorylation .....	50
I.4.3. PROFIL D'EXPRESSION .....	50
I.4.4. FONCTIONS CANONIQUES DE MAP1B .....	51
I.4.4.1. Rôle au sein des microtubules.....	52
I.4.4.2. Contribution à la neuritogenèse.....	52
I.4.5. MAP1B ET MIGRATION NEURONALE .....	54
I.4.6. MAP1B ET FMRP .....	55
<b>II. CONTEXTE DU PROJET.....</b>	<b>57</b>
<b>III. RÉSULTATS.....</b>	<b>60</b>
<b>III.1. ARTICLE (NON SOUMIS) .....</b>	<b>60</b>
<b>III.2. L'ABSENCE DE FMRP NE CONDUIT PAS A DES DEFAUTS DE MIGRATION TANGENTIELLE CHEZ L'EMBRYON .....</b>	<b>96</b>
III.2.1. RESULTATS .....	96
III.2.2. MATERIEL ET METHODES .....	100
III.2.2.1. Électroporation in utero.....	100
III.2.2.2. Coupes de cerveau aiguës embryonnaires .....	100
III.2.2.3. Vidéomicroscopie de tranches d'embryons.....	101
III.2.2.4. Quantification et analyse des paramètres de migration (comme pour le postnatal).....	101
III.2.2.4.1. Vitesse de migration .....	101
III.2.2.4.2. Temps de pause .....	101
III.2.2.4.3. Index de sinuosité .....	102
III.2.2.4.4. Directionnalité .....	102

III.2.2.4.5. Distance de nucléokinèse .....	103
III.2.2.4.6. Fréquence de nucléokinèse .....	103
III.2.2.4.7. Vitesse de centrokinèse .....	103
III.2.2.4.8. Fréquence de centrokinèse .....	103
III.2.2.4.9. Efficacité de centrokinèse .....	103
<b>IV. DISCUSSION .....</b>	<b>106</b>
<b>IV.1. LE PHENOTYPE MIGRATOIRE DECRIT .....</b>	<b>107</b>
<b>IV.2. UN PHENOTYPE AUTONOME CELLULAIRE.....</b>	<b>108</b>
<b>IV.3. L'IMPLICATION DE MAP1B DANS LE PHENOTYPE MIGRATOIRE .....</b>	<b>110</b>
<b>IV.4. HYPOTHESES SUR LE MECANISME D'ACTION DE MAP1B DANS LES NEURONES DE CMR.....</b>	<b>113</b>
<b>IV.5. LE PHENOTYPE POSTNATAL N'EST PAS RETROUVE AU STADE EMBRYONNAIRE.....</b>	<b>115</b>
<b>IV.6. PERSPECTIVES .....</b>	<b>116</b>
<b>V. LISTE DES ABRÉVIATIONS.....</b>	<b>119</b>
<b>VI. BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>122</b>

## Table des figures

FIGURE 1: SCHÉMA DES MANIFESTATIONS CLINIQUES TYPIQUES DU SYNDROME DE L'X FRAGILE (SALDARRIAGA ET AL., 2014).....	12
FIGURE 2: PHOTO D'UN GARÇON ATTEINT DE SXF AVEC UN VISAGE ALLONGÉ, DES OREILLES PROÉMINENTES ET UNE HYPOTONIE FACIALE (CIACCIO ET AL. 2017). .....	13
FIGURE 3: SCHÉMA DÉCRIVANT LE PROFIL DE TRANSCRIPTION ET DE TRADUCTION DE FMR1 CHEZ LES INDIVIDUS NORMAUX, PORTEURS DE PRÉ-MUTATION ET DE MUTATION COMPLÈTE (HAGERMAN ET AL., 2009). .....	16
FIGURE 4: REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DU GÈNE FMR1 ET DE LA PROTÉINE FMRP (MALECKI ET AL. 2020). .....	21
FIGURE 5: SCHÉMA ILLUSTRANT LES DIFFÉRENTS RÔLES CYTOPLASMIQUES DE FMRP (RICHTER ET AL. 2021)..	22
FIGURE 6: REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES MULTIPLES FONCTIONS NEURONALES DE FMRP (RICHTER ET AL. 2021). .....	28
FIGURE 7: SCHÉMA ILLUSTRANT LES DEUX MODES DE MIGRATION NEURONALE ET LEURS DIRECTIONS RESPECTIVES. ....	31
FIGURE 8: SCHÉMA ILLUSTRANT LES DIFFÉRENTES VOIES DE MIGRATION DANS LE CERVEAU EN DÉVELOPPEMENT (ÉVSYUKOVA ET AL. 2013). .....	33
FIGURE 9: REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE ILLUSTRANT LES FLUX DE MIGRATION TANGENTIELLE DANS LE NÉOCORTEX MURIN (NADARAJAH ET AL. 2002). .....	34
FIGURE 10: SCHÉMA ILLUSTRANT LES DIFFÉRENCES ENTRE LES NÉOCORTEX HUMAIN ET MURIN (BUCHSBAUM ET AL. 2019).....	35
FIGURE 11: LES ZONES DE NEUROGENÈSE ADULTE.....	36
FIGURE 12: REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE L'ORGANISATION DE LA ZSV ADULTE (ALVAREZ-BUYLLA ET AL. 2002). .....	38
FIGURE 13: SCHÉMA REPRÉSENTANT LA MIGRATION DES NEUROBLASTES DE TYPE A (A) DEPUIS LA ZONE SOUS-VENTRICULAIRE (SVZ) JUSQU'AU BULBE OLFACTIF (BO), LE LONG DU COURANT DE MIGRATION ROSTRALE (CMR) (SUN ET AL. 2010). .....	39
FIGURE 14: DÉCOURS TEMPOREL DE L'ORGANISATION DU CMR POSTNATAL (PERETTO ET AL. 2005). .....	40
FIGURE 15: MÉCANISMES RÉGULANT LA MIGRATION DIRIGÉE DES NEUROBLASTES LE LONG DU CMR (KANEKO ET AL. 2017).....	41
FIGURE 16: LE MOUVEMENT SALTATOIRE DES NEUROBLASTES MIGRANTS (KANEKO ET AL. 2017).....	45

FIGURE 17 : COURANTS MIGRATOIRES DANS LE LOBE FRONTAL DU NOUVEAU-NÉ HUMAIN (PAREDES ET AL. 2016). .....	47
FIGURE 18: SCHÉMA REPRÉSENTANT LA STRUCTURE PROTÉIQUE DE MAP1B AVEC SES DIFFÉRENTS DOMAINES DE LIAISON AUX MTS (MICROTUBULE BINDING) ET À L'ACTINE (F-ACTIN BINDING) AINSI QUE SON SITE DE CLIVAGE (CLEAVAGE SITE). SCHÉMA ADAPTÉ DE HALPAIN ET AL. 2006.....	49
FIGURE 19 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE TOUTES LES FONCTIONS SUBCELLULAIRES DE MAP1B (VILLARROEL-CAMPOS AND GONZALEZ-BILLAULT, 2014).....	51
FIGURE 20 : REPRÉSENTATION DE LA DISTRIBUTION DE P1-MAP1B (EN VERT) DANS UN NEURONE PYRAMIDAL HIPPOCAMPIQUE (ADAPTÉ DE GONZALEZ-BILLAULT 2004).....	52
FIGURE 21 : REPRÉSENTATION DE L'EFFET DE LA DÉLÉTION DE MAP1B SUR L'ÉLONGATION AXONALE (ADAPTÉ DE GONZALEZ-BILLAULT ET AL. 2004). .....	53
FIGURE 22 : ÉLECTROPORATION IN UTERO. ....	98
FIGURE 23: MIGRATION TANGENTIELLE EMBRYONNAIRE DES NEURONES FMR1-NULL.....	99
FIGURE 24: ANALYSE Q RT PCR DES CELLULES HEK TRANSFECTÉES AVEC MIRFMR1 OU MIRNEG.....	109



## Remerciements

Tout d'abord, je voudrais adresser mes remerciements à tous les membres qui ont accepté de faire partie de mon jury. Je remercie particulièrement mes rapporteurs, Dr. Olivier Raineteau et Dr. Hervé Moine qui ont accepté d'évaluer mon travail et de prendre le temps de lire mon manuscrit. Je remercie également Dr. Barbara Bardoni pour son suivi tout au long de ma thèse et ses encouragements. Je remercie Dr. Richard Belvindrah d'avoir accepté d'être examinateur dans mon jury.

Aussi, je tiens à adresser mes remerciements particuliers à ma directrice de thèse, le professeur Isabelle Caillé qui m'a beaucoup aidée tout au long de la rédaction du manuscrit et qui m'a encadré tous les jours pour ma thèse. Merci pour ton aide et tes conseils quotidiens et merci de m'avoir donné la chance d'écrire cette jolie histoire de FMRP à tes côtés.

Je veux aussi remercier tous les membres de mon équipe DPRN, à commencer par les chefs d'équipe : les professeurs Alain Trembleau et Isabelle Dusart, merci pour votre accueil au sein de l'équipe et pour votre bienveillance. Un remerciement particulier pour ces derniers mois pendant lesquels vous avez pu vous rendre disponibles pour m'aider dans les dernières étapes. Un grand merci à toute l'équipe aussi pour votre accueil, votre gentillesse et votre présence.

Merci Mohamed pour ton aide précieuse et pour les analyses statistiques, on a de la chance d'avoir un bio-informaticien de talent dans notre équipe.

Merci Caro pour ta bienveillance et ta gentillesse, ça m'a fait super plaisir de t'avoir connue, surtout au cours de ces derniers mois. Petite pensée pour la fuite d'eau à la cafet', je m'en souviendrai !

Merci Marie-Pierre pour ta présence, pour nos conversations qui font vraiment du bien et qui m'ont beaucoup apporté. Tu as été présente à des moments clé et tu as su me redonner de la motivation et des petits coups de boost alors merci pour ça.

Merci Orianette pour nos longues discussions, pour ton aide avec les Western (et un tas d'autres choses) et pour ta disponibilité. Je sais que je peux toujours échanger avec toi et même si les manips ce n'est pas toujours un long fleuve tranquille, on arrive à en rire et donc à relativiser. Alors merci d'être là, je suis vraiment contente d'avoir commencé cette aventure (presque) en même temps que toi. Encore un grand bravo pour ta soutenance, c'était un super moment, tu peux être fière de toi.

Coralie, ma seule colocataire de bureau qui a été là du début à la fin de cette aventure ! Merci pour ta présence, pour nos pauses, pour nos rires, pour ton aide précieuse et ton soutien. Tu arrives à te rendre toujours disponible malgré tes (nombreuses/diverses...) responsabilités, dans la sérénité et la bonne humeur. Merci pour tout ça et merci pour ta gentillesse, je suis vraiment heureuse de te connaître. Courage pour la thèse, je suis sûre que tu seras une superbe Dr Fouquet !

Merci Ada et Théo, c'était chouette de partager ces derniers mois avec vous, j'espère que vos thèses se passeront dans les meilleures conditions.

Merci à toi aussi Pénélope, on a démarré la thèse en même temps et je suis vraiment contente de vivre cette expérience avec toi. Merci pour nos pauses, tes petits coups de fil du confinement, ta bonne humeur et ta présence. Salle de rédaction, on est là !

Merci à toutes les personnes que j'ai croisé durant ma thèse et qui ne sont plus au labo maintenant : Sarujan, ravie d'avoir fait ta connaissance et d'avoir échangé avec toi pendant quelques temps. Liza, merci pour ton humour, c'était un plaisir de passer quelques mois avec toi. Julie, un grand merci pour ton aide précieuse pour l'apprentissage des techniques et pour ton aide tout au long de mon initiation : tes conseils m'ont beaucoup aidée. Oriane, un grand merci à toi pour ta joie de vivre et toutes nos pauses de fin de journée, c'était vraiment un plaisir et une vraie source de re-motivation à chaque fois.

Je tiens à adresser un remerciement tout particulier à ma maman, qui a toujours cru en moi, qui m'a toujours encouragée, rassurée et soutenue par tous les moyens. T'avoir à mes côtés tous les jours est une chance inouïe et un réel moteur. Tu me donnes une force incroyable et ta foi inconditionnelle en moi ne cesse de me porter. Merci maman.

Un grand merci aussi à toute ma famille, vous êtes tous (autant que vous êtes !) une vraie source de courage et de force. Je suis fière de faire partie de cette immense et belle tribu qu'est notre grande famille. Merci à vous.

Un grand merci aussi à tous mes amis qui ont été d'un soutien sans faille durant cette thèse (et pas que). Jonathan, Yasmine, Chérine et Joanna, vous êtes des personnes extraordinaires et je suis tellement heureuse de vous avoir dans ma vie.

Je veux aussi remercier mon ami de longue date, mon frère, qui a été aux petits soins tout au long de la thèse, qui m'a épaulée et soutenue. Merci à toi de faire partie de ma vie, c'est si précieux de t'avoir.

Je veux remercier aussi tous les doctorants avec lesquels j'ai vécu cette expérience de la thèse : Agathe, Cuong, Maxime, Tinaïg, Eléonore et tous les autres. C'est une vraie chance de vous avoir eu tous les jours, d'avoir pu compter sur vous pour partager et se soutenir. Et j'en profite aussi pour remercier toutes les personnes que j'ai croisé en thèse, ces années ont été dures mais belles (surtout par leurs rencontres) et m'ont beaucoup faite évoluer, chacun et chacune d'entre vous y avez contribué à sa manière. Alors merci pour ça.

J'aimerais aussi remercier les personnes de la plateforme d'imagerie : Suzanne, Jean-François, France et Chloé, merci pour votre aide et vos conseils précieux.

# INTRODUCTION

# I. Introduction

## I.1. Syndrome de l'X Fragile

### I.1.1. Généralités cliniques et épidémiologiques

Le Syndrome de l'X Fragile (SXF) est une maladie génétique rare (OMIM : 300624), c'est la première cause héréditaire de déficience intellectuelle et la principale cause mono-génique d'autisme (Mila et al., 2018). Le tableau clinique des patients atteints, peu spécifique du SXF, présente une grande variabilité interindividuelle, il inclut notamment un déficit intellectuel, des troubles du comportement ainsi que des anomalies physiques ("Orphanet: Recherche de maladies," n.d.).

10 000 personnes sont porteuses de l'anomalie génétique (avec ou sans manifestations) en France et la prévalence du SXF est estimée à environ 1 garçon sur 7 000 et 1 fille sur 11 000 (Hunter et al., 2014). Cependant, la sévérité de la symptomatologie est plus importante chez les hommes que chez les femmes atteintes de SXF. En effet, la majorité des garçons malades présentent une déficience intellectuelle associée à des troubles du comportement plus prononcés. Le tableau clinique masculin inclut généralement des troubles de déficit de l'attention, de l'hyperactivité, de l'anxiété et des symptômes du spectre autistique (Bailey et al., 2008). Paradoxalement, les filles porteuses de cette anomalie génétique ont des manifestations moins marquées ; avec principalement des troubles liés à l'apprentissage et des difficultés socio-émotionnelles (ou hyperémotivité) (Hagerman et al., 2017). Ainsi, cette différence phénotypique entre les deux sexes a conduit, historiquement, au retard voire à l'absence du diagnostic d'une grande partie des femmes atteintes, celles-ci étant principalement surveillées lorsqu'un apparenté mâle est diagnostiqué. Par conséquent, la prévalence des femmes atteintes de SXF est probablement sous-estimée (Bartholomay et al., 2019).

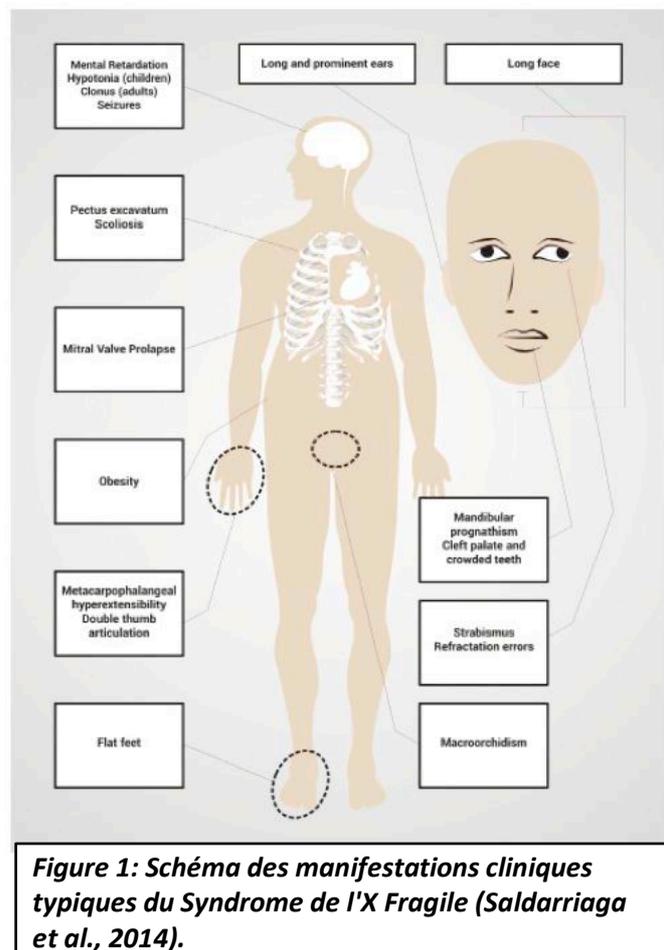
## I.1.2. Sémiologie

### I.1.2.1. Manifestations cliniques chez les garçons

Bien que la caractéristique clinique principale du syndrome de l’X fragile soit la déficience intellectuelle, cette pathologie est bien plus complexe qu’un déficit intellectuel isolé et répond à tous les critères d’une maladie multi-systémique (**Figure 1**). Ainsi, la symptomatologie du SXF peut s’exprimer à plusieurs niveaux physiologiques et ce, suivant le stade pubertaire (Kidd et al., 2014). Durant les premières années de vie, les manifestations cliniques sont le plus souvent inexistantes, mais certains symptômes peuvent tout de même être observés (Hunter et al., 1993):

- Une hypotonie (faiblesse musculaire) associée à un retard du développement psychomoteur (marche et posture assise),
- Des retards dans l’acquisition et le développement du langage,
- Une macrocéphalie (circonférence crâniale > 50<sup>e</sup> percentile) (Lachiewicz et al., 2000),
- Des troubles du sommeil,
- Des otites et des reflux gastro-œsophagiens plus fréquents.

La sémiologie du SXF, bien qu’elle soit de distribution variable, se révèle plus distinctement au cours de l’enfance avec :



- Un déficit intellectuel caractérisé par un Quotient Intellectuel (QI) moyen chez les garçons de 40-45 (Sansone et al., 2014), sachant que la déficience intellectuelle est avérée par un QI < 70 (QI de la population générale entre 70 et 130). De cette déficience intellectuelle découlent des anomalies cognitives : problèmes de langage, de compréhension et de mémoire à court terme (essentielle à l'apprentissage de la lecture et des mathématiques notamment) (Ciaccio et al., 2017).
- Des symptômes du Trouble de Déficit de l'Attention / Hyperactivité (TDAH) décelé chez 53 à 59% des garçons porteurs du SXF (Sullivan et al., 2006) : hyperactivité, impulsivité, inattention conduisant à des difficultés sociales et scolaires.
- Des symptômes du Trouble du Spectre de l'Autisme (TSA) retrouvés dans 90% des garçons atteints de SXF, sachant que le TSA *per se* est diagnostiqué dans 50 à 60% d'entre eux (Abbeduto et al., 2019) : interaction sociale atypique (évitement du contact visuel, retrait et anxiété par rapport à l'environnement social), mouvements répétitifs ou stéréotypés, agressivité dirigée contre soi ou envers autrui (Hernandez et al., 2009). De plus, cette comorbidité est à l'origine de troubles cognitifs, linguistiques, sociaux et comportementaux plus prononcés (Talisa et al., 2014).
- Des épisodes épileptiques retrouvés dans 10 à 20% des garçons porteurs du syndrome de l'X fragile (Berry-Kravis, 2002).
- Des manifestations physiques (Lachiewicz et al., 2000): un faciès subtil mais évocateur (visage et/ou mâchoire allongés, front large, oreilles proéminentes, hypotonie faciale, strabisme) (**Figure 2**), une hyperlaxité articulaire pouvant conduire à des comorbidités orthopédiques (scoliose, pieds plats, thorax creux). Ces signes deviennent de plus en plus évidents avec l'âge (surtout après la puberté) même si environ 30% des garçons atteints ne présenteront aucun signe morphologique évident (Ciaccio et al., 2017).



**Figure 2: Photo d'un garçon atteint de SXF avec un visage allongé, des oreilles proéminentes et une hypotonie faciale (Ciaccio et al. 2017).**

Après la puberté, la symptomatologie décrite ci-dessus persiste et tend à s'accroître notamment en ce qui concerne les troubles du comportement :

- Tandis que l'hyperactivité a tendance à s'atténuer, l'agressivité, l'anxiété et la phobie sociale peuvent s'aggraver et s'accompagner, de plus de troubles dépressifs, retrouvés chez 8 à 12% des patients SXF (Talisa et al., 2014; Weber et al., 2019). Dans ce contexte, l'environnement familial semble avoir un rôle majeur quant à l'évolution de la trajectoire psycho-sociale des personnes atteintes (Smith et al., 2016).
- La macro-orchidie (bourses et testicules volumineuses), qui se manifeste rarement avant la puberté, est présente dans 80 à 95% des patients adultes : la moyenne de leur volume testiculaire est de 50 mL contre moins de 25 mL dans la population générale (Ciaccio et al., 2017).
- Des anomalies cardiaques entraînées par l'hyperlaxité peuvent également apparaître (Loehr et al., 1986; Sreeram et al., 1989): un anévrisme de l'aorte initiale est décrit dans 25% des patients ainsi qu'un prolapsus de la valve mitrale (22-50%), à l'origine d'un risque plus élevé de contracter une endocardite.

A l'âge adulte (>40 ans), les patients porteurs du syndrome développent des comorbidités cardiovasculaires telles que l'hypertension (24.2%), au même titre que dans la population générale. Des troubles gastro-intestinaux peuvent également être rencontrés (30.6%) ainsi que des anomalies oculaires. Au niveau métabolique, le surpoids et l'obésité sont fréquents avec 53-61% des patients SXF concernés (Utari et al., 2010).

#### 1.1.2.2. Manifestations cliniques chez les filles

De manière générale, le phénotype des filles atteintes du syndrome de l'X fragile est moins sévère que celui des garçons, aussi bien sur le plan physique que cognitif (Hagerman et al., 1992). Seulement 25% d'entre elles présentent une déficience intellectuelle (QI<70) contre environ 100% des garçons (Ciaccio et al., 2017). Ainsi, leur déficits cognitifs et académiques sont largement moins marqués, ce qui leur ouvre la voie d'une insertion sociale plus accessible (Bartholomay et al., 2019; Hartley et al., 2011). Cependant, d'un point de vue socio-émotionnel, les filles et femmes porteuses de cette anomalie génétique semblent tout de même plus vulnérables. Ainsi, celles-ci sont en proie à des troubles anxieux (anxiété sociale,

retrait, évitement social) dans 56% des cas et 22% d'entre elles révèlent une tendance dépressive (Bartholomay et al., 2019).

### I.1.3. Étiologie

#### I.1.3.1. Mutation complète

Initialement décrit en 1943 par Martin et Bell dans une famille ségrégant des troubles mentaux, le syndrome Martin-Bell est alors considéré comme une forme héréditaire de déficience intellectuelle récessive dont la transmission est liée au chromosome X (Martin and Bell, 1943). En 1969, le site cytogénétique « fragile » sur le chromosome X associé à une forme familiale intergénérationnelle de déficience intellectuelle est identifié (Lubs, 1969). Et ce n'est qu'en 1991 que la position 27.3 du bras long du chromosome X (Xq27.3) a été associée au gène *FMR1* (Fragile X Mental Retardation 1) et au syndrome de l'X fragile (Verkerk et al., 1991).

Ainsi, plus de 99% des individus atteints du SXF présentent une perte de fonction du gène *FMR1*, due à l'expansion anormale de répétitions tri-nucléotidiques largement plus élevée que la normale. En effet, des triplets de nucléotides CGG sont localisés dans la région non codante 5' UTR (Untranslated Transcribed Region) du gène *FMR1* et dans le contexte du syndrome, leur nombre est supérieur à 200 répétitions (mutation complète ou Full Mutation (FM)). Cette expansion est à l'origine de l'hyper-méthylation des îlots CpG en amont du gène, situés au niveau du promoteur, conduisant à l'inactivation de *FMR1* et à l'absence de la protéine correspondante FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein) (Pieretti et al., 1991).

L'absence de FMRP résulte donc d'une mutation dynamique et la longueur d'expansion des triplets peut être variable d'une génération à l'autre et au sein du même individu. Chez les personnes non atteintes, il y a 5 à 44 CGG dans la région 5' UTR du gène *FMR1*. De 45 à 54 répétitions, une zone « grise » est définie, elle inclut des personnes qui ne présentent généralement aucun symptôme mais pouvant manifester des signes neuropsychologiques (Debrey et al., 2016). Enfin, une Pré-mutation (PM) est associée à un nombre de triplets allant de 55 à 200 et concerne 1 homme sur 850 et 1 femme sur 300 (Hunter et al., 2014).

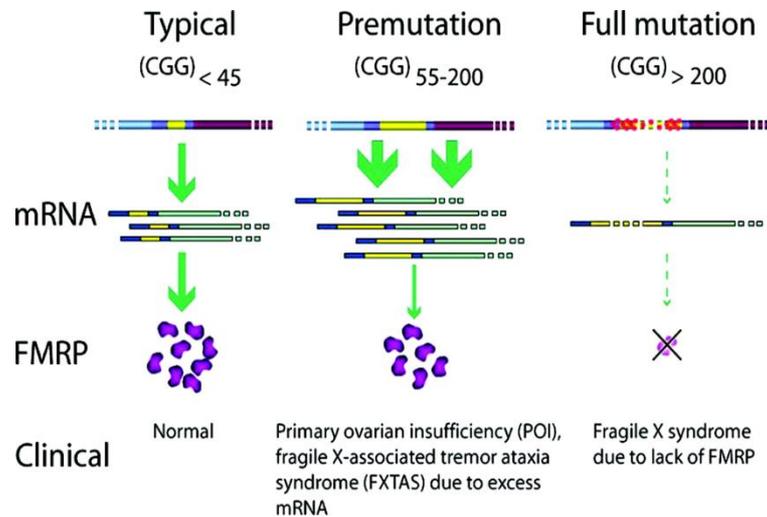
### I.1.3.2. Pré-mutation

Contrairement aux mutations complètes qui conduisent à l'absence de la protéine FMRP, les pré-mutations sont à l'origine d'une augmentation du niveau d'ARNm (Acide RiboNucléique messenger) de *FMR1*, même si le taux de protéines reste

diminué par rapport à la norme (Figure 3) (Kenneson et al., 2001). Les PM ont initialement été identifiées chez des femmes présentant une ménopause précoce

(Cronister et al., 1991) et leurs porteurs ont un risque plus élevé de développer des syndromes dits associés à l'X Fragile. La FXPOI ou Insuffisance Ovarienne Précoce associée à l'X Fragile est une insuffisance ovarienne (hypogonadisme) accompagnée d'une sécrétion excessive d'hormones (hypergonadotrope) observée chez 20% des femmes porteuses de la pré-mutation (contre 1% seulement dans la population générale) (Sherman, 2000). De plus, le FXTAS ou Syndrome du Tremblement Ataxie associé à l'X Fragile est une maladie neurodégénérative se développant à l'âge adulte et se caractérisant par un tremblement intentionnel et une ataxie de la marche (Hunter et al., 1993). Sa prévalence parmi les porteurs de PM est estimée à 40-45% pour les hommes contre 16% pour les femmes (Jacquemont et al., 2004).

La discrimination bien nette entre les caractéristiques symptomatologiques des patients porteurs de la mutation complète et des individus pré-mutés suggère fortement que les variations du nombre de répétitions tri-nucléotidiques entraîne des processus pathologiques



**Figure 3: Schéma décrivant le profil de transcription et de traduction de *FMR1* chez les individus normaux, porteurs de pré-mutation et de mutation complète (Hagerman et al., 2009).**

**Les niveaux d'ARNm *FMR1* sont élevés dans le contexte de la pré-mutation et diminués voire absents avec la mutation complète (Full Mutation). Les niveaux de la protéine FMRP sont normaux ou presque normaux dans le contexte de la pré-mutation mais diminués voire absents avec la mutation complète.**

bien distincts (Hagerman, 2013). L'analyse des profils d'expression de FMRP en parallèle au niveau transcriptionnel de *FMR1* chez les individus porteurs de pré-mutations ont révélés des résultats contradictoires. Tandis que le niveau d'ARNm est 2 à 8 fois plus élevé chez les individus pré-mutés comparés à ceux ayant des allèles de taille normale, le niveau protéique est légèrement diminué quant à lui (Kenneson et al., 2001; Primerano et al., 2002). Le phénotype découle donc d'un excès d'ARNm, et non pas d'une perte de fonction de la protéine FMRP (Hagerman, 2013). Cette notion de gain de fonction toxique de l'ARNm *FMR1* représente une clé pour la compréhension des pathologies atteignant les patients porteurs de pré-mutations.

### I.1.3.3. Hérité

Le syndrome de l'X Fragile est une pathologie génétique qui ne suit pas un schéma d'hérité Mendélien. Ainsi, la transmission transgénérationnelle est gouvernée par la stabilité du nombre de triplets CGG au niveau du promoteur du gène *FMR1*, ce phénomène est mieux connu sous le nom d'anticipation. L'anticipation, dans le cadre du SXF, se produit par exemple lorsqu'un parent portant une pré-mutation (donc asymptomatique ou potentiellement atteint d'un syndrome associé) transmet une mutation complète aux générations futures (Hunter et al., 1993). De ce fait, presque tous les allèles portant plus de 100 répétitions donneront une mutation dite complète dans la génération suivante, lorsqu'ils sont transmis par la mère (Nolin et al., 2011) (plus rarement par le père). Considérant la fréquence des femmes porteuses de la PM dans la population générale (1/300), ce risque n'est donc pas négligeable.

Par ailleurs, étant donné que l'étiologie du SXF réside dans le chromosome X, le phénotype des patientes hétérozygotes pour la mutation est directement corrélé au profil d'inactivation du chromosome X (Bartholomay et al., 2019), s'établissant aléatoirement au cours de l'embryogenèse. Ceci pourrait donc expliquer la symptomatologie globalement moins sévère chez les filles et la différence de prévalence entre les deux sexes.

### I.1.4. Défaits anatomiques et histologiques

De manière générale, aucune malformation cérébrale majeure n'est décrite pour les patients atteints de SXF, que ce soit en matière de volume, de symétrie, de conformation ou

d'architecture. L'exploration de l'aspect neuroanatomique de la pathologie par l'analyse d'IRM (Imagerie à Résonance Magnétique) de patients porteurs de la mutation permet de confirmer l'absence de défaut majeur (Ciaccio et al., 2017). Cependant, parmi les rares anomalies qui peuvent être observées, l'hypoplasie du vermis cérébelleux est la première qui a été décrite. Le vermis est connecté anatomiquement à l'hippocampe et l'amygdale, deux structures impliquées dans l'exécution et la régulation du mouvement, le traitement auditif et quelques aspects du langage. Un rapprochement entre cette anomalie et certains symptômes du SXF (hyperactivité, stéréotypies, déficit de l'attention, troubles du langage...) peut être établi (Hessl et al., 2004).

D'autres anomalies neuroanatomiques ont fait l'objet de publications mais celles-ci n'étant pas nombreuses et ne concernant que des échantillons très restreints, elles ne seront pas détaillées ici.

*A contrario*, une morphologie atypique des épines dendritiques a été plus largement décrite, et ce dans les cortex temporal et visuel. Les épines dendritiques des patients SXF sont tortueuses, allongées, denses et immatures (Hinton et al., 1991; Irwin et al., 2001). L'aspect anormal des épines dans plusieurs régions cérébrales suggère un défaut global de la maturation des dendrites. La maturation dendritique étant essentielle à la transmission synaptique, ces défauts morphologiques peuvent potentiellement être reliés aux troubles neurocomportementaux décrits dans le SXF.

#### I.1.5. Modèles animaux SXF

La modélisation du syndrome de l'X fragile chez l'animal est un moyen déterminant pour la meilleure caractérisation biologique et moléculaire des mécanismes impliqués dans cette pathologie. Ainsi, de nombreux modèles animaux du SXF ont été développés : drosophile, zebrafish, rat et souris (Consortium et al., 1994; Hamilton et al., 2014, p. 1; McBride et al., 2012, 2005; Tucker et al., 2004). Les efforts se sont concentrés sur le développement du modèle murin de la maladie : les souris *Fmr1-null*. Les premières souris *Fmr1-null* ont été générées grâce à des cellules souches embryonnaires et des souris sauvages de la souche C57BL/6J (Consortium et al., 1994). Un vecteur contenant une insertion dans l'exon 5 de la séquence nucléotidique de *Fmr1* et entraînant la délétion de ce gène a été introduit dans des

cellules souches embryonnaires. Ces cellules souches modifiées ont ensuite été implantées dans une femelle pseudo-gestante.

Plusieurs évaluations de ce modèle murin ont établi un phénotype comportemental et cellulaire robuste et commun, notamment en ce qui concerne la morphologie des neurones et les manifestations de l'hyperactivité. En revanche, certains aspects cognitifs tels que l'anxiété ou les comportements sociaux sont très variables entre les études (Kazdoba et al., 2014). Étant donné l'association du tableau clinique du SXF à une diminution du niveau protéique de FMRP, la délétion complète du gène constitue un bon moyen de reproduire toutes les manifestations du syndrome. Cependant, chez l'Homme, cette pathologie est associée à une expansion anormale du gène conduisant à son hyper-méthylation. Cette différence génotypique pourrait être à l'origine des discordances entre les phénotypes décrits chez les différents modèles murins. Aussi, les patients atteints de SXF présentent un éventail de manifestations extrêmement variable en termes de sévérité, de persistance... Ainsi, les divergences retrouvées dans les différentes études du modèle murin de la maladie pourraient simplement être le reflet de la diversité phénotypique humaine.

En définitive et malgré des variations documentées entre les différentes colonies de souris *Fmr1-null*, le modèle murin du syndrome de l'X fragile demeure robuste et largement utilisé de nos jours.

## I.2. Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP)

### I.2.1. Généralités

Le syndrome de l'X fragile est associé, d'un point de vue moléculaire, à l'extinction du gène *FMR1* qui conduit à l'absence du produit d'expression de ce gène : la protéine FMRP. De ce fait, la meilleure compréhension du SXF est inévitablement reliée à l'exploration des différentes fonctions cellulaires de cette protéine. La littérature compte nombre de publications consacrées à FMRP et a ainsi permis de mettre en lumière plusieurs rôles de cette protéine. L'éventail des processus moléculaires engageant FMRP est très large et diversifié (Richter and Zhao, 2021). Il comporte notamment le transport d'ARNm (Bassell and Warren, 2008; De Diego Otero et al., 2002; Ohashi et al., 2002), le remodelage du cytosquelette (De

Rubeis et al., 2013) mais également la réponse aux dommages de l'ADN dans le noyau (Alpatov et al., 2014). Cependant, la fonction qui demeure la mieux caractérisée est la répression traductionnelle de certains ARNms par FMRP.

FMRP est fortement exprimée dans le cerveau mais c'est une protéine ubiquitaire, ce qui lui confère d'autres rôles bien spécifiques dans différents organes (Verheij et al., 1995). L'expression ubiquitaire de FMRP est à l'origine du panel extrêmement riche de symptômes (par exemple musculaires ou cardiovasculaires) accompagnant les manifestations neurologiques des patients SXF.

### 1.2.2. Distribution tissulaire

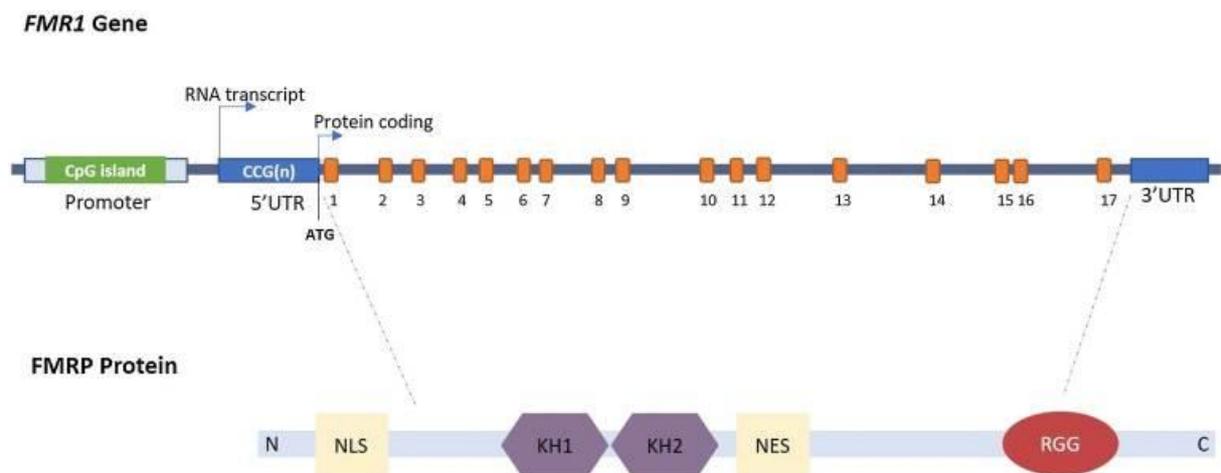
La protéine FMRP est exprimée dans l'ensemble du corps humain avec une variabilité de distribution relative en fonction des tissus et un niveau d'expression plus élevé observé dans le cerveau et les testicules (Khandjian et al., 1995). FMRP est également retrouvée dans les tissus épithéliaux, plus particulièrement dans les cellules basales en division de la peau, de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin et de l'appareil respiratoire (Devys et al., 1993, p. 1).

Une observation plus précise de la distribution cérébrale de FMRP chez l'Homme démontre qu'elle est localisée dans les régions riches en neurones, notamment dans le cervelet et l'hypothalamus (Devys et al., 1993). *A contrario*, la substance blanche, constituée principalement d'axones myélinisés et de cellules gliales, n'exprime que très peu de FMRP (Devys et al., 1993). Au niveau du neurone lui-même, la protéine est abondamment présente au niveau du corps cellulaire mais très peu dans le noyau (Willemsen et al., 1996).

Chez la souris adulte, FMRP est présente dans le cerveau, les poumons, les reins, l'intestin, le colon, le foie, les yeux, le placenta et les ovaires (Khandjian et al., 1995). Des similarités existent quant à la distribution de cette protéine dans les cerveaux humains et murins, notamment en ce qui concerne la forte expression dans les régions riches en neurones. FMRP a également été observée dans les cellules gliales du cerveau murin en développement postnatal (Gholizadeh et al., 2015).

### I.2.3. Du gène *FMR1* à la protéine FMRP

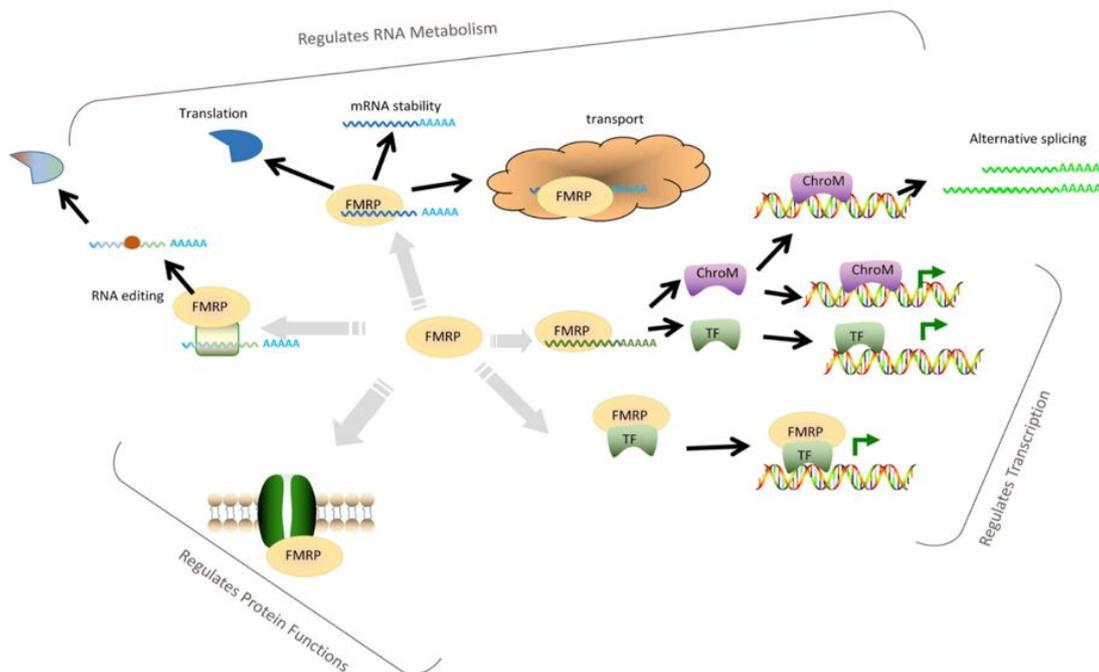
Le transcrit de *FMR1* code pour la protéine FMRP, ayant une masse moléculaire de 70kDa. Cette protéine est constituée de plusieurs domaines fonctionnels dont trois domaines de liaison aux ARN : deux motifs KH (K-Homology) et un motif RGG (Arginine Glycine Rich), en plus d'un NLS (Nuclear Localization Signal) et d'un NES (Nuclear Export Signal) (Malecki et al., 2020) (**Figure 4**). De plus, il apparaît que le domaine N terminal de la protéine possède également une activité de liaison à l'ARN (Adinolfi et al., 2003, 1999). La présence de plusieurs motifs de liaison aux ARN est une caractéristique répandue chez les RBPs (RNA-Binding Proteins) et permet d'accroître la spécificité pour leurs cibles respectives ainsi que de lier plusieurs ARNs en même temps (Darnell et al., 2005). L'étude des différents domaines fonctionnels de FMRP a considérablement contribué à la meilleure compréhension de cette protéine et ses différents rôles biologiques.



**Figure 4: Représentation schématique du gène *FMR1* et de la protéine FMRP (Malecki et al. 2020). *FMR1* présente une région codante composée de 17 exons. La région 5'UTR contient une répétition CGG de taille variable (CGG(n)). Un nombre de répétitions supérieur à 200 CGG induit une méthylation de l'ADN d'un îlot CpG situé dans la région promotrice du gène. Le produit protéique du gène *FMR1* est la protéine FMRP composée d'un NLS (Nuclear Localization Signal), un NES (Nuclear Export Signal), deux motifs K-Homology et un motif RGG (Arginine Glycine Rich).**

#### 1.2.4. Fonctions de FMRP

Comme évoqué précédemment, *FMR1* est exprimée dans divers types tissulaires et au niveau subcellulaire, la protéine FMRP est retrouvée dans le noyau et surtout dans le cytoplasme (Willemsen et al., 1996). Les processus gouvernant le transit de la protéine entre ces deux compartiments ne sont pas entièrement connus (Eberhart et al., 1996; Sittler et al., 1996) mais la fonction cytoplasmique de FMRP a vastement été étudiée (**Figure 5**). FMRP est contenue dans de larges complexes cytoplasmiques ou RNPs (RiboNucléoParticules) comportant plusieurs autres protéines et ARNs (Bagni et al., 2012; Darnell and Klann, 2013). Ces RNPs renfermant FMRP sont également associés à des polyribosomes et des mRNPs (messenger RiboNucleoParticles) (Zukin et al., 2009). FMRP possède, au sein de ces grandes structures, un rôle dans la traduction des ARNm, mais aussi dans le transport et la stabilité des produits transcriptionnels pris en charge spécifiquement par ces RNPs.



**Figure 5: Schéma illustrant les différents rôles cytoplasmiques de FMRP (Richter et al. 2021). FMRP est une protéine multifonctionnelle avec différents mécanismes d'action ; FMRP se lie aux ARNm pour en réguler la traduction, la stabilité, l'édition ou le transport intracellulaire. FMRP peut aussi interagir directement avec les protéines et en réguler la fonction. Enfin, FMRP peut aussi réguler la synthèse d'ARN en contrôlant l'expression ou en modulant l'activité de facteurs de transcription ou d'enzymes modifiant la chromatine.**

#### 1.2.4.1. Régulation de la traduction

La grande famille des RBPs à laquelle appartient FMRP joue un rôle essentiel dans la physiologie cellulaire, et plus particulièrement dans les mécanismes régulateurs post-transcriptionnels. La coordination des diverses fonctions de ces protéines est primordiale quant à la prise en charge de l'ARN puisqu'elles interviennent à plusieurs étapes clé (épissage, transport, stabilité...) permettant *in fine* la traduction. De ce fait, la moindre dérégulation de ces protéines peut avoir des retombées sur l'expression de plusieurs gènes, eux-mêmes engagés dans plusieurs fonctions, aboutissant ainsi à des manifestations pathologiques variées et complexes (Lukong et al., 2008).

FMRP est une protéine multifonctionnelle qui présente de nombreux domaines lui permettant de moduler l'activité de plusieurs ligands. L'aptitude de liaison de FMRP à ses cibles ARNm spécifiques est assurée par ses domaines KH et RGG. Le domaine KH2 a été très largement étudié, notamment du fait de la découverte d'une mutation faux-sens dans celui-ci qui rend FMRP a fonctionnelle et conduit à une forme sévère du syndrome de l'X fragile (De Boule et al., 1993). De ce fait, KH2 est reconnu pour sa liaison préférentielle avec les ARNm disposant d'un motif en épingle à cheveux dit « Kissing complex » (Ashley et al., 1993). Le domaine RGG, quant à lui, possède une forte affinité pour les séquences ribonucléiques structurées et riches en guanine, appelées les G-quartet (Ramos et al., 2003). Par ailleurs, FMRP arbore également deux domaines d'interaction avec des protéines (Agenet), lui permettant à titre d'exemple de s'associer avec des histones méthylés (Alpatov et al., 2014).

FMRP est connue pour son activité de répression traductionnelle (Laggerbauer et al., 2001; Li et al., 2001). Des études ont démontré que FMRP réprime la traduction en bloquant l'initiation de la traduction et l'élongation des polypeptides (Bagni and Greenough, 2005; Bhakar et al., 2012; Santoro et al., 2012). FMRP est elle-même régulée via des modifications post-traductionnelles ayant un impact sur ses fonctions traductionnelles. Plus spécifiquement, la forme phosphorylée de FMRP bloque la translocation ribosomale et inhibe ainsi la traduction (Ceman et al., 2003; Coffee et al., 2012; Muddashetty et al., 2011).

#### I.2.4.1.1. Traduction locale

La régulation spatio-temporelle de l'expression protéique dans les neurones est un paramètre crucial dans l'élaboration de réseaux neuronaux. La complexité du neurone requiert l'expression différentielle de nombreuses protéines, en fonction du compartiment considéré. En effet, les neurones sont capables de réagir rapidement à divers stimuli externes, et ce en modulant la quantité et la composition protéique de chaque compartiment. Dans ce contexte, le neurone peut contrôler l'expression protéique différentielle via le transport préalable d'ARNms dans les différents compartiments où ils restent non traduits. Ainsi, le positionnement préalable des ARNms permet de déclencher la traduction, au moment venu, de manière plus rapide. La traduction spatio-temporelle régulée des ARNms est appelée traduction locale, c'est un processus fondamental dans le cerveau en développement et adulte.

FMRP joue un rôle fondamental dans la régulation de la traduction locale au niveau dendritique. Dans les dendrites et épines dendritiques, FMRP est associée à des polyribosomes (Antar et al., 2004; Feng et al., 1997). Plusieurs études ont mis en évidence la synthèse protéique locale au niveau dendritique médiée par FMRP. En utilisant des cibles de FMRP couplées à des rapporteurs fluorescents ou bioluminescents, il a été démontré que la traduction locale est régulée par FMRP (Aakalu et al., 2001; Muddashetty et al., 2007; Na et al., 2016; Tataavarty et al., 2012). En effet, les niveaux protéiques de plusieurs cibles de FMRP sont anormalement augmentés, spécifiquement au niveau dendritique dans le modèle murin *Fmr1-null* (Zalfa et al., 2003). Par ailleurs, il a été démontré que le niveau de FMRP augmente, particulièrement au niveau synaptique, en réponse à l'activation par des neurotransmetteurs spécifiques (Weiler et al., 1997). Ainsi, il apparaît que FMRP joue un rôle essentiel dans la traduction locale au niveau synaptique, processus fondamental à la maturation des synapses et au développement neuronal.

#### I.2.4.1.2. La théorie mGluR

La plasticité synaptique est un processus correspondant aux modifications morphologiques, chimiques et moléculaires intervenant au cours du temps dans la synapse. En effet, le caractère évolutif permanent des connexions neuronales fait intervenir des mécanismes

modifiant le profil fonctionnel des synapses. Les manifestations de la plasticité synaptique sont la LTP (Long Term Potentiation) et la LTD (Long Term Depression).

La dépression synaptique à long terme (ou LTD) est une réduction durable de l'efficacité de la transmission synaptique survenant après la stimulation neuronale. Ce processus est assuré par de nombreux neurotransmetteurs et récepteurs en fonction du type de neurone considéré. Par exemple, les récepteurs glutamatergiques métabotropiques (mGluR) sont largement impliqués dans la LTD, dépendante de la synthèse protéique locale au niveau synaptique (Carroll et al., 1999; Huber et al., 2000; Kemp and Bashir, 1999). De manière intéressante, il apparaît que l'activation des mGluR empêche l'inhibition de la synthèse protéique locale assurée par FMRP au sein de la synapse.

Dans ce contexte, la théorie des mGluR est avancée par Mark Bear pour expliquer les manifestations phénotypiques du SXF. Elle stipule que l'absence de FMRP entraînerait une stimulation excessive de la cascade de signalisation mGluR, ce qui engendre un emballement de la synthèse protéique locale dans la synapse (Bear et al., 2004). Par conséquent, l'inhibition des récepteurs glutamatergiques métabotropiques serait le moyen de lever tout ou partie de la symptomatologie du syndrome. Aussi, une réduction génétiquement induite de l'expression des mGluR chez les souris *Fmr1-null* a permis la restauration de plusieurs défauts phénotypiques (Dölen et al., 2007). De plus, il a été démontré que la LTD est exagérée dans le modèle murin du SXF (Huber et al., 2002; Nosyreva and Huber, 2006). Tous ces éléments suggèrent fortement que la LTD médiée par les mGluR est profondément défectueuse dans le SXF. En effet, FMRP agit comme un répresseur de la synthèse protéique synaptique et son absence entraîne donc une expression aberrante des ARNms qu'elle réprime habituellement.

L'ensemble de ces résultats ont incité une vague d'essais précliniques et cliniques dans l'espoir d'identifier une molécule capable de corriger cette activation excessive des mGluR. Dans ce cadre, l'antagoniste MPEP (Méthyl Phényl Ethynyl Pyridine) a montré des résultats encourageants chez la drosophile et la souris (McBride et al., 2005; Yan et al., 2005). Par ailleurs, le Fenobam, un antagoniste des mGluR5, a lui aussi fait preuve d'une certaine efficacité dans le modèle murin de la maladie (Berry-Kravis et al., 2009). Malheureusement, la piste des mGluR n'a pas abouti à des conclusions précliniques suffisamment robustes à ce jour.

#### 1.2.4.2. Régulation du transport

Outre son activité traductionnelle, FMRP possède également une fonction de transport des ARNm. En effet, la présence des domaines NLS et NES au sein de FMRP lui permettent de circuler entre les compartiments nucléaire et cytoplasmique (Feng et al., 1997). Cette propriété de circulation confère à FMRP la capacité de transporter des ARNm en dehors du noyau. Dans ce cadre, des études ont démontré une interaction de FMRP avec un complexe d'export d'ARNm, facilitant le transit des ARNm depuis le noyau vers le cytoplasme (Kim et al., 2009). Tout au long de leur acheminement, les ARNm sont associés à de nombreuses RBPs agissant comme un rempart à la machinerie traductionnelle, excluant ainsi leur possible traduction avant leur arrivée. Une fois la destination finale atteinte, les protéines ayant assuré le transport se dissocient des ARNm et sont recyclées par la cellule. Cependant, la question de savoir si FMRP se détache également à ce moment-là ou si elle reste accrochée aux ARNm pour en réguler la traduction plus tard demeure non élucidée.

Par ailleurs, FMRP est également impliquée dans le transport d'ARNms au niveau synaptique, où la synthèse protéique est active (Bramham and Wells, 2007; Jung et al., 2012). Plus précisément, elle joue un rôle majeur dans le transport des produits transcriptionnels au sein des dendrites (Antar et al., 2004; Ferrari et al., 2007; Kao et al., 2010). Aussi, une stimulation des récepteurs du glutamate via un agoniste puissant (DHPG : Di-Hydroxy-Phenyl-Glycine) entraîne l'interaction de FMRP avec des protéines motrices associées aux microtubules, ce qui permet le bon positionnement des ARNms au niveau des épines dendritiques (Antar et al., 2004, 2005; Kanai et al., 2004; Davidovic et al., 2007; Ferrari et al., 2007; Dictenberg et al., 2008). En l'absence de FMRP, plusieurs protéines de ce type sont anormalement localisées (Dictenberg et al., 2008; Kao et al., 2010). En somme, FMRP dispose d'une capacité propre à transporter les ARNms mais interagit également avec la machinerie cellulaire afin de remplir cette fonction.

#### 1.2.4.3. Contrôle de la stabilité

FMRP est également impliquée dans le contrôle de la stabilité des ARNms qui lui sont liés (De Rubeis and Bagni, 2010). En effet, FMRP joue un rôle dans la conservation et la prévention de la dégradation des ARNms. Ceci a fait l'objet de trois grandes études indépendantes qui

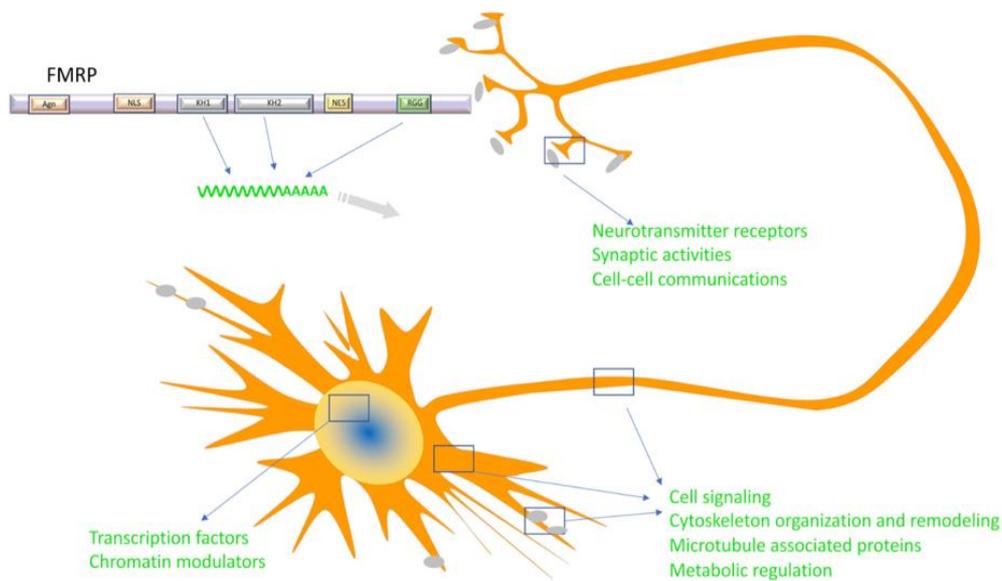
démontrent une abondance de plusieurs ARNms chez les souris *Fmr1-null* en comparaison avec des souris sauvages (Brown et al., 2001; Gantois et al., 2006; Miyashiro et al., 2003). Ainsi, FMRP jouerait un rôle dans la modulation de la stabilité des ARNms.

En définitive, FMRP dispose d'une place fondamentale dans la prise en charge globale de ses ARNms cibles puisqu'elle peut aussi bien agir sur leur traduction, leur transport et leur stabilité.

### 1.2.5. Cibles de FMRP

Étant donné la multitude de rôles que peut jouer FMRP, un intérêt majeur réside dans l'identification de ses cibles ARNm ainsi que leur caractérisation (spécificité cellulaire, tissulaire...). Aussi, une meilleure compréhension de la sélectivité de ces diverses cibles et de l'impact spécifique de FMRP sur chacune d'entre elles fait l'objet d'une attention particulière dans le domaine.

Une trentaine d'années se sont écoulées depuis que la capacité de FMRP à se lier aux ARNms a été mise en lumière (Ashley et al., 1993; Siomi et al., 1993) et plusieurs éléments essentiels ont été découverts. Dans le cerveau humain, 4% des ARNm neuronaux représentent des cibles potentielles de FMRP (Ashley et al., 1993; Brown et al., 2001). Des complexes engageant FMRP jouent différents rôles dans le cortex et l'hippocampe, et ce, en fonction du stade développemental, du type cellulaire et de la distribution subcellulaire. De plus, un panel extrêmement varié et riche de cibles ARNms putatives de FMRP a été découvert et alimenté au fil des années dans les cellules neuronales (Brown et al., 2001; Chen et al., 2003; Miyashiro et al., 2003; Zalfa et al., 2003, 2007; Muddashetty et al., 2007; Darnell et al., 2011) et non neuronales (Ascano et al., 2012). Plus de 8000 ARNms ont été documentés et ils appartiennent à de nombreuses catégories fonctionnelles. Les classes les plus représentées dans le cerveau sont la signalisation, la morphologie et la dynamique cellulaire (**Figure 6**). Plusieurs cibles sont en lien avec la déficience intellectuelle, ce qui concentre légitimement un intérêt particulier. Cependant, le défi principal est de décrypter comment leur dérégulation peut contribuer au syndrome de l'X fragile.



**Figure 6: Représentation schématique des multiples fonctions neuronales de FMRP (Richter et al. 2021).**

**FMRP contient plusieurs domaines essentiels pour ses différentes fonctions : deux domaines Agenet pour lier l'ADN et d'autres protéines, le NLS et le NES et plusieurs domaines de liaison aux ARN. FMRP se lie à plus de 1000 ARNm dans le cerveau qui sont impliqués dans la mise en place des prolongements neuronaux (comme au cours de la synaptogenèse), dans la communication entre les cellules (récepteurs de neurotransmetteurs), dans la modulation du cytosquelette et des microtubules et dans la régulation métabolique. FMRP se lie aussi à des ARNm codant pour des facteurs de transcription et des régulateurs épigénétiques de la chromatine.**

### 1.2.6. FMRP et développement

Outre les multiples rôles cellulaires et moléculaires de FMRP, la littérature s'est également intéressée à la place occupée par FMRP dans les différents processus développementaux.

Ainsi, les patients atteints de SXF présentent des défauts morphologiques dans des régions spécifiques du cerveau. Des altérations anatomiques du cervelet, du cortex, des noyaux gris centraux et de l'amygdale ont été décrites (Hessl et al., 2004; Hoeft et al., 2011). Il apparaît donc que des anomalies du développement interviennent précisément dans certaines régions cérébrales.

Plusieurs éléments suggèrent, en effet, que FMRP joue un rôle majeur dans le développement du système nerveux central. FMRP est exprimée dans le cerveau embryonnaire (Abitbol et al., 1993; Devys et al., 1993; Hinds et al., 1993). Une forte expression a notamment été observée

dans les régions riches en progéniteurs neuronaux (Castrén et al., 2005; Saffary and Xie, 2011). Par ailleurs, les niveaux de FMRP augmentent particulièrement au cours de la différenciation de ces progéniteurs (Castrén et al., 2005). Aussi, la différenciation des progéniteurs neuronaux est altérée dans plusieurs modèles animaux en l'absence de FMRP (Bhattacharyya et al., 2008; Callan and Zarnescu, 2011; Castrén et al., 2005). FMRP occupe donc une place cruciale dans la différenciation neuronale.

FMRP est également impliquée dans le maintien des cellules progénitrices de la glie radiaire au cours du développement cortical (Saffary and Xie, 2011). Les cellules de la glie radiaire sont essentielles à la neurogenèse et à la migration neuronale, deux phénomènes indispensables au développement du cerveau embryonnaire. L'absence de FMRP entraîne ainsi une déplétion en cellules de la glie radiaire, *via* une augmentation de leur différenciation en progéniteurs intermédiaires (destinés à produire des neurones). Cette production excessive de progéniteurs intermédiaires conjuguée à une altération de la migration et de la différenciation concourent à une accumulation aberrante de neurones dans les niches neurogéniques du cerveau embryonnaire (Tervonen et al., 2009).

L'altération sensorielle, tout comme les troubles cognitifs et comportementaux font partie du tableau clinique du SXF. L'un des mécanismes pouvant expliquer ces symptômes est le défaut structurel et fonctionnel de la synapse décrit chez les patients et modèles animaux du syndrome. En effet, la perte de FMRP entraîne des déficits de différenciation neuronale, d'interaction entre neurones et astrocytes et de synaptogenèse (Deng et al., 2013, 2011; Hodges et al., 2017; Jacobs et al., 2010; Jawaid et al., 2018; Pacey et al., 2013; Zarnescu et al., 2005). La synaptogenèse est le procédé permettant la formation des synapses, qui se produit majoritairement au cours du développement cérébral. Une période de développement intensif des connexions synaptiques intervient dans le cerveau embryonnaire et néonatal. Par la suite, une période dite « d'élagage synaptique » permet l'élimination massive des synapses les moins efficaces pour permettre le renforcement des connexions les plus utiles. Les astrocytes (qui sont des cellules gliales) sont essentiels à l'extension appropriée des synapses (Banker, 1980; Powell and Geller, 1999) et à leur élimination (Barres, 2008). Il apparaît que les astrocytes n'exprimant pas FMRP perdent leur capacité à réguler efficacement le procédé d'élagage (Jacobs et al., 2010). Ainsi, la déficience fonctionnelle des astrocytes, et *de facto* des

synapses, constitue un élément fondamental dans les processus développementaux contribuant au SXF.

En somme, il apparaît que FMRP est essentielle à la mise en place et au bon déroulé de plusieurs phénomènes intervenant dans le développement embryonnaire du cerveau.

### I.3. Migration neuronale

#### I.3.1. Généralités

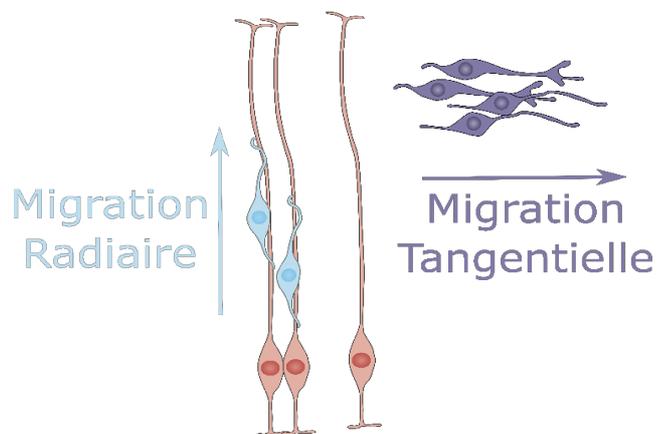
Au cours du développement du cerveau, les milliards de neurones générés dans les zones progénitrices doivent migrer depuis leur site de naissance vers leur site d'intégration. Cette étape de migration est une étape cruciale du développement cérébral. La migration neuronale a été largement étudiée dans le cortex cérébral, ce que j'ai choisi de présenter en premier lieu ici afin d'introduire ce processus biologique fondamental.

Le cortex cérébral est la substance grise périphérique des hémisphères cérébraux et représente la partie la plus étendue et la plus élaborée du cerveau humain. En effet, son rôle est fondamental dans le traitement et l'intégration de l'information donnant lieu aux comportements sociaux et moteurs, au sens de l'organisation et à la détermination de l'intelligence et de la personnalité de l'individu (Kandel and Squire, 2000). Toutes ces fonctions sont assurées par une organisation particulièrement sophistiquée et des réseaux neuronaux parfaitement élaborés. C'est ainsi que le cortex cérébral est compartimenté en régions et subdivisé en couches de cellules nerveuses. Cette architecture corticale requiert, à la suite de la neurogenèse, une migration neuronale parfaitement orchestrée (Poduri and Volpe, 2018). Ce phénomène concerne des milliards de neurones qui se déplacent depuis leur site de naissance jusqu'à leur destination finale dans le cortex.

### I.3.2. Types de migration neuronale

Au cours du développement, deux catégories principales de neurones se développent dans le néocortex : les neurones excitateurs glutamatergiques et les interneurons inhibiteurs GABAergiques (Gamma-Amino-Butyric Acid). Chez les mammifères, ces deux populations neuronales sont générées par la Zone Ventriculaire (ZV ou VZ : Ventricular Zone) et la Zone Sous-Ventriculaire (ZSV ou SVZ : Sub-Ventricular Zone), à proximité immédiate des ventricules latéraux (Buchsbaum and Cappello, 2019). Ces régions prolifératives donnent naissance à des neurones qui se déplacent suivant deux modes distincts de migration : la migration radiaire et la migration tangentielle.

La distinction entre ces deux types de migration est établie par rapport à l'axe suivant lequel les neurones progressent vers le lieu de leur intégration. Tandis que la migration radiaire s'effectue suivant une direction perpendiculaire à la surface du cortex, la migration tangentielle suit une voie parallèle à celle-ci (**Figure 7**) (Ayala et al., 2007).



**Figure 7: Schéma illustrant les deux modes de migration neuronale et leurs directions respectives. La migration radiaire concerne les neurones migrant perpendiculairement à la surface corticale tandis que la migration tangentielle concerne les neurones migrant parallèlement à la surface du cortex.**

### I.3.3. Migration neuronale au sein du cortex cérébral

#### I.3.3.1. Migration radiaire

Au cours du développement embryonnaire, les neurones corticaux excitateurs sont générés au niveau de la zone ventriculaire puis sous-ventriculaire et migrent le long des fibres de la glie radiaire pour atteindre la surface corticale (Marín and Rubenstein, 2003; Rakic, 1972).

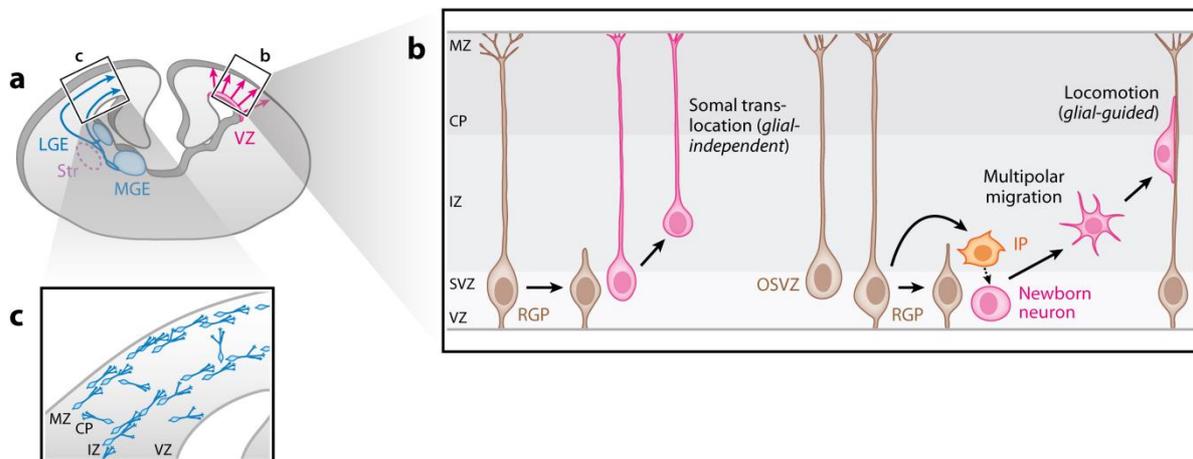
La glie radiaire est constituée de cellules gliales possédant des prolongements qui relient les

zones prolifératives profondes à la surface du cortex. Elles représentent le support physique sur lequel s'appuient les neuroblastes au cours de la migration radiaire et disposent également de propriétés progénitrices (Heins et al., 2002). Une fois que la production des neurones glutamatergiques s'achève, les cellules de la glie radiaire rétractent leurs prolongements et se différencient en astrocytes (Pixley and de Vellis, 1984).

La migration guidée par les cellules gliales concerne des neurones qui possèdent typiquement deux prolongements, dits bipolaires. Cependant, une population distincte de neurones multipolaires est présente dans la ZSV et la Zone Intermédiaire (ZI ou IZ : Intermediate Zone) (LoTurco and Bai, 2006). Ces cellules qui migrent plus lentement et indépendamment de la structure gliale sont dans une conformation transitoire qui intervient à la suite du détachement du neuroépithélium à la surface du ventricule (Tabata and Nakajima, 2003). Puis, la bipolarité nécessaire à l'acheminement guidé des neurones est restaurée (**Figure 8b, côté droit**) (Noctor et al., 2004).

La transition de multipolaire à bipolaire (MTB : Multipolar To Bipolar) représente un paramètre critique pour le bon déroulé de la lamination corticale (*i.e.* organisation en couches) (Ohshima et al., 2007) et à la distribution des neurones corticaux (en colonnes) (Dimidschstein et al., 2013; Torii et al., 2009). La structure laminaire du cortex s'établit par un développement « Inside-out », c'est-à-dire que les neurones des couches les plus profondes sont les premiers à être générés et à arriver à destination tandis que la production et l'arrivée des neurones des couches superficielles sont plus tardives (Angevine and Sidman, 1961; Rakic, 1974).

La migration radiaire dans le cortex cérébral peut être également indépendante des cellules de la glie radiaire, notamment au début de la corticogenèse lorsque les neurones parcourent des distances moins longues, il s'agit dans ce cas de translocation somatique (**Figure 8b, côté gauche**) (Evsyukova et al., 2013).



**Figure 8: Schéma illustrant les différentes voies de migration dans le cerveau en développement (Evsyukova et al. 2013).**

**A. Schéma d'une coupe coronale d'un cerveau murin illustrant les différents types de migration corticale. B. Représentation schématique des modes de migration radiaire des neurones excitateurs retrouvés dans le cortex cérébral murin. Côté gauche : les neurones migrants par translocation somatique, indépendamment de la glie radiaire. Côté droit : les neurones transitant par une conformation multipolaire et dont la migration est guidée par la glie radiaire. C. Représentation schématique de la migration tangentielle corticale.**

### I.3.3.2. Migration tangentielle

Simultanément à la migration radiaire, les interneurons inhibiteurs provenant des Éminences Ganglionnaires (EG ou GE : Ganglionic Eminences) sont acheminés vers le cortex *via* une migration tangentielle (Faux et al., 2012; Marín and Rubenstein, 2001) (**Figure 8a**). Ces interneurons contribuent, au même titre que les neurones excitateurs, à l'organisation en « Inside-out » du cortex embryonnaire (Valcanis and Tan, 2003). En effet, ils empruntent essentiellement deux voies de migration sur plusieurs millimètres qui les conduisent vers le cortex (**Figure 8c**) (Anderson et al., 1997). Une fois qu'ils atteignent cette destination, les interneurons peuvent adopter deux modes de migration (**Figure 9**) :

- Une migration tangentielle multidirectionnelle, pouvant se poursuivre sur de longues distances et permettant la dispersion des interneurons le long du néocortex (Tanaka et al., 2006). Ensuite, une migration radiaire de ces neurones les conduit spécifiquement vers leur zone d'intégration finale (neurones en rose dans la **Figure 9**) (Yokota et al., 2007).
- Une migration initialement dirigée vers le ventricule puis vers la Plaque Corticale (PC ou

CP : Cortical Plate) de manière radiaire. Cette seconde voie permet probablement aux interneurones d'obtenir des indications pour leur bon positionnement cortical (neurones en bleu dans la **Figure 9**) (Nadarajah et al., 2002).

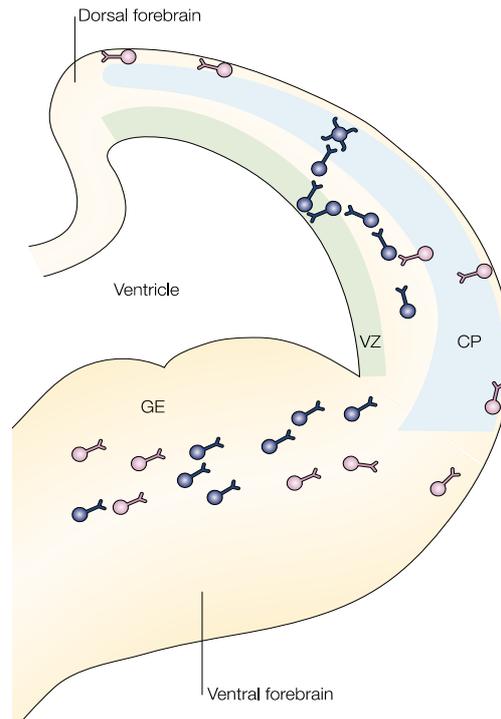
Ainsi, plusieurs flux migratoires coexistent et se succèdent au cours du développement embryonnaire dans le cortex et contribuent au bon déroulement de la corticogénèse.

### 1.3.3.3. Différences entre le néocortex murin et humain

Le développement embryonnaire cortical est un processus hautement conservé chez les mammifères et le modèle murin décrit ci-dessus récapitule la

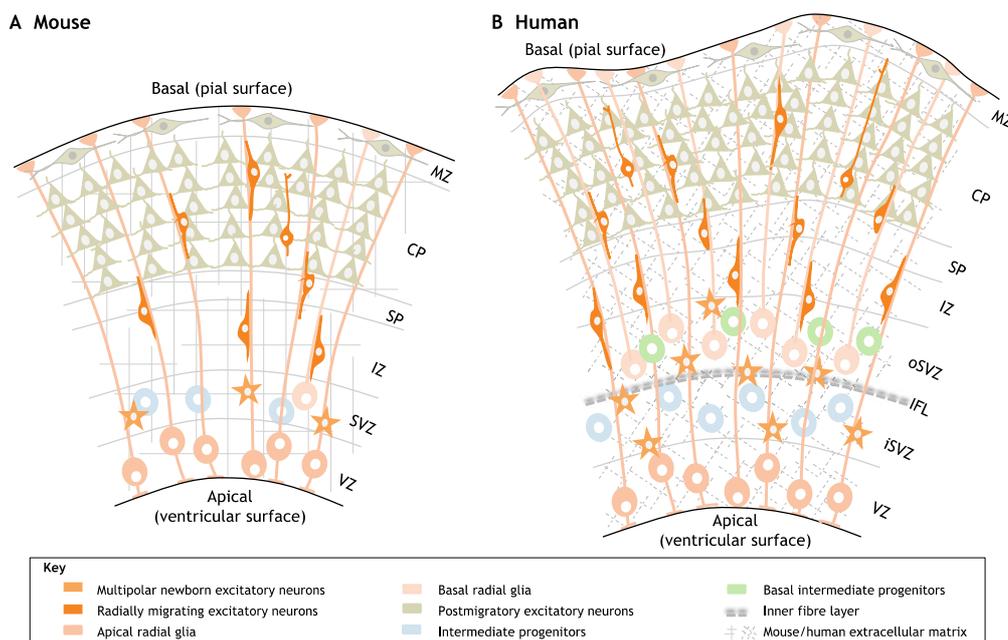
majorité des événements observables chez l'Homme. Cependant, certaines différences existent entre la souris et l'Homme (Florio et al., 2017). Tout d'abord, la taille du cortex cérébral humain est plus importante ; le nombre de neurones est énormément plus élevé. De plus, la gyrification (circonvolutions corticales), présente chez l'Homme mais absente chez le rongeur, s'accompagne naturellement d'une plus grande complexité et de l'acquisition de fonctions cognitives plus sophistiquées (Lui et al., 2011).

En ce qui concerne la composition cellulaire, la production de neurones et l'expansion corticale sont amplifiées chez l'Homme (Borrell and Reillo, 2012). La zone sous-ventriculaire



**Figure 9: Représentation schématique illustrant les flux de migration tangentielle dans le néocortex murin (Nadarajah et al. 2002). Les interneurones naissent dans les éminences ganglionnaires (GE) et migrent vers le néocortex. Une partie des neurones (neurones roses) migrent tangentiellement le long de la plaque corticale (CP) sur de longues distances pour se disperser le long du cortex, une migration radiaire leur permet ensuite d'atteindre leur destination finale. Une autre partie des neurones (neurones bleus) se dirigent d'abord vers la zone ventriculaire (VZ) puis vers la plaque corticale de manière radiaire.**

est plus élargie et se divise en deux couches : la Zone Sous-Ventriculaire interne (iZSV ou iSVZ : Inner Sub-Ventricular Zone) et externe (oZSV ou oSVZ : Outer Sub-Ventricular Zone) (**Figure 10**) (Zecevic et al., 2005). La oZSV est une région proliférative constituée d'une population hétérogène de progéniteurs corticaux, de cellules de la glie radiaire (qui n'ont pas d'attache apicale) et de neurones en migration (Zecevic et al., 2005). Cette zone étant retrouvée spécifiquement chez l'Homme (et les primates), elle pourrait être à l'origine de la complexité cérébrale et notamment du processus de gyrification (Rakic, 2009).



**Figure 10: Schéma illustrant les différences entre le néocortex humain et murin (Buchsbbaum et al. 2019).**

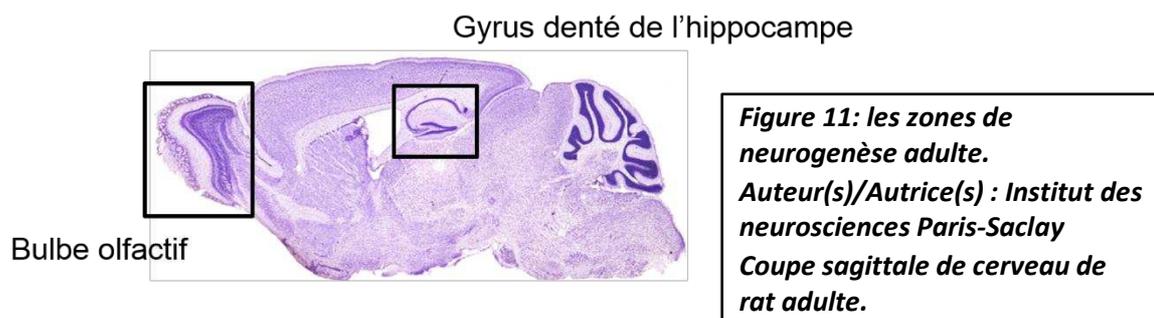
**A. Composition cellulaire par couche du cortex cérébral murin lisse (i.e. sans gyrification) :** la glie radiaire apicale donne naissance à des progéniteurs intermédiaires ou directement aux neurones excitateurs qui, après la transition multipolaire à bipolaire, se déplacent jusqu'à la plaque corticale (CP). **B. Dans le cortex humain en développement, la zone sous-ventriculaire (SVZ) est divisée en iSVZ (équivalent de la SVZ murine) et oSVZ. La oSVZ contient de la glie radiaire basale et des progéniteurs intermédiaires qui prolifèrent et donnent naissance aux neurones. CP : plaque corticale, iFL : couche de fibre interne, iSVZ : zone sous ventriculaire interne, IZ : zone intermédiaire, MZ : zone marginale, oSVZ : zone sous ventriculaire externe, SP : sous-plaque, SVZ : zone sous ventriculaire, VZ : zone ventriculaire.**

D'un point de vue mécanistique, les circonvolutions cérébrales se développent par le biais d'une expansion corticale locale accompagnée d'une dispersion tangentielle (Reillo et al., 2011). En effet, la divergence et la multiplication des fibres gliales accentuées par les cellules gliales de la oZSV permettent une distribution plus étendue tangentiellement des neurones

corticaux et cette architecture gyrifiée du cortex humain.

#### 1.3.4. La neurogenèse adulte

La neurobiologie a connu un véritable tournant dogmatique à la fin du siècle dernier. Jusqu'aux années 1990, la communauté scientifique s'accordait sur une doctrine fondamentale : l'âge adulte marque la fin du processus de neurogenèse (*i.e.* la capacité à générer de nouvelles cellules nerveuses) (Colucci-D'Amato et al., 2006). C'est le Dr Joseph Altman qui est à l'origine de ce revirement idéologique. Il a, tout d'abord, documenté la génération de nouveaux neurones dans les cerveaux adultes de rats et de chats (Altman, 1963, 1962). En effet, grâce à l'avènement d'une technique de marquage permettant de détecter la division cellulaire, la prolifération de cellules gliales cérébrales a été observée et par conséquent, l'hypothèse de la formation de nouveaux neurones dans des cerveaux adultes a émergé. Aujourd'hui, cette hypothèse a largement été confirmée par des méthodes de détection plus spécifiques et il est désormais admis que les mammifères présentent une neurogenèse adulte (Gross, 2000). Deux structures sont essentiellement concernées : le bulbe olfactif (principal relais de l'information olfactive) et l'hippocampe (région fondamentale pour la mémoire) (**Figure 11**).



Les cellules nouvellement produites dans ces deux régions proviennent de niches neurogéniques, des zones spécifiques constituant un microenvironnement favorable à la genèse cellulaire :

- La zone sous-granulaire du gyrus denté de l'hippocampe (Aimone et al., 2014) : siège de prolifération, de différenciation et d'intégration au sein de la même structure de cellules majoritairement granulaires.

- La zone sous-ventriculaire, dans les murs des ventricules latéraux (Lim and Alvarez-Buylla, 2016) : donnant naissance aux nouveaux neurones qui migrent, sur plusieurs millimètres chez la souris, le long du Courant de Migration Rostrale (CMR) pour intégrer le bulbe olfactif.

### I.3.5. Le courant de migration rostrale

Le courant de migration rostrale postnatal est le système d'étude utilisé dans le cadre de mon projet. Historiquement, le CMR a d'abord été décrit chez l'adulte, peu après la découverte de la neurogenèse. C'est pour cette raison qu'il me paraît intéressant de vous présenter les caractéristiques du CMR adulte ainsi que les particularités du CMR postnatal.

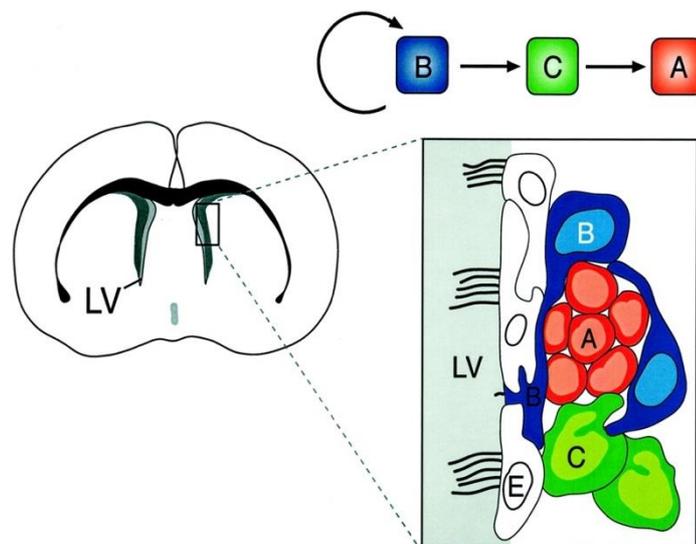
Le courant de migration rostrale est une voie de migration neuronale reliant la zone sous-ventriculaire, située dans les murs des ventricules latéraux, au Bulbe Olfactif (BO), partie la plus antérieure du télencéphale. La ZSV étant la niche neurogénique permettant la formation de nouveaux neurones et le BO étant le siège de leur intégration et différenciation.

### I.3.5.1. Le courant de migration rostrale murin

#### I.3.5.1.1. Prolifération sous-ventriculaire

La zone sous-ventriculaire est une source majeure de production cellulaire dans le cerveau adulte des mammifères. Des milliers de neurones néoformés y sont générés quotidiennement et destinés à intégrer le bulbe olfactif (Doetsch et al., 1999). Initialement, des cellules souches neurales (cellules de type B) prolifèrent lentement afin de générer des cellules dites progénitrices transitoires (cellules de type C).

Ces dernières sont capables de se multiplier rapidement et de se différencier en neuroblastes (cellules de type A) (Figure 12) (Alvarez-Buylla and García-Verdugo, 2002; Doetsch, 2003). Ces cellules tendent à s'agréger de manière homotypique, si bien qu'elles s'engagent collectivement dans la migration le long du CMR (Lois et al., 1996).



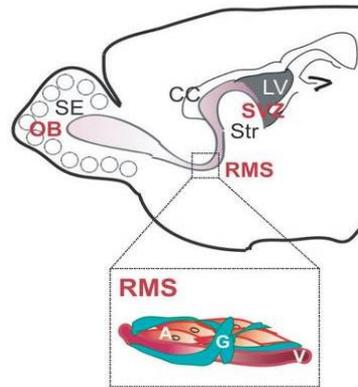
**Figure 12: Représentation schématique de l'organisation de la ZSV adulte (Alvarez-Buylla et al. 2002).**

**La zone sous-ventriculaire comprend quatre types cellulaires : les cellules épendymaires E (en blanc) formant une paroi épithéliale entre le ventricule latéral (LV) et la ZSV, les cellules souches neurales de type B (en bleu), les cellules progénitrices transitoires de type C à prolifération rapide (en vert) et les cellules de type A ou neuroblastes (en rouge).**

#### I.3.5.1.2. Migration tangentielle

Chez l'adulte, le courant de migration rostrale est une voie majeure de migration tangentielle et présente une architecture tubulaire, dite en chaîne. Les neuroblastes qui l'empruntent sont dotés de propriétés intrinsèques et extrinsèques, inhérentes à cette trajectoire. En effet, ces cellules de type A se déplacent en collaboration homotypique (mutuelle et exclusive). Elles

établissent des contacts étroits les unes avec les autres et constituent ainsi un réseau chaîné bien délimité enveloppé par des cellules gliales astrocytaires, elles-mêmes agencées sous forme de gaine tubulaire (**Figure 13**) (Jankovski and Sotelo, 1996; Lois et al., 1996; Sun et al., 2010).

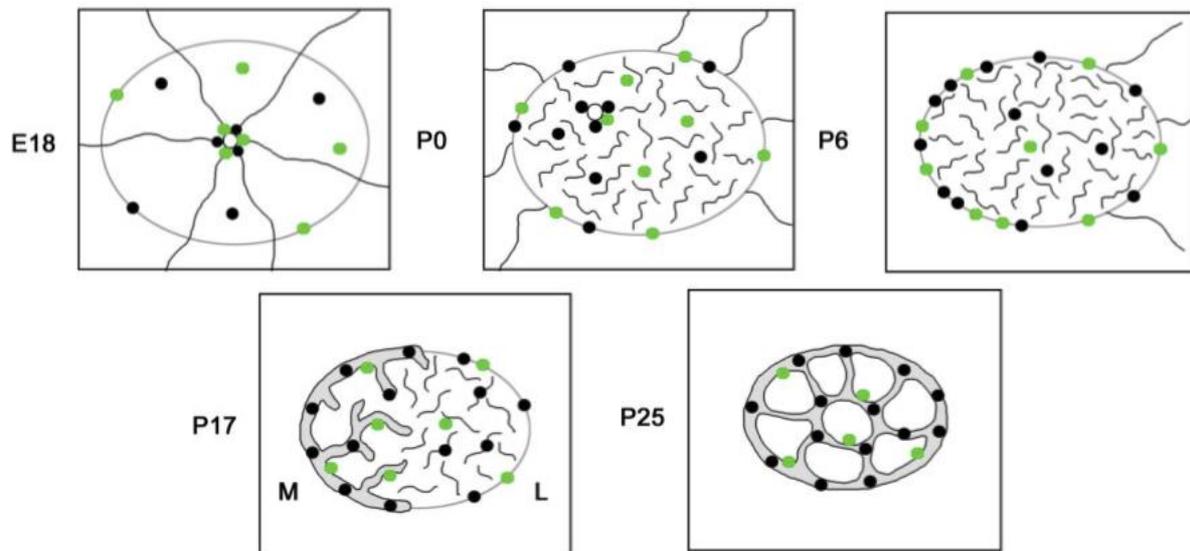


**Figure 13:** Schéma représentant la migration des neuroblastes de type A (A) depuis la zone sous-ventriculaire (SVZ) jusqu'au bulbe olfactif (BO), le long du courant de migration rostrale (CMR) (Sun et al. 2010). Les neurones migrants sont bordés de cellules gliales astrocytaires (G) et d'un réseau vasculaire (V) dense, supports de l'agencement de ce courant migratoire.

Des modifications majeures de la niche sous-ventriculaire et de la migration des neuroblastes générés en son sein se mettent en place au cours des trois premières semaines postnatales chez les rongeurs. Cette période s'avère cruciale dans la mise en place des tubes gliaux astrocytaires et du réseau vasculaire, mais aussi dans l'établissement d'entrelacs chaînés de neuroblastes (Peretto et al., 2005).

L'une des caractéristiques majeures du CMR pré et postnatal est la présence d'une extension ouverte du ventricule jusqu'au bulbe olfactif. Ce ventricule olfactif, entouré de glie radiaire, commence à se refermer progressivement à partir du troisième jour postnatal (Peretto et al., 2005). De plus, les neurones postnatals se déplacent perpendiculairement aux prolongements gliaux radiaires dans un large courant de migration tangentielle. Graduellement, des modifications structurales, moléculaires et cellulaires métamorphosent l'organisation du CMR (**Figure 14**). A partir de la troisième semaine postnatale, les prolongements gliaux entourant le ventricule olfactif ainsi que le CMR se réorientent de manière longitudinale. Ils s'assemblent, par la suite, en tubes gliaux autour du courant rostral

adulte chaîné et plus compact (Peretto et al., 2005).



**Figure 14: Décours temporel de l'organisation du CMR postnatal (Peretto et al. 2005).**  
*Au cours du développement postnatal, le réseau glial se développe avec la prolifération du nombre de cellules (points noirs) et la réorientation des prolongements radiaux longs (traits noirs) en prolongements courts, plus nombreux et plus denses au sein du CMR. Points verts : cellules en prolifération, Points noirs : corps cellulaires gliaux, traits noirs : prolongements gliaux (traits longs : fibres de la glie radiaire, traits courts : réseau dense de fibres, double trait gris : tubes gliaux).*

#### I.3.5.1.2.1. Environnement extracellulaire du CMR

Outre la topographie hautement élaborée du courant de migration rostrale, des acteurs environnementaux jouent un rôle primordial dans la migration et le guidage des neuroblastes depuis la zone de leur prolifération (ZSV) jusqu'à leur région d'intégration (BO).

##### *I.3.5.1.2.1.1. Signaux attractifs et répulsifs*

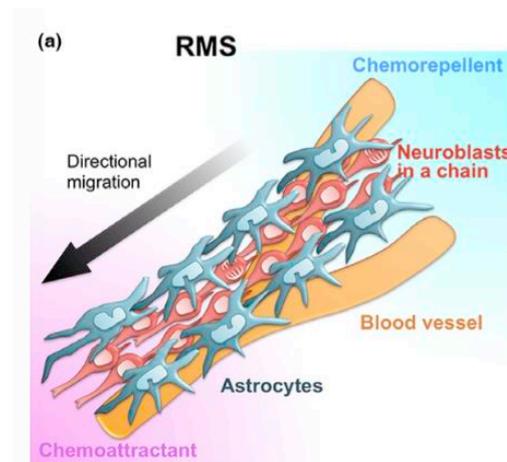
De nombreux facteurs diffusibles avec des propriétés chimio-attractives ou répulsives sont impliqués dans le guidage des neurones le long du CMR (Kaneko et al., 2017) (**Figure 15**). Je décrirai ici quelques exemples de facteurs impliqués. Par exemple, la protéine Netrine-1 est exprimée par les cellules mitrales (principaux neurones du bulbe olfactif) ainsi que par les astrocytes enveloppant le réseau chaîné des neuroblastes migrants (Murase and Horwitz, 2002). Elle exerce une action attractive en se fixant sur son récepteur DCC (Deleted in

Colorectal Carcinoma), exprimé à la surface des neurones du CMR.

La voie de signalisation chimio-attractive Sonic hedgehog (Shh) est, quant à elle, indirectement impliquée dans la migration rostrale. En effet, son activité localisée dans la niche sous-ventriculaire permet de moduler le nombre de neuroblastes quittant la ZSV pour intégrer le BO (Angot et al., 2008).

De nombreux facteurs de croissance ont également été identifiés comme étant des agents chimio-attractifs dans ce courant migratoire : VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1) etc... Le facteur VEGF est, en effet, exprimé dans les cellules gliales du CMR et dans la niche sous-ventriculaire (Balenci et al., 2007). Classiquement documenté pour son implication fondamentale dans le système vasculaire (Olsson et al., 2006), il a aussi été décrit comme régulateur de la vitesse de migration des neuroblastes dans le CMR adulte *via* une action paracrine (Wittko et al., 2009). IGF-1, par ailleurs, est exprimé dans plusieurs régions du cerveau au cours du développement embryonnaire. Bien que son expression décroisse après la naissance, le bulbe olfactif demeure une zone où le taux d'IGF-1 est élevé, même à l'âge adulte (Russo et al., 2005). Grâce à des modèles murins constitutivement déficients en IGF-1, il a été découvert que cette protéine stimule la sortie des neuroblastes de la ZSV vers le CMR (Hurtado-Chong et al., 2009).

En outre, des signaux répulsifs contribuent également à l'orientation des progéniteurs migrants et c'est le cas, par exemple, des protéines Slit. Elles sont produites au niveau de la



**Figure 15: Mécanismes régulant la migration dirigée des neuroblastes le long du CMR (Kaneko et al. 2017).**

**Schéma représentant les différents acteurs permettant la migration des neuroblastes sur de longues distances dans le CMR. Les neuroblastes (en rouge), guidés par des gradients de concentrations d'éléments chimio-attractifs (en rose) et répulsifs (en bleu), se déplacent dans un tunnel formé par des astrocytes (en bleu-gris). Les neuroblastes migrent aussi le long de vaisseaux sanguins (en orange) qui sont présents parallèlement au courant.**

partie caudale du CMR (*i.e.* le plexus choroïde et le septum médial ventriculaire) et sécrétée dans le fluide cérébrospinal emplissant le ventricule latéral (Wu et al., 1999). En se fixant sur les récepteurs Robo exprimés dans la zone sous-ventriculaire et les neuroblastes du CMR, Slit permet d'orienter la migration dans la direction rostrale. Ainsi, la délétion constitutive de Slit dans des modèles murins conduit les cellules de type A à emprunter une trajectoire caudale, ce qui confirme bien l'action répulsive de la voie de signalisation Slit-Robo (Nguyen-Ba-Charvet et al., 2004). Par ailleurs, les neuroblastes eux-mêmes sécrètent cette protéine le long de leur parcours afin de moduler les réseaux astrocytaires bordant le CMR (Eom et al., 2010).

#### *1.3.5.1.2.1.2. Matrice extracellulaire*

Parmi les signaux intervenant dans la migration en chaîne des progéniteurs neuronaux le long du CMR, on retrouve les facteurs diffusibles développés ci-dessus mais également des molécules de surface favorisant l'adhésion des cellules entre elles. De manière intéressante, il apparaît que la mise en place de ces chaînes de migration *in vitro* dépend directement du substrat extracellulaire utilisé (Wichterle et al., 1997). Cela suggère que le comportement migratoire des neurones est une conséquence de la composition du milieu dans lequel ils se déplacent. Parmi les éléments extracellulaires essentiels à la migration des neuroblastes dans le courant de migration rostrale, la molécule NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule) figure parmi les acteurs les plus documentés. Des modèles murins dépourvus de l'expression de NCAM présentent des bulbes olfactifs rétrécis ainsi qu'une accumulation anormale de précurseurs neuronaux dans la niche sous-ventriculaire (Cremer et al., 1994). Cette molécule, intervenant dans l'adhésion homophile des neuroblastes, est fortement polysialysée dans le courant de migration rostrale (Hu et al., 1996). La délétion enzymatique de l'acide polysialique (ou PSA : PolySialic Acid) conduit non seulement à une désorganisation au sein même du CMR mais également à une dispersion des neuroblastes migrants dans des régions avoisinantes, à savoir le cortex et le striatum (Battista and Rutishauser, 2010). En conclusion, la molécule NCAM est nécessaire à la mise en mouvement des neurones depuis la niche sous-ventriculaire tandis que le motif PSA est, quant à lui, essentiel au maintien de l'intégrité des chaînes de migration rostrale.

En somme, de nombreux facteurs diffusibles et molécules de surface sont présents dans l'environnement extracellulaire du CMR. Ils contribuent collectivement au guidage de la

trajectoire des neurones migrants.

### I.3.5.1.2.2. Mécanistique intrinsèque de la migration saltatoire

#### I.3.5.1.2.2.1. Caractéristiques générales

De nombreuses caractéristiques sont inhérentes aux neurones en migration et les différencient des autres types cellulaires migrants. Typiquement, les neurones en mouvement possèdent un prolongement migratoire pouvant s'étendre sur de longues distances par rapport au noyau et au corps cellulaire (Hatten, 2002). *A contrario*, les fibroblastes et les neutrophiles migrants étudiés *in vitro* présentent des prolongements larges et des lamellipodes courts et rétractiles (Ridley et al., 2003). Aussi, le mouvement nucléaire dans ces cellules est étroitement couplé à celui du prolongement migratoire. En revanche, le prolongement du neurone en migration semble décrire un mouvement quasi-autonome par rapport au reste du corps cellulaire. Effectivement, le prolongement migratoire neuronal présente une dynamique relativement complexe, avec l'extension de multiples extrémités par exemple ou encore des inversions de polarité (O'Rourke et al., 1992). Une inversion de polarité est une rétraction totale du prolongement originel accompagnée d'une extension d'un nouveau prolongement à l'arrière de la cellule. Durant toutes ces manœuvres, le noyau ainsi que le corps cellulaire demeurent globalement stationnaires et ce n'est que lorsqu'un unique prolongement est consolidé et exécute un mouvement unidirectionnel que la motilité de l'ensemble est assurée (Edmondson and Hatten, 1987; Wichterle et al., 1997). La morphologie d'une cellule migrante est donc déterminante pour sa motilité. Plus spécifiquement, les neuroblastes du CMR présentent une polarité cellulaire et sont ainsi subdivisés en compartiments (**Figure 16A**). Ils ont également la particularité d'être bipolaires, c'est-à-dire qu'ils sont dotés de deux prolongements :

- Un à l'arrière de la cellule : prolongement de queue (ou trailing process).
- Et l'autre à l'avant de la cellule : prolongement de migration (ou leading process), orienté dans la direction de migration. Ce long prolongement est caractéristique des neurones migrants et peut largement s'étendre à distance du noyau (Hatten, 2002). Même si sa terminaison ressemble structurellement à un cône de croissance axonal, elle en diffère d'un point de vue moléculaire (O'Rourke et al., 1992). Tandis que certains neurones en migration

ne présenteront qu'un unique prolongement se mouvant invariablement vers l'avant, d'autres vont plutôt avoir un prolongement dynamique avec plusieurs branchements qui émergent et se rétractent tout au long de la migration (O'Rourke et al., 1992) .

#### *1.3.5.1.2.2.2. Migration saltatoire*

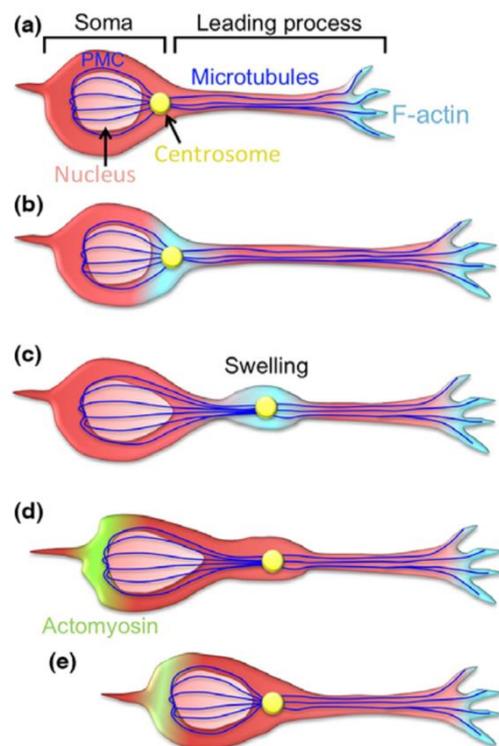
Les neurones générés au niveau de la zone sous-ventriculaire adoptent un mode de déplacement dit saltatoire. En effet, la migration de ces cellules requiert l'enchaînement de plusieurs évènements :

1. Élongation du prolongement migratoire ou « leading process » (**Figure 16B**)
2. Formation d'un renflement ou « swelling » accompagnée de la migration du centrosome (**Figure 16C**)
3. Translocation nucléaire (**Figure 16D**)

1. La dynamique locale du prolongement migratoire contribue à la détermination de la direction de la migration (Martini et al., 2009). Dans les neuroblastes migrants depuis la ZSV, des filaments d'actine s'accumulent à l'extrémité du prolongement au cours de l'extension de celui-ci (Shinohara et al., 2012). Cette accumulation est notamment régulée par des GTP(Guanosine TriPhosphate)ases et des modulateurs de l'actine. De plus, les microtubules sont également impliqués dans la régulation de l'extension du prolongement migratoire. En effet, le traitement des neuroblastes par un agent déstabilisant les microtubules (Nocodazole) inhibe l'élongation du leading process (Schaar and McConnell, 2005). Aussi, la mutation de protéines contribuant à l'organisation des microtubules (DCX : Double Cortin et CDK5 : Cyclin Dependent Kinase 5) dans les neuroblastes migrants conduit à des prolongements plus courts et plus branchés, *in vivo* et *in vitro* (Hirota et al., 2007; Koizumi et al., 2006). Par conséquent, les filaments d'actine et le réseau de microtubules concourent tous deux à la formation et l'élongation du prolongement migratoire dans les neuroblastes en migration saltatoire.

2. Le renflement ou « swelling » est une dilatation cytosolique qui se forme transitoirement dans la partie proximale du prolongement migratoire, à l'avant du noyau (Figure 9C). Ce renflement renferme plusieurs organelles intracellulaires, à savoir le centrosome, l'appareil de Golgi et la mitochondrie (Bellion et al., 2005). Le centrosome représente le

centre organisateur des microtubules. Il gouverne ainsi les réseaux microtubulaires projetés vers le prolongement migratoire d'un côté et enveloppant le noyau de l'autre côté. Dans les neuroblastes du CMR, la formation de ce renflement précède la migration du centrosome dans celui-ci (Schaar and McConnell, 2005). Aussi, la localisation du renflement anticipe la position future du noyau à la fin du mouvement saltatoire.



3. L'étape ultime de la dynamique saltatoire est la translocation du noyau. Elle est régulée différemment de l'élongation du prolongement étant donné la séparation physique entre ces deux compartiments. La translocation nucléaire est

**Figure 16: Le mouvement saltatoire des neuroblastes migrants (Kaneko et al. 2017).**  
**A. Représentation de la morphologie basique d'un neuroblaste migrant. B. Extension du prolongement migratoire. C. Formation du swelling et migration du centrosome en direction du prolongement. D et E. Translocation somatique. Lignes bleues : microtubules. Points jaunes : centrosome. Zones bleu clair : riches en F-actine. Zones vertes : contraction d'actomyosine. PMC : Cage péri-nucléaire de microtubules.**

déterminée par la dynamique de l'actomyosine à l'arrière du noyau. En effet, une activité de la myosine II et une accumulation de filaments d'actine sont observées au niveau de l'arrière de la cellule au cours de la translocation nucléaire (Schaar and McConnell, 2005). Une inhibition locale de l'activité de la myosine II par l'application de Blebbistatine à l'arrière du noyau induit une inhibition de la translocation nucléaire. Ceci suggère que l'actomyosine génère une force de propulsion juste derrière le noyau. En effet, la contraction de l'actomyosine conduit à une compression du cytoplasme à l'arrière du noyau, ce qui entraîne la projection du noyau vers l'avant (Schaar and McConnell, 2005). De plus, une implication des microtubules dans la motilité neuronale semble être tout

aussi essentielle. En effet, les neuroblastes du CMR avec une mutation de DCX, protéine régulatrice associée aux microtubules (Tanaka et al., 2004), présentent des défauts de translocation nucléaire (Koizumi et al., 2006). Ceci suggère donc que les acteurs régulateurs et moteurs associés aux microtubules sont également indispensables à la translocation nucléaire, et ce en coordination avec les contractions de l'actomyosine. En définitive, c'est la régulation spatio-temporelle coordonnée de la machinerie du cytosquelette engageant les microtubules d'une part et l'actomyosine de l'autre qui permet la motilité des neuroblastes du CMR.

#### I.3.5.1.3. Arrivée dans le bulbe olfactif

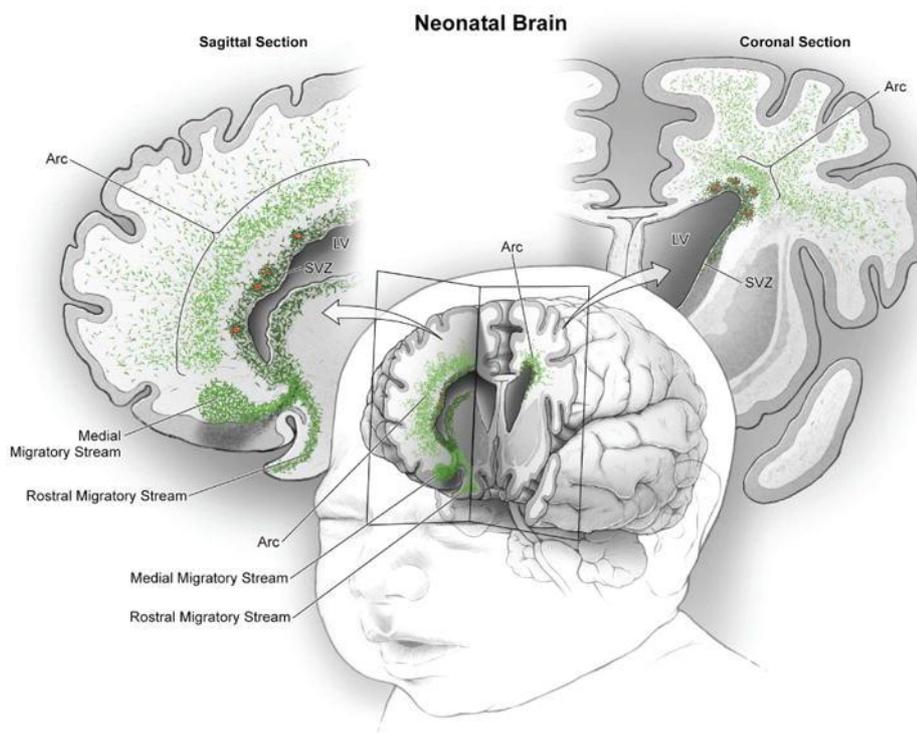
L'arrivée des neuroblastes du CMR dans le bulbe olfactif marque la fin de leur trajectoire tangentielle. C'est à ce moment-là que les neurones se détachent du courant de migration rostrale afin d'amorcer un déplacement radiaire, cette fois-ci, les acheminant vers leur position définitive au sein du bulbe olfactif. Plusieurs protéines de la matrice extracellulaire jouent un rôle dans la réorientation de ces neuroblastes, comme la Reelin, la Tenascin-R et la Prokineticin 2 (Hack et al., 2002; Ng et al., 2005; Saghatelian et al., 2004). La migration radiaire s'achève par la différenciation des neuroblastes en interneurones gabaergiques (Batista-Brito et al., 2008). Dans une moindre mesure, ces neuroblastes peuvent également se différencier en neurones glutamatergiques (Brill et al., 2009).

#### I.3.5.2. Le courant de migration rostrale humain

Chez le nouveau-né humain, la neurogenèse est active dans la zone sous-ventriculaire située dans les murs du ventricule latéral antérieur (**Figure 17**) (Sanai et al., 2011). Les neuroblastes provenant de cette niche germinale migrent le long du CMR pour atteindre le bulbe olfactif (au même titre que chez les rongeurs) mais aussi le long du courant de migration médial conduisant au cortex préfrontal (Sanai et al., 2011). Aussi, les neuroblastes de la ZSV dessinent une trajectoire radiaire jusqu'au lobe frontal (Paredes et al., 2016). Cette génération intensive de nouveaux neurones dans le lobe frontal postnatal pourrait être à l'origine des fonctions cérébrales humaines hautement sophistiquées acquises au cours de l'évolution. L'étude du cerveau humain post-natal, des dynamiques de migration des neuroblastes ainsi que de leur devenir se heurte tout de même à des limites assez évidentes de disponibilité et d'éthique.

Cependant, une association étroite des neuroblastes avec les vaisseaux sanguins et les astrocytes aux alentours a pu être observée, suggérant un rôle fondamental de support pour la migration des neuroblastes humains (Paredes et al., 2016; Sanai et al., 2011). Par ailleurs, une décroissance substantielle de la production neuronale est observée tout au long des six premiers mois de vie et cette tendance se maintient jusqu'à l'âge adulte, ce qui semble aboutir à une disparition du courant de migration rostrale dans le cerveau humain adulte (Sanai et al., 2004).

La capacité exceptionnelle des neuroblastes provenant de la ZSV à traverser de longues distances est un phénomène neurodéveloppemental clé. L'exploration de la migration au sein



**Figure 17 : Courants migratoires dans le lobe frontal du nouveau-né humain (Paredes et al. 2016).**

**Dans le lobe frontal néonatal humain, représenté en coupes sagittales et coronales dans ce schéma, un grand nombre de jeunes neurones en migration sont présents (en vert). Des cellules migrantes sont retrouvées dans la partie antérieure du ventricule latéral. A proximité du ventricule, des neurones en migration sont orientés tangentiellement, des sous-populations sont également retrouvées autour des vaisseaux sanguins (en rouge). Plus loin, les neurones sont plus dispersés, un grand nombre d'entre eux est orienté radiairement (Arc); ils migrent sur de longues distances à travers la matière blanche pour atteindre le cortex. Ventralement, le CMR et le courant de migration médiale sont représentés, ils atteignent respectivement le bulbe olfactif et le cortex préfrontal médial.**

du CMR pourrait donc constituer un élément essentiel à la meilleure compréhension de la physiopathologie du SXF.

## I.4. MAP1B

### I.4.1. Généralités

Le cytosquelette cellulaire est un ensemble de réseaux filamenteux contribuant à la mise en place d'une orientation et d'une morphologie spécifiques. Dans les types cellulaires capables de migrer, le cytosquelette joue également un rôle fondamental. Le cytosquelette comprend les filaments d'actine, les filaments intermédiaires ou neurofilaments pour le système nerveux ainsi que les microtubules (MTs). Tous ces réseaux sont très dynamiques et confèrent, *via* des interactions finement régulées, une architecture et un dynamisme propres à la cellule.

Dans les neurones, le cytosquelette est, en particulier, essentiel au transport axonal, à la spécification régionale et à la fonction synaptique. Les différents réseaux sont associés à plusieurs protéines qui présentent des spécificités d'expression temporelles, cellulaires et subcellulaires.

Le réseau microtubulaire est constitué de protofilaments, eux-mêmes composés d'hétérodimères de tubulines ( $\alpha\beta$ ). Les protéines associées aux microtubules ou MAPs (Microtubule-Associated Proteins) sont un groupe de protéines qui interagissent avec les polymères de tubuline et exercent une activité enzymatique ou structurelle. Dans le cerveau, un grand nombre de MAPs a été découvert. Ces protéines se fixent sur différentes régions du réseau de microtubules et le stabilisent. Différentes familles de MAPs ont été décrites au fil des années et on retrouve parmi elles la famille MAP2/Tau (Dehmelt and Halpain, 2005) et la famille MAP1 (Halpain and Dehmelt, 2006). Les protéines de la famille MAP1 sont fortement exprimées dans le cerveau et chacune d'elle présente un profil d'expression distinct. Tandis que MAP1B est très exprimée aux stades précoces du développement, MAP1A est, quant à elle, plus fortement exprimée dans le cerveau mature (Schoenfeld et al., 1989).

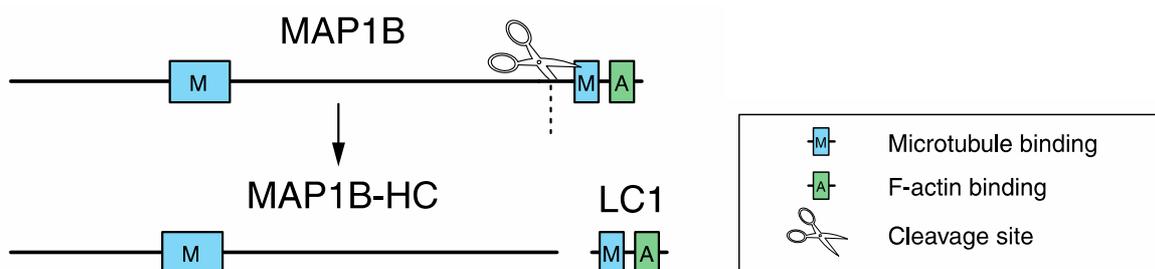
Dans les années 1980, plusieurs équipes identifient la protéine MAP1B (Microtubule-Associated Protein 1B) (Binder et al., 1984; Bloom et al., 1985; Calvert and Anderton, 1985; Greene et al., 1983; Riederer et al., 1986). MAP1B est la première MAP qui s'exprime dans le

cerveau embryonnaire (Tucker et al., 1989, 1988). MAP1B est capable d'interagir avec les microtubules mais aussi avec le réseau d'actine, ce qui en fait un acteur clé des réarrangements du cytosquelette (Gonzalez-Billault et al., 2004). MAP1B joue un rôle fondamental dans le développement axonal et intervient notamment dans la croissance, le développement, le branchement et la régénération des axones (Kuo et al., 2009; Bouquet et al., 2004). Enfin, MAP1B est impliquée dans le guidage axonal et la migration neuronale (Meixner et al., 2000).

## I.4.2. Structure et modifications post-traductionnelles

### I.4.2.1. Structure

Toutes les protéines de la famille MAP1 sont constituées d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère. MAP1B est un polypeptide sujet à un clivage protéolytique après la traduction (Hammarback et al., 1991). La chaîne lourde de MAP1B dérivée de ce clivage ou MAP1B-HC contient des domaines de liaison aux MTs (Noble et al., 1989; Zauner et al., 1992). La chaîne légère ou LC1 peut se lier aux MTs mais aussi aux filaments d'actine (Noiges et al., 2002) (**Figure 18**).



**Figure 18: Schéma représentant la structure protéique de MAP1B avec ses différents domaines de liaison aux MTs (Microtubule binding) et à l'actine (F-actin binding) ainsi que son site de clivage (Cleavage site). Schéma adapté de Halpain et al. 2006**  
**Deux produits sont générés par ce clivage protéolytique : MAP1B-HC et LC1..**

Par ailleurs, des analyses de microscopie électronique ont mis en évidence la structure allongée de MAP1B, avec une région terminale sphérique (Sato-Yoshitake et al., 1989).

#### I.4.2.2. Modifications post-traductionnelles : phosphorylation

Les modifications post-traductionnelles de MAP1B sont déterminantes pour son activité intracellulaire et sa localisation subcellulaire. Plus d'une trentaine de sites de phosphorylation ont été décrits pour MAP1B (Collins et al., 2005). Deux types de phosphorylation sont connus pour MAP1B : le type I produisant P1-MAP1B et le type II produisant P2-MAP1B. L'équilibre entre MAP1B et ses formes phosphorylées est orchestré par de nombreuses protéines régulatrices. La phosphorylation de type I est assurée par des protéines kinases telles que glycogène synthase 3  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) et CDK5 tandis que la phosphorylation de type II se fait *via* l'activité de la caséine kinase II (García-Pérez et al., 1998; Ulloa et al., 1993a). En outre, la déphosphorylation est également assurée par des acteurs différents suivant le type de phosphorylation (Ulloa et al., 1993b).

Au niveau subcellulaire, il apparaît que P1-MAP1B régule spécifiquement les dynamiques d'actine et des MTs dans la partie distale des axones et dans le cône de croissance (Ulloa et al., 1994a). P2-MAP1B est, quant à elle, distribuée dans l'ensemble du neurone, sans enrichissement dans une région particulière. Cette différence de distribution subcellulaire se conjugue à une différence fonctionnelle pour ces deux types de modifications post-traductionnelles. Aussi, l'équilibre entre les différents acteurs enzymatiques est essentiel au maintien d'une balance entre les différentes formes de MAP1B.

#### I.4.3. Profil d'expression

Chez les rongeurs, MAP1B est la première MAP exprimée dans le système nerveux (Tucker et al., 1989, 1988). MAP1B est abondamment exprimée au cours du développement puis décline progressivement à partir de 2 semaines postnatales (Schoenfeld et al., 1989). Dans le cerveau adulte, l'expression de MAP1B persiste principalement dans les régions connues pour leur plasticité telles que l'hippocampe, l'épithélium olfactif et le bulbe olfactif (Safaei and Fischer, 1989; Schoenfeld et al., 1989; Tucker et al., 1989).

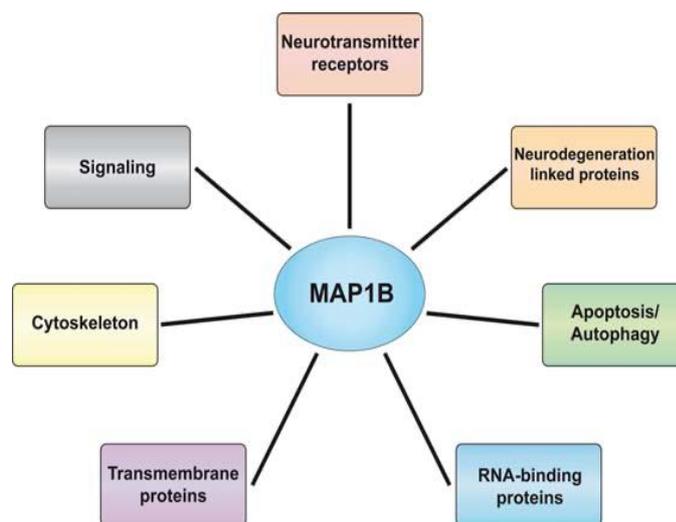
Dans le système nerveux central, MAP1B est principalement exprimée dans les neurones mais peut également être localisée dans les cellules gliales (Ulloa et al., 1994b). Au niveau périphérique, MAP1B est abondamment retrouvée dans les neurones moteurs et sensoriels (Ma et al., 1997).

A l'échelle subcellulaire, MAP1B est présente dans les dendrites, les axones et le soma. Cependant, un enrichissement de MAP1B et de P1-MAP1B est observé au niveau de la partie distale des axones et dans le cône de croissance, en particulier au cours de l'élongation axonale (Fischer and Romano-Clarke, 1991; Mansfield et al., 1991). P2-MAP1B peut être retrouvée dans tous les compartiments neuronaux au cours du développement mais se maintient uniquement au niveau somato-dendritique à l'âge adulte (Moreno et al., 1999; Ulloa et al., 1994a). De manière générale, la forme phosphorylée P1-MAP1B diminue au cours du développement, au même titre que MAP1B, tandis que P2-MAP1B demeure inchangée à l'âge adulte (Moreno et al., 1999).

Finalement, une régulation spatio-temporelle précise de l'expression de MAP1B et ses formes phosphorylées est observée. Ce profil d'expression est inhérent aux fonctions développementales et subcellulaires de MAP1B.

#### 1.4.4. Fonctions canoniques de MAP1B

Les fonctions de MAP1B au niveau cellulaire et en particulier, au niveau neuronal sont plurielles (**Figure 19**). Cette capacité à réguler, à la fois, les microtubules et les filaments d'actine en fait un acteur essentiel à plusieurs processus cellulaires. Je me concentrerai, ici, sur la description des fonctions canoniques de MAP1B associées au cytosquelette.



**Figure 19 : Représentation schématique de toutes les fonctions subcellulaires de MAP1B (Villarreal-Campos and Gonzalez-Billault, 2014).**

**MAP1B interagit avec des acteurs intervenant dans plusieurs processus cellulaires, regroupés ici par catégories : récepteurs des neurotransmetteurs, protéines impliquées dans la neurodégénérescence, apoptose/autophagie, protéines de liaison à l'ARN, protéines transmembranaires, cytosquelette et signalisation.**

#### I.4.4.1. Rôle au sein des microtubules

MAP1B joue un rôle dans l'élongation des microtubules. Plusieurs études ont démontré sa capacité à polymériser la tubuline, que ce soit *in vivo* ou *in vitro* (Pedrotti and Islam, 1995; Riederer et al., 1986). En effet, MAP1B se révèle être plus efficace que d'autres MAPs (telle que MAP2) dans ce processus (Pedrotti and Islam, 1995). Néanmoins, si l'on considère d'autres critères évaluant la capacité à stabiliser les microtubules de façon plus élargie, MAP1B s'avère être moins efficace que d'autres MAPs (Takemura et al., 1992). De manière intéressante, la surexpression de MAP1B ne suffit pas à inhiber l'instabilité dynamique des microtubules contrairement à la surexpression d'autres MAPs (Vandecandelaere et al., 1996). Ainsi, MAP1B est considérée comme une MAP moins stabilisatrice que les autres.

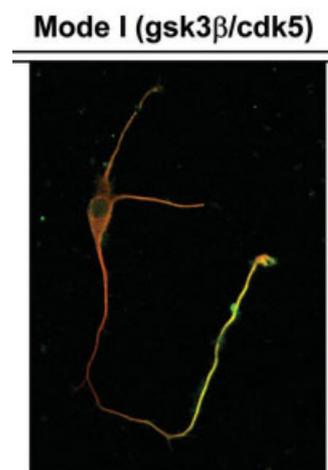
En outre, il a plus récemment été démontré que MAP1B interagit avec l'enzyme responsable de la tyrosination de la tubuline : Tubuline Tyrosine Ligase (TTL) et en favorise l'activité (Utreras et al., 2008). La tubuline tyrosinée constitue une sous-catégorie de MTs dynamiques et MAP1B favoriserait donc le maintien de cette population de MTs dans la cellule.

De plus, la perte de fonction de MAP1B a été associée dans un modèle murin à une diminution de tubuline tyrosinée et une augmentation de la tubuline détyrosinée (retrouvée dans les MTs stables) (Gonzalez-Billault et al., 2001).

Finalement, tous ces arguments font de MAP1B, contrairement aux autres MAPs, une protéine contribuant plutôt à la dynamisation des MTs (Tymanskyj et al., 2012).

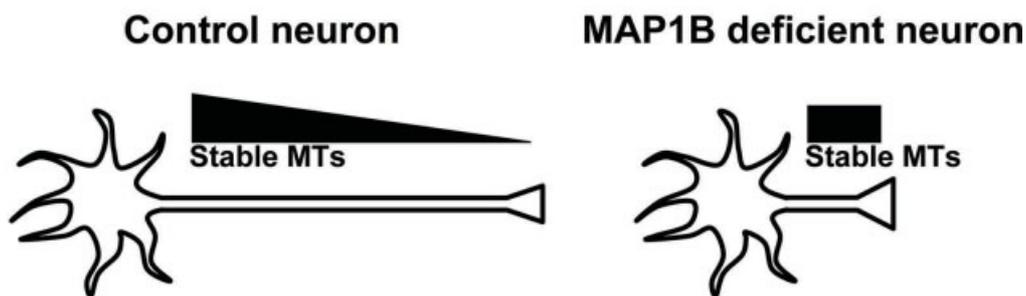
#### I.4.4.2. Contribution à la neuritogenèse

L'une des fonctions historiques de MAP1B associée à son implication dans la dynamique des MTs, concerne son rôle dans la neuritogenèse. MAP1B joue un rôle dans l'élongation des axones et la motilité du cône de croissance. Ainsi, MAP1B



**Figure 20 : Représentation de la distribution de P1-MAP1B (en vert) dans un neurone pyramidal hippocampique (adapté de Gonzalez-Billault 2004). P1-MAP1B est enrichie dans la partie distale de l'axone.**

et P1-MAP1B s'associe préférentiellement à la partie distale des axones en formation et une hausse de P1-MAP1B est associée au développement axonal (DiTella et al., 1996) (**Figure 20**). De plus, l'interaction de MAP1B avec la TTL est essentielle au maintien d'une population de MTs dynamiques dans le cône de croissance (Gonzalez-Billault et al., 2001). Enfin, la délétion de MAP1B est directement associée à des anomalies sévères de la morphologie axonale et à des défauts de polarité (Gonzalez-Billault et al., 2001) (**Figure 21**).



**Figure 21 : Représentation de l'effet de la délétion de MAP1B sur l'élongation axonale (adapté de Gonzalez-Billault et al. 2004). L'absence de MAP1B serait responsable de la perte du gradient de MTs stables, contribuant ainsi au blocage de l'élongation axonale.**

En outre, MAP1B est retrouvée dans les dendrites au cours du développement synaptique et dans les épines dendritiques (Kitamura et al., 2007; Tortosa et al., 2011). Il est probable que MAP1B soit associée aux microtubules transitoires retrouvés dans les épines dendritiques (Hu et al., 2008; Jaworski et al., 2009; Shirao and González-Billault, 2013). Des travaux restent à mener pour élucider le mécanisme d'action de MAP1B dans les épines dendritiques.

Par ailleurs, des effets de compensation entre les différentes MAPs ont été décrits au cours du développement des neurites. Par exemple, les défauts observés au cours de l'élongation axonale sont plus sévères lorsque MAP2 ou Tau sont également délétées (González-Billault et al., 2002). D'autres études étayent ces phénomènes de coopération entre les MAPs mais il reste certain que MAP1B, même seule, joue un rôle essentiel dans la neuritogenèse (González-Billault et al., 2002).

La délétion de futsch, orthologue de MAP1B chez la drosophile, confirme ce rôle dans d'autres systèmes. En effet, futsch apparaît comme un acteur essentiel du développement des axones

et des dendrites (Hummel et al., 2000). Aussi, futsch joue un rôle critique dans la mise en place d'une synapse neuro-musculaire fonctionnelle (Roos et al., 2000).

En conclusion, MAP1B s'avère être un acteur essentiel dans le développement axonal, dendritique et synaptique, et ce, dans différents systèmes.

#### I.4.5. MAP1B et migration neuronale

La perte de fonction de MAP1B dans un modèle murin conduit à une létalité périnatale et a permis de montrer des défauts anatomiques et structurels majeurs du système nerveux (Chowdhury et al., 1997; González-Billault and Avila, 2000). Plusieurs régions (cortex, hippocampe et cervelet) sont impactées par la délétion de MAP1B, ce qui suggère un rôle de MAP1B dans la migration neuronale et le guidage axonal (González-Billault et al., 2000; Meixner et al., 2000). De plus, ces défauts sont également retrouvés lorsque MAP1B et Tau sont conjointement délétées (Takei et al., 2000).

Il a été démontré que l'équilibre entre MAP1B et P1-MAP1B est essentiel à la migration neuronale, à la directionnalité du mouvement et à la morphologie des neurones (González-Billault et al., 2005). MAP1B est également un acteur essentiel de l'interaction entre les microtubules et les filaments d'actine au cours de la migration (Takei et al., 2000). De plus, la balance entre les MTs stables et dynamiques, régulée notamment par MAP1B, est un élément essentiel au bon déroulé de la migration (Gonzalez-Billault et al., 2001). La régulation de l'expression et de la phosphorylation de MAP1B est essentielle dans plusieurs processus régissant la migration neuronale.

Un lien fonctionnel a été établi entre MAP1B et une autre MAP : Lis1 (Lissencephaly-related protein 1). En effet, l'interaction entre MAP1B et Lis1 interfère avec le complexe formé par Lis1 avec la dynéine (Jiménez-Mateos et al., 2005). Ce complexe est essentiel au couplage entre le mouvement du centrosome et du noyau, nécessaire à la migration (Tanaka et al., 2004).

Par ailleurs, un lien entre MAP1B et Reelin a également été établi. Reelin est une protéine de la matrice extracellulaire connue pour son rôle dans la migration neuronale, le développement et la plasticité synaptique. Il apparaît que Reelin est impliquée en amont de la cascade de

phosphorylation qui module la fonction de MAP1B et l'équilibre avec P1-MAP1B (Jiménez-Mateos et al., 2005). Cet équilibre entre P1-MAP1B et MAP1B est essentiel à la dynamique instable des MTs et *de facto* à la migration neuronale (González-Billault et al., 2005; Goold et al., 1999; Mack et al., 2000).

De plus, Netrine-1 est également associée à MAP1B dans la littérature. Netrine-1 est une protéine de la matrice extracellulaire connue pour son rôle dans le guidage axonal et la régulation de la migration cellulaire. Netrine-1, en activant GSK3 $\beta$  et CDK5, modulerait la phosphorylation de MAP1B qui régule, en conséquence, l'interaction des MTs et des filaments d'actine essentielle à la migration (Del Río et al., 2004; Goold et al., 1999; Lucas et al., 1998).

En conclusion, plusieurs études ont permis d'établir un lien clair entre MAP1B et la migration neuronale. Plusieurs partenaires de MAP1B impliqués dans la régulation de la migration dans le système nerveux ont été identifiés.

#### I.4.6. MAP1B et FMRP

MAP1B est l'une des cibles ARNm bien connues de FMRP. En effet, la régulation de la traduction de MAP1B par FMRP a été décrite dans plusieurs études.

FMRP interagit avec la région 5'UTR de l'ARNm de MAP1B et régule à la fois son transport et sa traduction (Darnell et al., 2001). En particulier, il a été démontré que FMRP exerce une activité répressive sur la traduction de MAP1B dans l'hippocampe murin (Lu et al., 2004). Ainsi, le niveau d'expression de MAP1B est augmenté chez les souris *Fmr1-null*, par l'interaction spécifique de FMRP et MAP1B. De plus, la stabilité des microtubules, dans ce contexte, est également augmentée (Lu et al., 2004).

Chez la drosophile, la délétion de l'orthologue de FMRP a permis de mettre en évidence une surexpression de futsch (orthologue de MAP1B) (Zhang et al., 2001). De plus, des anomalies structurelles et fonctionnelles ont été décrites au niveau synaptique dans ce modèle, associées à des défauts de transmission neuro-musculaire (Zhang et al., 2001). Et de manière intéressante, en délétant conjointement les orthologues respectives de FMRP et MAP1B, le phénotype est complètement restauré (Zhang et al., 2001). Par conséquent, MAP1B est un

acteur essentiel, en aval de FMRP, de la signalisation au niveau de la jonction neuromusculaire chez la drosophile.

En accord avec ces résultats, un autre modèle de drosophile délété pour futsch présente des manifestations neurodégénératives précoces et la suppression de l'orthologue de FMRP est capable de restaurer ce phénotype (Bettencourt da Cruz et al., 2005).

En conclusion, l'expression de MAP1B est finement régulée par FMRP au cours du développement murin. Chez la drosophile, un lien fonctionnel entre ces deux acteurs a également été décrit. La question de l'importance de MAP1B dans la migration neuronale reste, en revanche, inexplorée.

## II. Contexte du projet

La protéine FMRP, déficiente dans le syndrome de l’X fragile, joue un rôle fondamental à l’échelle neuronale et cérébrale. En effet, ses nombreuses fonctions cellulaires lui confèrent une position cruciale dans de multiples processus biologiques orchestrant le développement du cerveau.

La migration neuronale est un phénomène essentiel au développement cérébral. Comme détaillé ci-dessus au niveau cortical, l’organisation hautement sophistiquée du cortex dépend directement de la coordination des flux migratoires neuronaux. De plus, il a récemment été démontré qu’une migration neuronale extensive est observée dans le cerveau du nouveau-né humain (Paredes et al., 2016).

Nous pouvons ainsi nous interroger sur le rôle que peut jouer FMRP dans la migration neuronale. Cette question ne fait l’objet que de très peu de publications à ce jour. En effet, l’un des seuls papiers qui fait état d’un rôle de FMRP dans la migration concerne précisément la migration radiaire des neurones corticaux au cours du développement embryonnaire (La Fata et al., 2014). Cette étude met en avant un rôle nouveau de FMRP dans la migration. En effet, l’absence de FMRP est responsable d’un retard dans la migration radiaire et plus spécifiquement, dans la transition multipolaire à bipolaire des neurones. Cette transition est une étape critique de la migration radiaire et FMRP est manifestement un acteur indispensable au bon déroulé de cette étape.

En revanche, le rôle de FMRP dans la migration tangentielle n’a, jusqu’à présent, pas été exploré. Ma thèse s’intéresse donc aux conséquences de l’absence de FMRP sur la migration tangentielle. Pour répondre à cette problématique, le système utilisé est le CMR postnatal dans le modèle murin de la maladie. Ce courant de migration est emprunté par des neurones nés dans la ZSV et migrant jusqu’au BO. Au stade postnatal, le CMR est large et s’étend sur plusieurs millimètres de long, ce qui favorise la bonne visualisation des neurones migrant le long de ce courant. En s’appuyant donc sur ce système de migration et sur le modèle murin du SXF, le but de mon projet est de tenter d’élucider l’impact de l’absence de FMRP sur la migration dans le CMR. De plus, la caractérisation moléculaire du phénotype migratoire des *Fmr1-null* a permis d’identifier MAP1B comme un acteur clé, en aval de FMRP, de la migration tangentielle postnatale. Enfin, nous avons également exploré la migration tangentielle au

cours du développement embryonnaire des souris *Fmr1-null*, stade crucial dans le développement du système nerveux.

L'ensemble des résultats obtenus concernant le CMR postnatal sont présentés sous forme d'article (non soumis) ci-dessous.

Les résultats concernant la migration embryonnaire ne seront pas intégrés dans l'article pour la première soumission, ils seront donc présentés ici dans la deuxième partie des résultats.



# RESULTATS I

## III. Résultats

### III.1. Article (non soumis)

#### **FMRP REGULATES NEURONAL MIGRATION THROUGH MAP1B TRANSLATION**

S. Messaoudi, J. Stoufflet, C. Fouquet, M. Doulazmi, A. Allam, T. Paillard, A. Trembleau, I. Caillé

#### **ABSTRACT**

The Fragile X Syndrome (FXS) is the most common form of inherited intellectual disability, and the first monogenic cause of Autism Spectrum Disorder. FXS is caused by the absence of the RNA-binding protein FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein).

Neuronal migration is an essential step of brain development allowing displacement of neurons from their germinal niches to their final integration site.

The role of FMRP in tangential neuronal migration remains unexplored. We studied the consequences of FMRP absence on tangential migration, using the postnatal Rostral Migratory Stream (RMS) as an experimental system.

In *Fmr1-null* RMS, neurons exhibit a slowed-down migration and an impaired trajectory, associated with defects of their centrosomal movement. Through RNA-interference-induced knock-down of *Fmr1*, we show that these migratory defects are cell-autonomous. Mutated neurons also display altered morphology as well as defects in their microtubule tyrosination pattern. Finally, we show that the FMRP mRNA target involved in these defects is MAP1B (Microtubule-Associated Protein 1B), whose knock-down rescues most migratory defects.

Our results thus unveil a new neurodevelopmental role of FMRP, as a crucial actor of postnatal tangential migration, potentially important for the understanding of FXS pathophysiology.

## INTRODUCTION

The Fragile X syndrome (FXS) is the most common cause of inherited intellectual disability and a leading cause of autism spectrum disorder. FXS is due to the silencing of the gene *FMR1* and loss of the encoded protein, FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein) (Pieretti et al., 1991). FMRP is an ubiquitous RNA-binding protein, with high level of expression in the central nervous system (Gholizadeh et al., 2015). It is a general regulator of RNA metabolism and especially of mRNA local translation in neurons (Banerjee et al., 2018). Its cognate mRNA targets are numerous and diverse, including mRNAs encoding proteins involved in neuronal plasticity like CamKII $\alpha$  (Calcium Calmodulin-dependent Kinase II) and cytoskeletal proteins like MAP1B (Microtubule-Associated Protein 1B) (Ascano et al., 2012; Brown et al., 2001; Darnell et al., 2011; Miyashiro et al., 2003). *Fmr1*-null mice are the murine model of FXS and have allowed characterization of neurodevelopmental and plasticity defects consecutive to the absence of FMRP. We previously showed the essential role of FMRP in the differentiation and learning-induced structural plasticity of adult-generated olfactory bulb interneurons (Daroles et al., 2016; Scotto-Lomassese et al., 2011).

Neuronal migration is a crucial step for the establishment of neuronal circuitry. It allows the displacement of neurons from their site of birth to their final destination of differentiation. Migration defects lead to severe brain pathologies like lissencephaly and cortical heterotopia and might be involved in psychiatric disorders (Romero et al., 2018). Moreover, migration in the human infant brain appears to be even more extended than anticipated from the rodent data (Paredes et al., 2016; Sanai et al., 2011). Moro and collaborators reported periventricular heterotopia in two FXS patients, suggesting a role for FMRP in migration (Moro et al., 2006). However, the question of potential migration defects in FXS remains mostly unexplored. In *Fmr1*-null mice, radially migrating embryonic glutamatergic cortical neurons display a defect in the multipolar to bipolar transition (La Fata et al., 2014), a critical change of polarity taking place before the initiation of the movement. Wu and collaborators additionally report a role for FMRP in regulating cortical radial migration, with its overexpression or knock-down leading to misplacement of cortical neurons

(Wu et al, 2019). However, to our knowledge, tangential migration has not been studied so far and more generally the dynamics of mutated *Fmr1* neurons have never been analyzed in detail.

The Rostral Migratory Stream (RMS) is the main avenue for tangentially migrating neurons in the postnatal and adult mouse brain (Lois et al., 1996; Wichterle et al., 1997). A massive number of neuroblasts are constantly produced in the ventricular/subventricular zone (V/SVZ) and migrate over a long distance along the RMS to the olfactory bulb (OB). Like all migrating neurons, they display a cyclic saltatory mode of migration, in which the nucleus and centrosome move forward in a “two-stroke” cycle. The centrosome moves first within a swelling in the leading process and the nucleus follows subsequently (Bellion et al., 2005).

Here, using the postnatal RMS as a migration model as in (Stoufflet et al., 2020), we show entirely novel migratory defects induced by the absence of FMRP. Migrating neurons display a slowed-down and more erratic migration in *Fmr1*-null mice, accompanied by defects in their centrosome movement. These defects are cell-autonomous, since recapitulated by RNA-interference-induced *Fmr1* knock-down (KD). Mutated neurons display morphological defects as well as microtubule tyrosination defects. Given the link of MAP1B with microtubules and its role in their tyrosination (Utreras et al., 2008), we suspected that MAP1B might be the FMRP mRNA target involved in the observed migratory defects. MAP1B translation is indeed increased in the mutated RMS and its downregulation rescues most migration defects, showing that FMRP regulates neuronal migration through MAP1B translation.

## MATERIAL AND METHODS

### Mouse lines

Mice were housed in a 12 hours light/dark cycle, in cages containing one or two females and one male. The postnatal mice were housed in their parents' cage. Animal care was conducted in accordance with standard ethical guidelines [National Institutes of Health (NIH) publication no. 85-23, revised 1985 and European Committee Guidelines on the Care and Use of Laboratory Animals 86/609/EEC]. The experiments were approved by the local ethics committee (Comité d'Ethique en Expérimentation Animale Charles Darwin C2EA-05 and the French Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche APAFIS#13624-2018021915046521\_v5). We strictly performed this approved procedure. The mice used were in a C57BL6-J background. *Fmr1-null* mice were genotyped according to the original protocol (Consortium et al. 1994).

### Plasmid constructions

pCaggs-GFP was designed in the laboratory. pCs2-centrin-RFP was ordered to Addgene (no. 26753). All the plasmids were used at concentrations between 5 to 8 mg/ml (0.01% Fast green) for postnatal injection/electroporation.

### MiRNA production

Silencing of *Fmr1* and *Map1b* has been performed using BLOCK-iT Pol II miR RNAi Expression Vector Kits (Invitrogen) and the RNAi Designer (Invitrogen). The sequences of the single-stranded oligos are:

Fmr1 Top:

TGCTGTACAAATGCCTTGTAGAAAGCGTTTTGGCCAACTGACTGACGCTTTCTAAGGCATTTGTA,

Fmr1 Bottom:

CCTGTACAAATGCCTTAGAAAGCGTCAGTCAGTGGCCAAAACGCTTTCTACAAGGCATTTGTAC,

Map1b Top:

TGCTGTGTTGATGAAGTCTTGGAGATGTTTTGGCCACTGACTGACATCTCCAACCTTCATCAACA,

Map1b Bottom:

CCTGTGTTGATGAAGTTGGAGATGTCAGTCAGTGGCCAAAACATCTCCAAGACTTCATCAACAC.

The double-stranded oligos were inserted in a pcDNA 6.2-GW/EmGFP-miR. The resulting constructions were sequenced before use.

### **Postnatal electroporation**

Postnatal injection and electroporation were performed at postnatal day 2 (P2). Postnatal mice were anesthetized by hypothermia. Pseudo-stereotaxic injection [from lambda medial-lateral (M/L): 0,9; anterior-posterior (A/P): 1,1; dorsal-ventral (D/V): 2] using a glass micropipette (Drummond Scientific Company, Wiretrol I, 5-000-1050) was performed, and 2ul of plasmid (between 5 and 8 mg/ml) was injected. Animals were subjected to 5 pulses of 99.9V during 50ms separated by 950ms using the CUY21 SC Electroporator and 10-mm tweezer electrodes (Harvard Apparatus, Tweezertrode, 10mm, 45-0119). The animals were placed on 37°C plates to restore their body temperature before returning in their parents' cage. Animals were considered as fully restored when moving naturally and their skin color returned to pink.

### **Postnatal acute brain slices**

Brain slices of mice aged from P6 to P10 were prepared as previously described (Stoufflet et al. 2020). Pups were sacrificed by decapitation and the brain was removed from the skull. Sagittal brain sections (250 mm) were cut with a VT1200S microtome (Leica). Slices were prepared in an ice-cold cutting solution of the following composition: 125 mM NaCl, 0.4 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 26 mM NaHCO<sub>3</sub>, 5 mM sodium pyruvate, 20 mM glucose and 1 mM kynurenic acid, saturated with 5% CO<sub>2</sub> and 95% O<sub>2</sub>. Slices were incubated in this solution for 30 minutes at room temperature and then placed in recording solution (identical to the cutting solution, except that the CaCl<sub>2</sub> concentration is 2 mM and kynurenic acid is absent) for at least 30 minutes at 32°C before image acquisition.

### **Time-lapse video microscopy of postnatal slices**

To analyze neuronal migration and centrosome dynamics, images were obtained with an inverted SP5D confocal microscope (Leica) using a 40x/1.25-numerical aperture (N.A.) objective with 1.5 optical zoom or an upright SP5 MPII two-photon microscope (Leica) using a 25x/0.95-N.A. objective with 1.86 optical zoom. Images were acquired every 3 minutes for 2

to 3 hours with a 1 mm interval. The temperature in the microscope chamber was maintained at 32°C during imaging and brain slices were continuously perfused with heated recording solution (see above) saturated with 5% CO<sub>2</sub> and 95% O<sub>2</sub>.

### **Analyses of neuronal migration and centrosome movement**

Analyses were performed using ImageJ (NIH Image; National Institutes of Health, Bethesda, MD) software and MTrackJ plugin (Meijering, Dzyubachyk, et Smal 2012). The nucleus and the centrosome (when centrin-RFP was co-injected) were tracked manually on each time frame during the whole movie. We considered a NK as a movement superior to 6 mm between two consecutive time points (3 minutes-interval). For cell migration, calculation of speed, percentage of pausing time, sinuosity, directionality, NK distance and frequency was performed using the x,y,t coordinates of the nucleus of each cell. Cells tracked less than 30 minutes and cells that didn't perform any NK during the whole tracking were excluded. A CK was defined as a forward movement superior to 2 mm followed by a backward movement superior to 2 mm. For centrosome movement, calculation of CK speed, frequency and efficiency was performed using the x,y,t coordinates of the centrosome of each cell and the x,y,t coordinates of each corresponding nucleus.

### **Immunohistochemistry**

P7 to P10 mice were lethally anesthetized using Euthazol. Intracardiac perfusion with 4% paraformaldehyde was performed. The brain was post-fixed overnight in 4% paraformaldehyde and then rinsed three times with phosphate-buffered saline (PBS) 1x (Gibco, 1400-067). 50 mm sagittal sections were made with VT1200S microtome (Leica). Slices were placed 1 hour in a saturation solution (10% fetal bovine serum; 0.5% Triton X-100 in PBS). Primary antibodies used in this study are: GFP (Aves; GFP-1020; 1/1000), FMRP (Developmental Studies Hybridoma Bank; 1-204; 1/200), MAP1B (Santa Cruz Biotechnology; sc-365668; 1/300). The antibodies were diluted in saturation solution. Slices were incubated for 48 to 72 hours at 4°C under agitation with the antibodies and then rinsed three times with PBS 1x. Secondary antibodies used are: anti-chicken immunoglobulin Y (IgY) Alexa Fluor 488 (1/1000; Jackson ImmunoResearch; 703-545-155) against anti-GFP, anti-mouse immunoglobulin G2b (IgG2b) Alexa Fluor 555 (1/2000; Jackson ImmunoResearch; 703-545-155) against anti-FMRP and anti-MAP1B. The antibodies were diluted in saturation solution.

Slices were incubated with secondary antibodies for 1 hour at room temperature under agitation, protected from light. After rinsing three times with PBS 1x, slices were counter-colored with Hoechst and mounted in Mowiol. To quantify MAP1B KD, a cell was considered MAP1B negative when it was clearly immunonegative at high magnification (objective: 25x; zoom: 4).

### **Tissue collection and Western blotting**

RMS were manually micro-dissected from 5 to 6 postnatal mouse brains and pooled in a PBS 1x (0.5% glucose) solution. After centrifugation, protein extraction is performed on the tissue pellet. Samples are homogenized in a lysis buffer with the following composition: 25 mM Tris HCl pH 7.5, 150 mM NaCl, 1% NP40, 0.5% NaDeoxycholate, 1 mM EDTA, 5% glycerol, 1X EDTA-free protease inhibitor cocktail (Sigma, 4693132001). After centrifugation, samples were loaded and run in NuPAGE 3-8% Tris-Acetate Gel (Invitrogen, EA0378BOX) at 120V for 15 minutes then 180V for 40 minutes. Transfer to nitrocellulose Immobilon-PVDF-P membrane (Millipore, IPVH00010) was performed at 40V overnight at 4°C. Samples are subjected to SDS/PAGE. The membrane was then saturated for 1 hour in TBSt containing 5% powder milk. Primary antibodies used are: MAP1B (Santa Cruz Biotechnology, sc-365668, 1/100), Vinculin (Cell Signaling Technology, 13901S, 1/1000). The antibodies were diluted in TBSt containing 5% powder milk. Secondary antibodies used are: ECL anti-mouse immunoglobulin G (IgG) horseradish peroxidase linked whole antibody (1/10 000; Fisher Scientific; NXA931V) against anti-MAP1B, Peroxidase-conjugated AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Donkey Anti-Rabbit IgG (H+L) minimal cross-reaction to Bovine, Chicken, Goat, Guinea Pig, Syrian Hamster, Horse, Human, Mouse, Rat, and Sheep (1/5 000; Jackson ImmunoResearch; 711-036-152) against anti-Vinculin. The antibodies were diluted in TBSt containing 5% powder milk. Labeling was visualized using Pierce ECL Western Blotting Substrate (Thermo Scientific; 32209) and luminescent image analyzer LAS-3000.

### **SVZ 3D-cultures and immunostaining**

For miRMap1b efficiency quantification, brains were previously intraventricularly injected and electroporated with either miRMap1b or miRNeg control plasmid. For tyrosination/acetylation characterization, dissected brains weren't injected. In both cases, sub-ventricular zones from postnatal brains were dissected. SVZ explants were placed on

glass-bottom culture dishes (MatTek Corporation; P35G-0-20-C) within 10 mL of 60% Matrigel (Corning; 356237). After Matrigel solidification (15 minutes at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>), culture media was added and the dishes were incubated for 4-5 days at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. For immunostaining, SVZ cultures were fixed in 2% paraformaldehyde for 30 minutes and then rinsed three times with PBS 1x (Gibco, 1400-067). SVZ cultures were placed 1 hour in a saturation solution (10% fetal bovine serum; 0.5% Triton X-100 in PBS). Primary antibodies used in this study are: tyrosinated tubulin (Abcam; ab6160; 1/500), acetylated tubulin (Sigma-Aldrich; T7451; 1/500), MAP1B (Santa Cruz Biotechnology; sc-365668; 1/300). The antibodies were diluted in saturation solution. Cultures were incubated for 48 hours at 4°C with the antibodies and then rinsed three times with PBS 1x. Secondary antibodies used are: anti-rat immunoglobulin G (IgG (H+L)) Alexa Fluor 647 (1/500; Jackson ImmunoResearch; 112-605-167) against anti-tyrosinated tubulin, anti-mouse immunoglobulin G2b (IgG2b) Alexa Fluor 555 (1/1000; Invitrogen; A-21147) against anti-acetylated tubulin and anti-mouse immunoglobulin G2b (IgG2b) Alexa Fluor 555 (1/1000; Invitrogen; A-21147) against anti-MAP1B. The antibodies were diluted in saturation solution. Cultures were incubated with secondary antibodies for 1 hour at room temperature, protected from light. After rinsing three times with PBS 1x, slices were counter-colored with Hoechst and mounted in Mowiol. To quantify MAP1B KD, a cell was considered MAP1B negative when it was clearly immunonegative at high magnification (objective: 25x; zoom: 4).

## **Statistics**

All manipulations and statistical analyses were implemented with R (4.2.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Normality in the variable distributions was assessed by the Shapiro-Wilk test. Furthermore, the Levene test was performed to probe homogeneity of variances across groups. Variables that failed the Shapiro-Wilk or the Levene test were analyzed with non-parametric statistics using the one-way Kruskal-Wallis analysis of variance on ranks followed by Nemenyi test post hoc and Mann-Whitney rank sum tests for pairwise multiple comparisons. Variables that passed the normality test were analyzed by means of one-way ANOVA followed by Tukey post hoc test for multiple comparisons or by Student's *t* test for comparing two groups. Categorical variables were compared using Pearson's  $\chi^2$  test or Fisher's exact test. A *p*-value of <0.05 was used as a cutoff for statistical significance. Results are presented as the means  $\pm$  SEM. The statistical tests are described in each figure legend.

For the tyrosinated/acetylated colocalization analysis, a plugin of ImageJ (JACoP) was used (Bolte and Cordelières, 2006). This plugin enables the analysis of both co-localization indicators: Pearson's coefficient and Manders' overlap coefficient. Pearson's coefficient provides the rate of association of two fluorochromes, with 0 for no correlation and 1 for absolute correlation. Manders' coefficient is the proportion of summed intensities of pixels from channel 1 (here tyrosinated tubulin) for which there is also a signal in channel 2 (here acetylated tubulin) over the total intensity of channel 1.

## RESULTS

### **FMRP is expressed in tangentially migrating neurons of the postnatal RMS**

We use the postnatal RMS (Rostral Migratory Stream) as a model system to study tangential migration. In this stream, neurons are born in the ventricular-subventricular niche and follow a tangential path toward the olfactory bulb (Fig. 1.A). During their progression, neurons perform a "two-stroke" cycle. Initially, the centrosome moves forward within a swelling in the leading process (centrokinesis (CK)), which is followed by a subsequent movement of the nucleus (nucleokinesis (NK)) (Fig. 1.B). The neurons then pause and the cycle initiates again.

After an *in vivo* intraventricular electroporation of a GFP-expressing plasmid in neonate mice GFP-positive neurons can be visualized in the RMS a few days later (Fig. 1.C).

FMRP is expressed in most neurons of the Central Nervous System (CNS) (Gholizadeh, Halder, et Hampson 2015). Accordingly, immunostaining for FMRP reveals that FMRP is strongly expressed in the RMS, where most neurons appear labeled. When observing isolated GFP-labeled neurons, FMRP labeling appears as a discrete and punctate staining visible mainly in the cytoplasm both at the rear of the neuron and in the leading process and growth cone (Fig. 1.D,E).

## FIGURE 1

**Figure 1. FMRP is expressed in migrating neurons of the murine postnatal RMS.** (A) Scheme of a sagittal section of the postnatal RMS connecting the V/SVZ to the OB. V/SVZ, ventricular/sub-ventricular zone; OB, olfactory bulb; RMS, rostral migratory stream. The inset shows the high density of homotypically migrating neurons in the RMS. (B) Representation of neuroblasts' cyclic saltatory migration. 1. The neuron is in pause. 2. The leading process (LP) extends, and the centrosome moves within a swelling in the LP. 3. The nucleus moves forward. CK, centrokinesis; NK, nucleokinesis. (C) Scheme of the experimental procedure. 2-day old neonates are intraventricularly electroporated with a GFP-expressing plasmid to label a cohort of migrating neurons that can be subsequently visualized in fixed or acute sections of the RMS. (D) Immunohistochemistry of the RMS showing FMRP expression (magenta) along the stream, in which a cohort of GFP-positive neurons (cyan) are visible. Scale bar: 100  $\mu\text{m}$ . (E) Immunohistochemistry of a GFP-positive RMS neuron (cyan) showing FMRP subcellular expression (magenta). The GFP-positive neuron displays a cytoplasmic expression of FMRP around the nucleus (indicated by white arrows), along the leading process and in the growth cone. The surrounding GFP-negative neurons express FMRP as well, according to the same pattern. Scale bar: 10  $\mu\text{m}$ .

### **The absence of FMRP leads to migration defects**

To investigate the involvement of FMRP in postnatal tangential migration, we used the *Fmr1-null* mouse line (Consortium et al. 1994). Time-lapse video microscopy of GFP positive neurons in the RMS shows major migratory impairments in *Fmr1-null* neurons as compared to controls (respectively [movies S.1](#) and [S.2](#)). The position of each fluorescent neuron was tracked at each time point, generating x, y coordinates along its trajectory, thus enabling the quantification of various migration parameters. *Fmr1-null* neurons display a slowed-down migration, an increased pausing time, a more sinuous trajectory, and a lack of directionality (Fig. 2.A-D). The nucleokinesis is less frequent in *Fmr1-null* neurons and the mean distance per NK is reduced (Fig. 2.E,F). The absence of FMRP thus leads to severe migratory defects in the RMS.

### **FIGURE 2**

**Figure 2. Migration defects in *Fmr1*-null neurons.** (A) Migration speed of control (Ctrl) and *Fmr1*-null neurons. Ctrl:  $76 \pm 2 \mu\text{m}/\text{h}$ ; *Fmr1*-null:  $47 \pm 1 \mu\text{m}/\text{h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (B) Percentage of pausing time of control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl: 78 %; *Fmr1*-null: 91 % (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (C) Sinuosity index of control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl:  $1.32 \pm 0.04$ ; *Fmr1*-null:  $1.93 \pm 0.16$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (D) Migration directionality radar represented in four spatial dials. Percentage of cells migrating in each spatial direction in control and *Fmr1*-null neurons, relatively to the vector going straight from the SVZ to the OB. (Fisher's Exact test,  $p$ -value < 0.001). (E) NK mean distance of control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl:  $12.5 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ; *Fmr1*-null:  $10.9 \pm 0.8 \mu\text{m}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (F) NK frequency of control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl:  $2.9 \pm 0.1 \text{NK}/\text{h}$ ; *Fmr1*-null:  $1.5 \pm 0.1 \text{NK}/\text{h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). The black line represents the median. Ctrl: N = 3, n = 275; *Fmr1*-null: N = 3, n = 184. \*\*\* $p$ -value < 0.001.

### The absence of FMRP impairs centrosomal dynamics

Given the central role of the centrosome in neuronal migration (Higginbotham and Gleeson, 2007), we analyzed its dynamics. We thus performed a co-electroporation of GFP and Centrine-RFP in *Fmr1*-null and control neonate mice to label migrating neurons and their centrosomes (Fig. 3.A). A simultaneous tracking of the cell body and the centrosome enabled the quantification of centrosomal dynamics. The CK is slowed-down and less frequent in *Fmr1*-null neurons, as compared to control neurons (Fig. 3.B,C). To analyze the coordination of the centrosomal and the subsequent nuclear movement, we established a parameter quantifying CK efficiency. A CK leading to a subsequent NK was defined as an efficient CK as opposed to a CK not leading to an NK. CK efficiency is reduced in *Fmr1*-null neurons as compared to control neurons (Fig. 3.D), showing that the “two-stroke” cycle is compromised. Taken together, these results show that FMRP plays a key role in RMS migration.

### FIGURE 3

**Figure 3. CK defects in *Fmr1*-null neurons.** (A) Illustration of an RMS-migrating neuron (cyan) co-injected with centrin-RFP (magenta). Scale bar: 5  $\mu\text{m}$ . (B) CK speed of control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl:  $82 \pm 3 \mu\text{m/h}$ ; *Fmr1*-null:  $54 \pm 2 \mu\text{m/h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (C) CK frequency of control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl:  $3.5 \pm 0.1 \text{ CK/h}$ ; *Fmr1*-null:  $2.6 \pm 0.1 \text{ CK/h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (D) Percentage of efficient CKs in control and *Fmr1*-null neurons. Ctrl: 54 %; *Fmr1*-null: 33 % ( $\text{Chi}^2 = 57.611$ ,  $p$ -value < 0.001). The black line represents the median. Ctrl: N = 3, n = 178; *Fmr1*-null: N = 3, n = 216. \*\*\*  $p$ -value < 0.001.

### ***Fmr1* knock-down (KD) recapitulates migration defects of *Fmr1*-null neurons**

To assess whether these migration defects are cell autonomous, we designed an interfering RNA coupled to GFP to cell-autonomously knock-down *Fmr1* mRNA in RMS neurons, similar to (Scotto-Lomassese et al., 2011). The miRFmr1-GFP was co-injected with centrin-RFP in C57Bl6 neonate mice and time lapse imaging was performed in acute sections of the RMS ([movie S. 3](#)). MiRFmr1-GFP neurons migrate slowly, spend more time in pause, have a more sinuous and deviated trajectory as compared to neurons expressing the miRNeg control plasmid (Fig. 4.A-D). MiRFmr1-GFP neurons also exhibit NK defects (Fig. 4.E,F) and CK defects (Fig. 5.A-C). Moreover, overall statistical comparisons of GFP positive *Fmr1*-null neurons and miRFmr1-GFP positive neurons show no significant differences for all migratory parameters. *Fmr1* KD is thus sufficient to recapitulate the entire migratory phenotype described in *Fmr1*-null neurons, showing that FMRP cell-autonomously regulates neuronal migration.

### **FIGURE 4**

**Figure 4. *Fmr1* KD recapitulates *Fmr1*-null neuronal migration defects.** (A) Migration speed of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG:  $75 \pm 3 \mu\text{m/h}$ ; MiRFmr1:  $55 \pm 2 \mu\text{m/h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (B) Percentage of pausing time of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG: 80 %; MiRFmr1: 88 % (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (C) Sinuosity index of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG:  $1.50 \pm 0.12$ ; MiRFmr1:  $1.62 \pm 0.08$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value = 0.003). (D) Migration directionality radar

represented in four spatial dials. Percentage of cells migrating in each spatial direction in neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1, relatively to the vector going straight from the SVZ to the OB. (Fisher's Exact test,  $p$ -value = 0.019). (E) NK mean distance of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG:  $12.8 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ; MiRFmr1:  $9.9 \pm 0.4 \mu\text{m}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (F) NK frequency of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG:  $2.9 \pm 0.2 \text{ NK/h}$ ; MiRFmr1:  $2.0 \pm 0.2 \text{ NK/h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). The black line represents the median. MiRNEG: N = 3, n = 86; MiRFmr1: N = 3, n = 79. \*  $p$ -value < 0.05; \*\*  $p$ -value < 0.005; \*\*\*  $p$ -value < 0.001.

## FIGURE 5

**Figure 5. Fmr1 KD recapitulates Fmr1-null neurons CK defects.** (A) CK speed of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG:  $87 \pm 4 \mu\text{m/h}$ ; MiRFmr1:  $66 \pm 3 \mu\text{m/h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). (B) CK frequency of neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG:  $3.4 \pm 0.1 \text{ CK/h}$ ; MiRFmr1:  $3.0 \pm 0.2 \text{ CK/h}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value = 0.011). (C) Percentage of efficient CKs in neurons expressing MiRNEG and MiRFmr1. MiRNEG: 57 %; MiRFmr1: 41 % ( $\text{Chi}^2 = 17.999$ ,  $p$ -value = 0.0012). The black line represents the median. MiRNEG: N = 3, n = 96; MiRFmr1: N = 3, n = 81. \*  $p$ -value < 0.05; \*\*  $p$ -value < 0.005; \*\*\*  $p$ -value < 0.001.

### Morphological defects of Fmr1-null neurons

Because the cytoskeleton is essential to neuronal migration (Marín et al., 2010; Reiner and Sapir, 2009; Sakakibara et al., 2013; Tsai and Gleeson, 2005), we analyzed the morphology of RMS neurons in *Fmr1-null* mice. The number of processes in GFP-labeled RMS neurons was counted, showing that the proportion of cells with multiple processes is increased in *Fmr1-null* neurons compared to control neurons (Fig. 6.A,B). Moreover, the length of the leading process is decreased in *Fmr1-null* neurons compared to the control neurons (Fig. 6.C). Altogether, these results show that *Fmr1-null* neurons exhibit morphological alterations, which could be attributed to cytoskeletal defects.

## FIGURE 6

**Figure 6. *Fmr1*-null neurons exhibit morphological impairments.** (A) Illustration of RMS-migrating neurons with a unique or multiple process(es). (B) Quantification of the number of processes per cell, depicted as the percentage of cells with a unique or multiple process(es) in control and *Fmr1*-null neurons. Percentage of neurons with a unique process. Ctrl: 89%; *Fmr1*-null: 68 %. Percentage of neurons with multiple processes. Ctrl: 11%; *Fmr1*-null: 32 % (Fisher's Exact test,  $p$ -value < 0.001). Ctrl: N = 3, n = 232; *Fmr1*-null: N = 3, n = 236. (C) Quantification of the leading process' length. Ctrl:  $32.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$ ; *Fmr1*-null:  $27.8 \pm 1.0 \mu\text{m}$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value < 0.001). The black line represents the median. Ctrl: N = 3, n = 168; *Fmr1*-null: N = 3, n = 152. \*\*\*  $p$ -value < 0.001.

### The subcellular distribution of tyrosinated MTs is impaired in *Fmr1*-null neurons

Since we report morphological defects of *Fmr1*-null neurons, we investigated the subcellular distribution of two functional microtubule pools within migrating neurons. Tyrosination and acetylation are post-translational modifications of alpha-tubulin associated with respectively dynamic and stable MTs sub-networks (Moutin et al., 2021). Fixed *Fmr1*-null and control SVZs explants were stained with anti-tyrosinated and anti-acetylated tubulin (Fig. 7.A). Pearson's coefficient, which measures the overlap of the two tubulin subpopulations, is increased in *Fmr1*-null neurons compared to control (Fig. 7.B). Moreover, Manders' coefficient measuring the ratio of double-labeled tyrosinated and acetylated tubulin over total tyrosinated tubulin is also significantly increased in *Fmr1*-null neurons compared to control (Fig. 7.C). These data suggest that tyrosinated and acetylated tubulins are significantly more colocalized in *Fmr1*-null neurons than in controls. This differential distribution might be associated with an alteration of MTs dynamics.

## FIGURE 7

**Figure 7. *Fmr1*-null neurons exhibit differential subcellular distribution of tyrosinated MTs.**

(A) Immunohistochemistry of *Fmr1*-null and control neurons showing subcellular distribution of tyrosinated tubulin (magenta) and acetylated tubulin (cyan). Scale bar: 10  $\mu$ m. (B) Quantification of Pearson's coefficient, indicator of colocalization between tyrosinated and acetylated tubulin. Ctrl:  $0.960 \pm 0.002$ ; *Fmr1*-null:  $0.977 \pm 0.001$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value  $< 0.001$ ). (C) Quantification of Manders' coefficient, ratio of double-labeled tyrosinated and acetylated tubulin over total tyrosinated tubulin signal. Ctrl:  $0.75 \pm 0.01$ ; *Fmr1*-null:  $0.79 \pm 0.01$  (Mann-Whitney test,  $p$ -value =  $0.045$ ). The black line represents the median. Ctrl: N = 3, n = 107; *Fmr1*-null: N = 3, n = 122. \* $p$ -value  $< 0.05$ ; \*\*\*  $p$ -value  $< 0.001$ .

**MAP1B expression is increased in *Fmr1*-null RMS neurons**

Microtubule-associated protein 1 (MAP1B) is a microtubule-associated protein expressed at early stages of brain development. MAP1B has essential roles in neuritogenesis and synaptogenesis, allowed by its ability to modulate microtubule and actin dynamics (Gonzalez-Billault et al. 2004), in particular microtubule tyrosination (Utreras et al., 2008). MAP1B mRNA is among the well-known targets of FMRP (Brown et al. 2001; Darnell et al. 2001; Zalfa et al. 2003; Zhang et al. 2001). As FMRP is a repressor of MAP1B mRNA translation, the overall level of MAP1B appears increased in an *Fmr1*-null context (Zhang et al. 2001; Lu et al. 2004).

Since *Fmr1*-null neurons exhibit migration defects associated with morphological impairments and microtubule tyrosination defects, MAP1B appeared as an interesting FMRP mRNA target to investigate. As described for other regions and systems (Zhang et al. 2001; Lu et al. 2004), immunostaining for MAP1B in *Fmr1*-null RMS indeed showed its overexpression (Fig. S.1.A). Quantification of MAP1B expression by western blot of the RMS confirmed that MAP1B expression is increased in *Fmr1*-null RMS as compared to controls (Fig. S.1.B).

**FIGURE S1**

**Supplementary figure 1. MAP1B is overexpressed in *Fmr1-null* neurons.** (A) Immunohistochemistry of the RMS in control and *Fmr1-null* sagittal sections showing MAP1B expression (magenta) among the stream. The RMS is delineated with dotted lines. Scale bar: 100  $\mu$ m. (B) Immunoblot analysis revealing the expression of MAP1B in control and *Fmr1-null* micro-dissected RMS in *Left*. Quantification of MAP1B signal was performed with NIH IMAGE software and normalized to Vinculin house-keeping gene signal. MAP1B level in *Fmr1-null* RMS was statistically compared and normalized to MAP1B level in control RMS in *Right*. (*Student's test*,  $p$ -value = 0.004). Ctrl: N = 3, n = 11; *Fmr1-null*: N = 3, n = 11. \*\* $p$ -value < 0.005.

### **MAP1B knock-down rescues the migratory phenotype of *Fmr1-null* neurons**

To assess whether the upregulation of MAP1B is responsible for the migratory phenotype observed in *Fmr1-null* neurons, we designed an interfering RNA, which expression was coupled to that of GFP, to cell-autonomously knock-down *Map1b* mRNA in RMS neurons. The miR*Map1b*-GFP, whose efficiency was assessed (Fig. S.2), was injected in *Fmr1-null* neonate mice and time lapse imaging was performed in acute sections of the RMS ([movie S. 4](#)). *Fmr1-null* neurons expressing miR*Map1b*-GFP exhibit a completely restored migration speed, pausing time, NK distance and frequency, which become comparable to miRNeg-GFP control neurons (Fig.8.A,B,D,E). Nonetheless, *Fmr1-null* neurons expressing miR*Map1b*-GFP still present an increased sinuosity, similar to *Fmr1-null* neurons expressing the control miRNeg-GFP plasmid (Fig.8.C). These results show that MAP1B mRNA is the main FMRP mRNA target involved in the regulation of the saltatory migration *per se* but that other FMRP targets might regulate the directionality of migrating neurons.

### **FIGURE S2**

**Supplementary figure 2. Quantification of miR*Map1b* efficiency.** Quantification of MAP1B positive cells among miR*Map1b* positive cells. Percentage of cells immunopositive to MAP1B among GFP immunopositive cells (cells expressing miRNeg control plasmid or miR*Map1b*). MiRNeg or MiR*Map1b* electroporated SVZs were dissected and placed in 3D-matrigel cultures then fixed immunostained with antibodies against GFP and MAP1B. (*Chi<sup>2</sup> test*,  $p$ -value <

0.001). miRNeg condition: N = 4, n = 103; miRMap1b condition: N = 3, n = 113. \*\*\**p*-value < 0.001.

## FIGURE 8

**Figure 8. Map1b KD rescues Fmr1-null neurons migration defects.** (A) Migration speed of *Fmr1-null* neurons expressing MiRNEG and MiRMap1b and control neurons expressing MiRNEG. *Fmr1-null* neurons + MiRNEG:  $47 \pm 2 \mu\text{m/h}$ ; *Fmr1-null* neurons + MiRMap1b:  $67 \pm 2 \mu\text{m/h}$ ; control neurons + MiRNEG:  $66 \pm 4 \mu\text{m/h}$  (Kruskall-Wallis Test:  $\text{Chi}^2 = 56.7$ , *p*-value < 0.001, *df* = 2; followed by Dunn's posthoc test). (B) Percentage of pausing time of *Fmr1-null* neurons expressing MiRNEG and MiRMap1b and control neurons expressing MiRNEG. *Fmr1-null* neurons + MiRNEG: 92 %; *Fmr1-null* neurons + MiRMap1b: 84 %; control neurons + MiRNEG: 84 % (Kruskall-Wallis Test:  $\text{Chi}^2 = 41.3$ , *p*-value < 0.001, *df* = 2; followed by Dunn's posthoc test). (C) Sinuosity index of *Fmr1-null* neurons expressing MiRNEG and MiRMap1b and control neurons expressing MiRNEG. *Fmr1-null* neurons + MiRNEG:  $1.77 \pm 0.18$ ; *Fmr1-null* neurons + MiRMap1b:  $1.90 \pm 0.20$ ; control neurons + MiRNEG:  $1.25 \pm 0.05$  (Kruskall-Wallis Test:  $\text{Chi}^2 = 9.58$ , *p*-value = 0.008, *df*=2; followed by Dunn's posthoc test). (D) NK mean distance of *Fmr1-null* neurons expressing MiRNEG and MiRMap1b and control neurons expressing MiRNEG. *Fmr1-null* neurons + MiRNEG:  $9.7 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ; *Fmr1-null* neurons + MiRMap1b:  $11.1 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ; control neurons + MiRNEG:  $10.8 \pm 0.5 \mu\text{m}$  (Kruskall-Wallis Test:  $\text{Chi}^2 = 10.49$ , *p*-value = 0.005, *df*=2; followed by Dunn's posthoc test). (E) NK frequency of *Fmr1-null* neurons expressing MiRNEG and MiRMap1b and control neurons expressing MiRNEG. *Fmr1-null* neurons + MiRNEG:  $1.5 \pm 0.1 \text{NK/h}$ ; *Fmr1-null* neurons + MiRMap1b:  $2.4 \pm 0.1 \text{NK/h}$ ; control neurons + MiRNEG:  $2.5 \pm 0.3 \text{NK/h}$  (Kruskall-Wallis Test:  $\text{Chi}^2 = 34.92$ , *p*-value < 0.001, *df* = 2; followed by Dunn's posthoc test). The black line represents the median. *Fmr1-null* neurons + MiRNEG: N = 6, n = 102; *Fmr1-null* neurons + MiRMap1b: N = 3, n = 101; control neurons + MiRNEG: N = 1, n = 33. \* *p*-value < 0.05; \*\* *p*-value < 0.005; \*\*\* *p*-value < 0.001; n.s. (not significant), *p*-value > 0.05.

## DISCUSSION

FMRP is commonly described as a critical regulator of neuronal plasticity and neural development (Richter and Zhao, 2021). However, its role in neuronal migration remains poorly understood. We provide here clear evidence for its cell-autonomous role in postnatal tangential migration and the causal role of its mRNA target MAP1B.

A role for FMRP in radial embryonic migration was evidenced by (La Fata et al., 2014; Wu et al., 2019). (La Fata et al., 2014) mainly analyzed defects in the multipolar to bipolar transition, which can be interpreted as a polarity defect rather than a migration defect *per se*. (Wu et al., 2019) reported neuronal misplacements after FMRP loss or gain of function in relation with Micro-RNA 129 but did not analyze the dynamic of radial migration itself. To our knowledge, tangential migration in the absence of FMRP has never been analyzed so far, and neither has been the effect of its absence on the dynamic of saltatory migration, as analyzed by live-imaging.

We report strong defects in postnatal migration with a slowed-down and erratic migration. Of importance, even though the mutated neurons are delayed in their movement and lose time finding the proper direction, they ultimately properly arrive in the OB, which we previously showed in (Scotto-Lomassese et al., 2011). Live imaging allowed us to perform detailed analysis of both nucleokinesis and centrosome dynamics, which proved both to be deeply perturbed. As microtubules are essential regulators of both processes (Kuijpers and Hoogenraad, 2011; Tsai and Gleason, 2005) and as mutated neurons display altered morphology as well as altered pattern of microtubule tyrosination, this led us to suspect MAP1B to be the key FMRP mRNA target involved in the migratory phenotypes. MAP1B is one of the historic targets of FMRP (Brown et al., 2001; Darnell et al., 2001; Zalfa et al., 2003; Zhang et al., 2001). It is expressed early in the embryonic brain (Tucker et al., 1989, 1988) and is essential to different steps of neural development (Gonzalez-Billault et al., 2004) including migration (Takei et al., 2000). Interestingly, in the context of the tyrosination defects observed in mutated neurons, MAP1B is preferentially associated with tyrosinated microtubules (Tortosa et al., 2013; Tymanskyj et al., 2012; Utreras et al., 2008). Its deletion leads to a

reduction of microtubule tyrosination (Gonzalez-Billault et al., 2001) and its interaction with TTL (Tubulin Tyrosine Ligase) facilitates microtubule tyrosination (Utreras et al., 2008).

We show MAP1B overexpression in *Fmr1*-mutated neurons and rescue the migratory defects through its RNA-interference-induced KD. This identifies MAP1B as the critical FMRP mRNA target involved in the regulation of the cyclic saltatory migration, probably through its link with microtubule tyrosination.

Of importance, the sinuosity of migrating neurons was not rescued by MAP1B KD, suggesting that other FMRP mRNA targets might be involved in that process. FMRP has been associated with numerous targets of the actin-myosin pathway (Michaelsen-Preusse et al., 2016; Michaelsen-Preusse et al., 2018). As a consequence, one could imagine that some of them and particularly those involved in the movement of the growth cone might be involved in this process, e.g. myosin light chain kinase, Rac1, cofilin, profilin or Arp2/3 (Michaelsen-Preusse et al., 2018). Another example could be APC (Adenomatous Polyposis Coli) a recently described FMRP mRNA target (Maurin et al., 2018), involved in the regulation of both microtubules and the actin cytoskeleton in the growth cone (Koester et al., 2007).

In the context of FXS, looking at tangential migration in the probably soon to be developed FXS assembloïds (Levy and Paşca, 2022) will be of course of major interest. It is to be noted that postnatal tangential migration in the infant human brain was recently described to be even more extensive than in mice (Paredes et al., 2016; Sanai et al., 2011) so that, if conserved in humans, the defects that we observe might be critical for the postnatal corticogenesis of FXS patients.

As a conclusion, we report here an entirely new function of FMRP as a regulator of tangential migration linked to microtubules *via* MAP1B. This is important for the fundamental understanding of this multifaceted protein and might also be important for the pathophysiological understanding of FXS.

# Figure 1

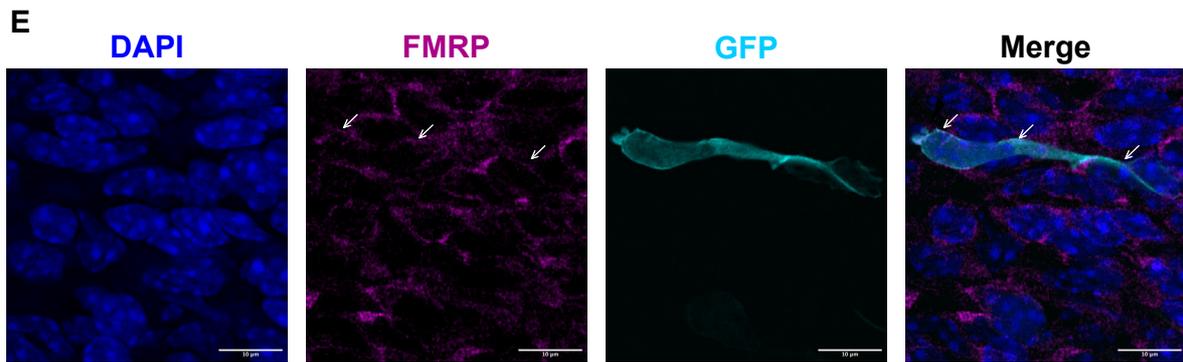
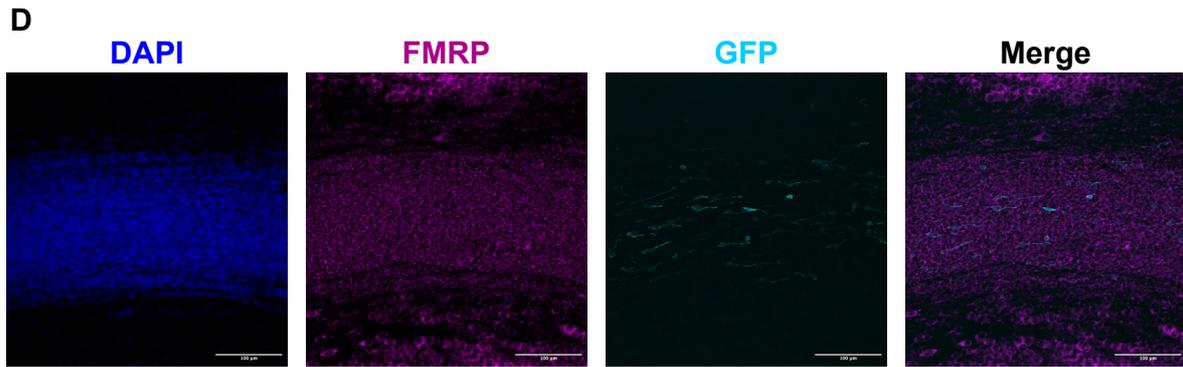
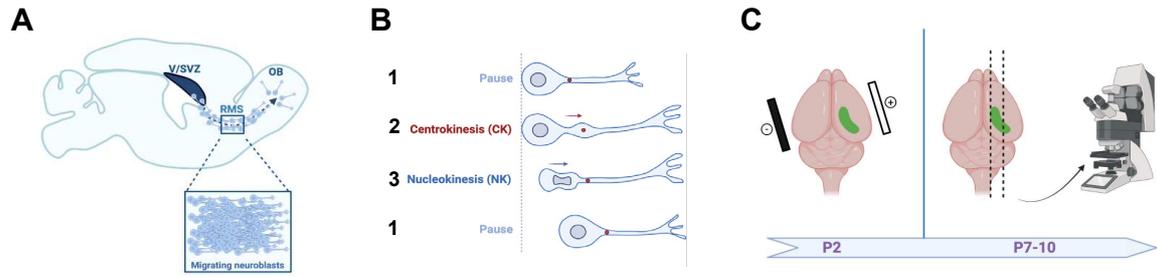


Figure 2

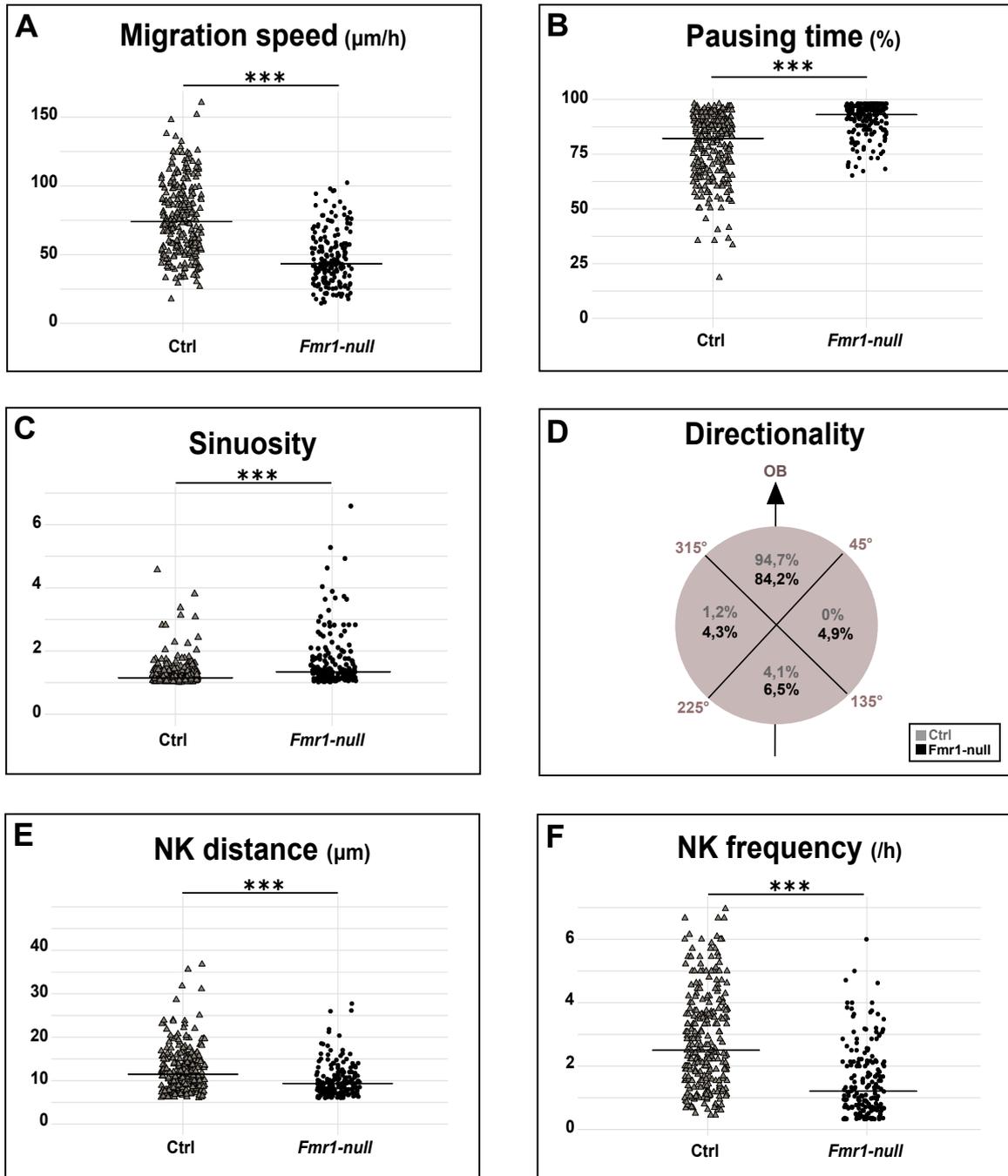


Figure 3

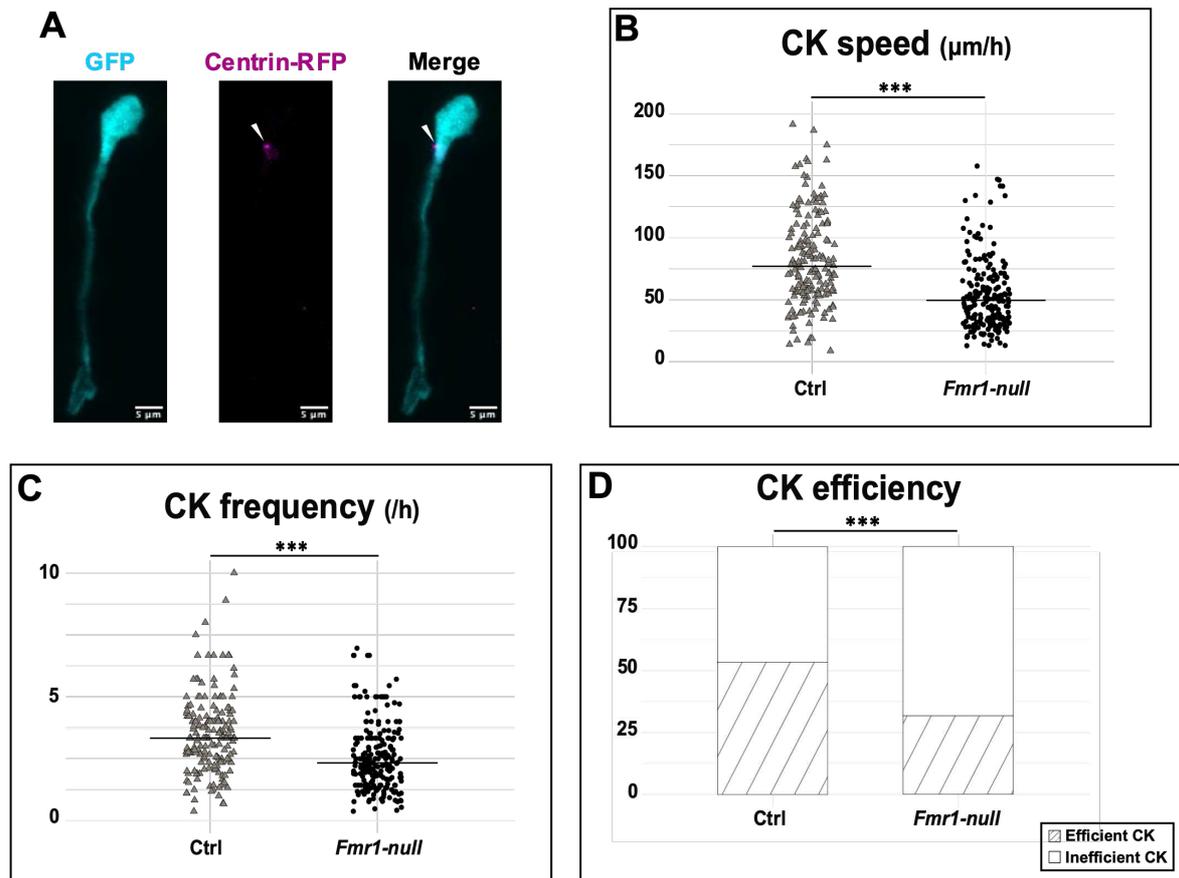


Figure 4

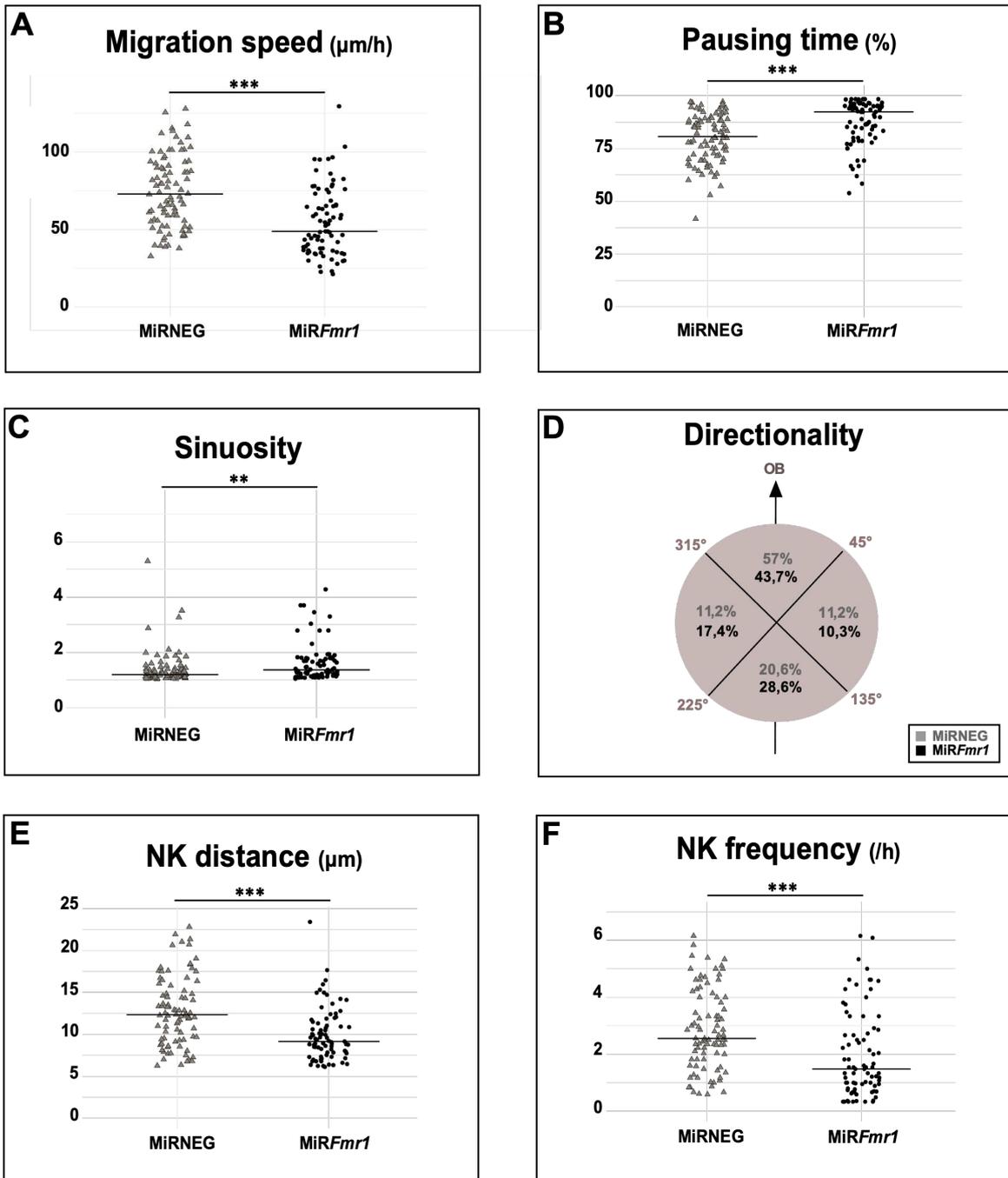


Figure 5

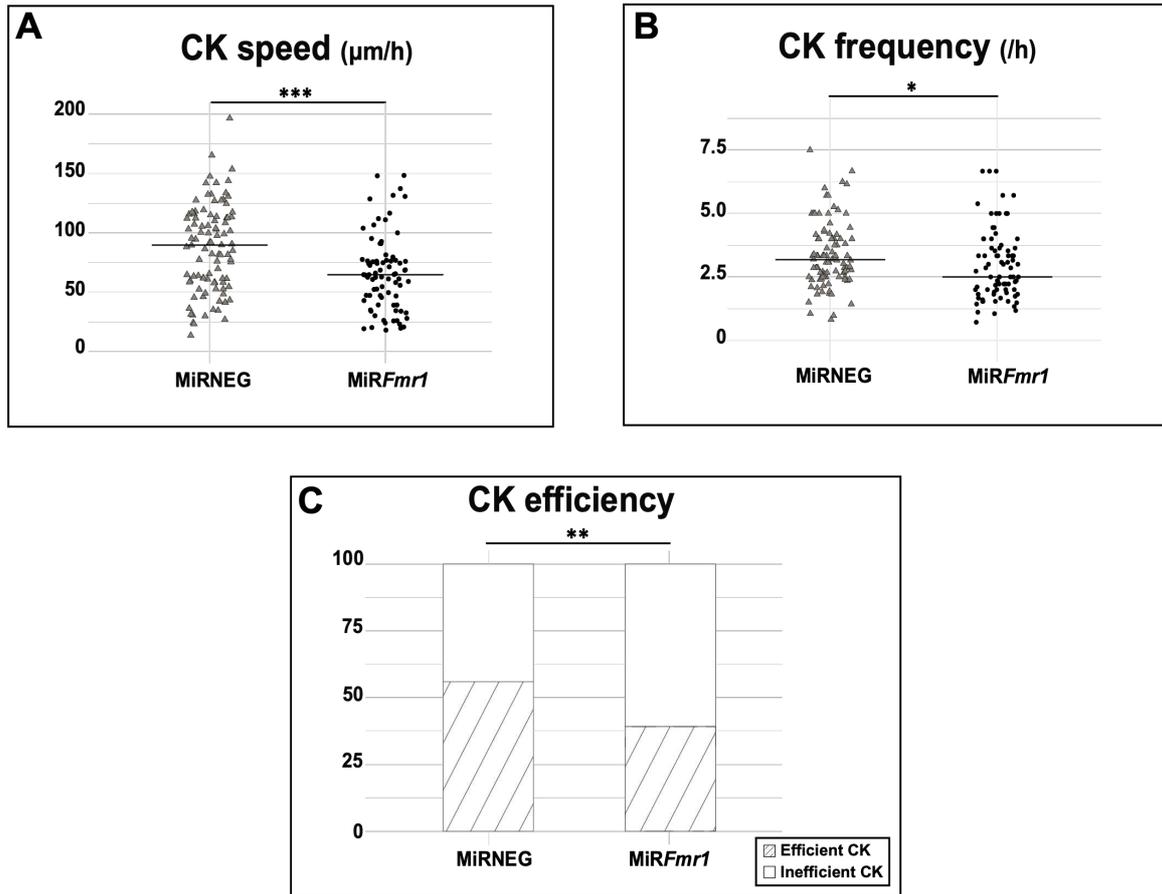
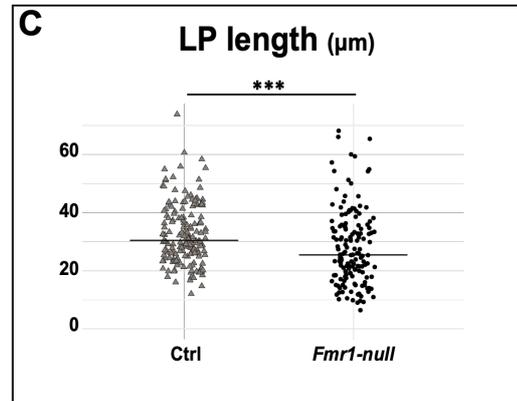
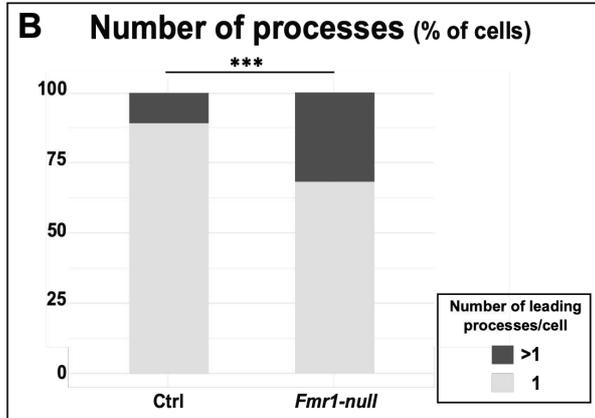
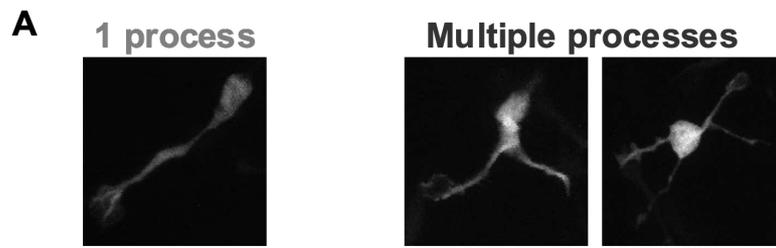


Figure 6



**Figure 7**

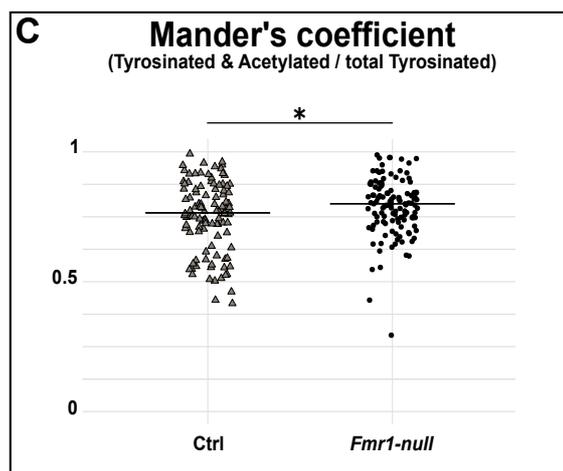
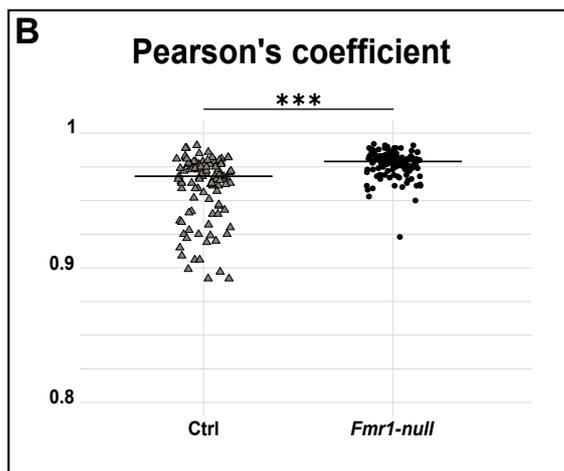
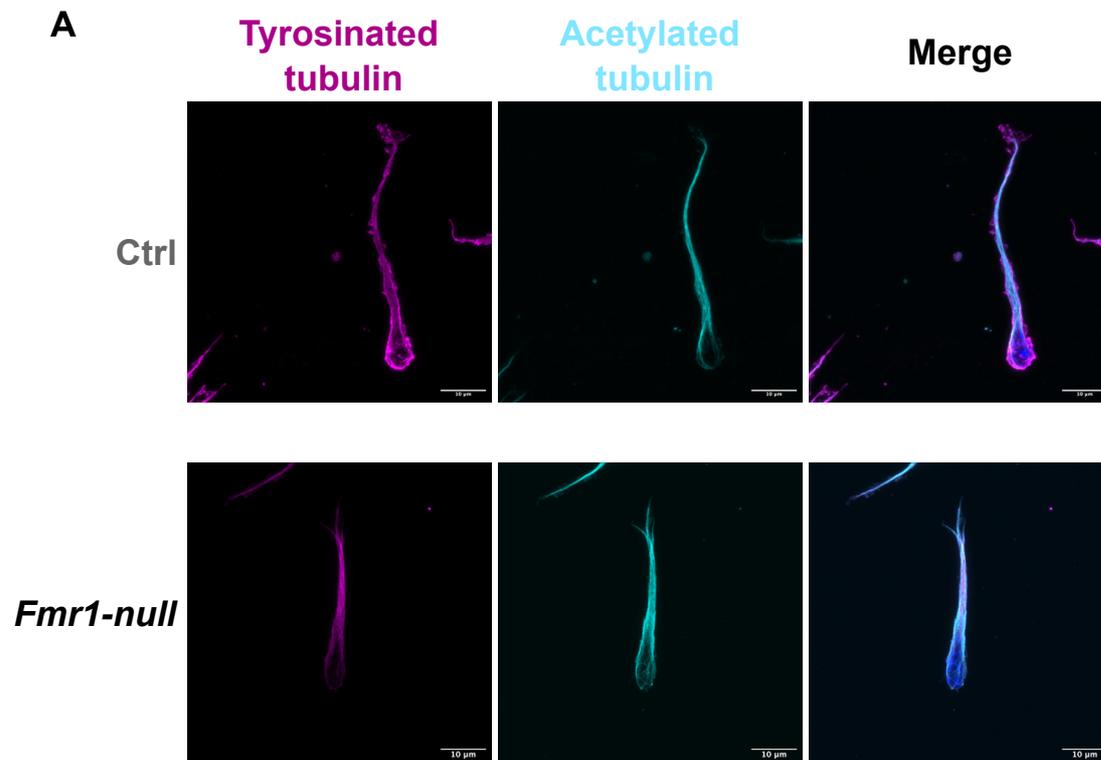
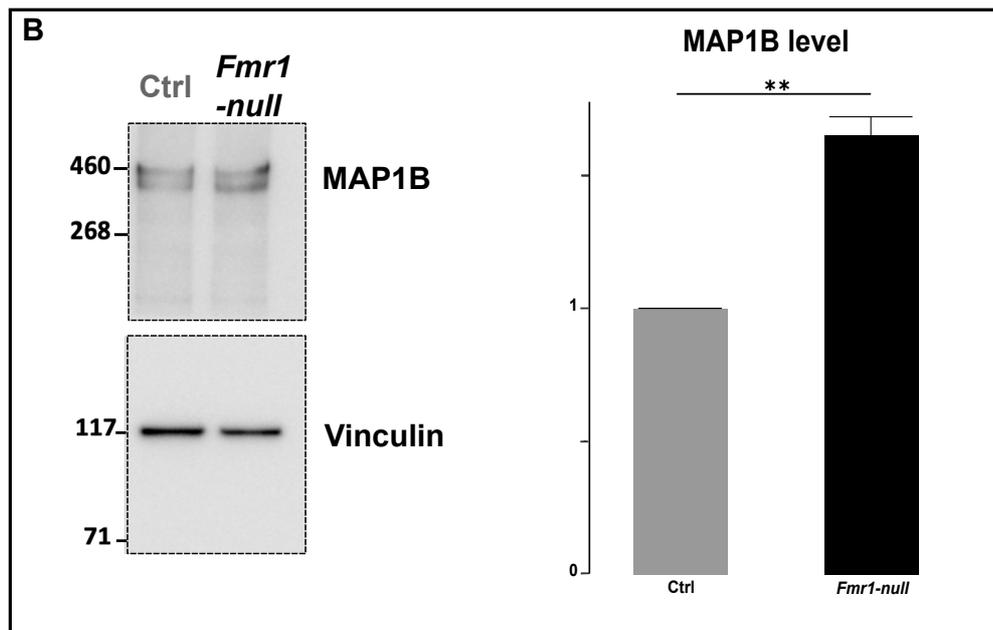
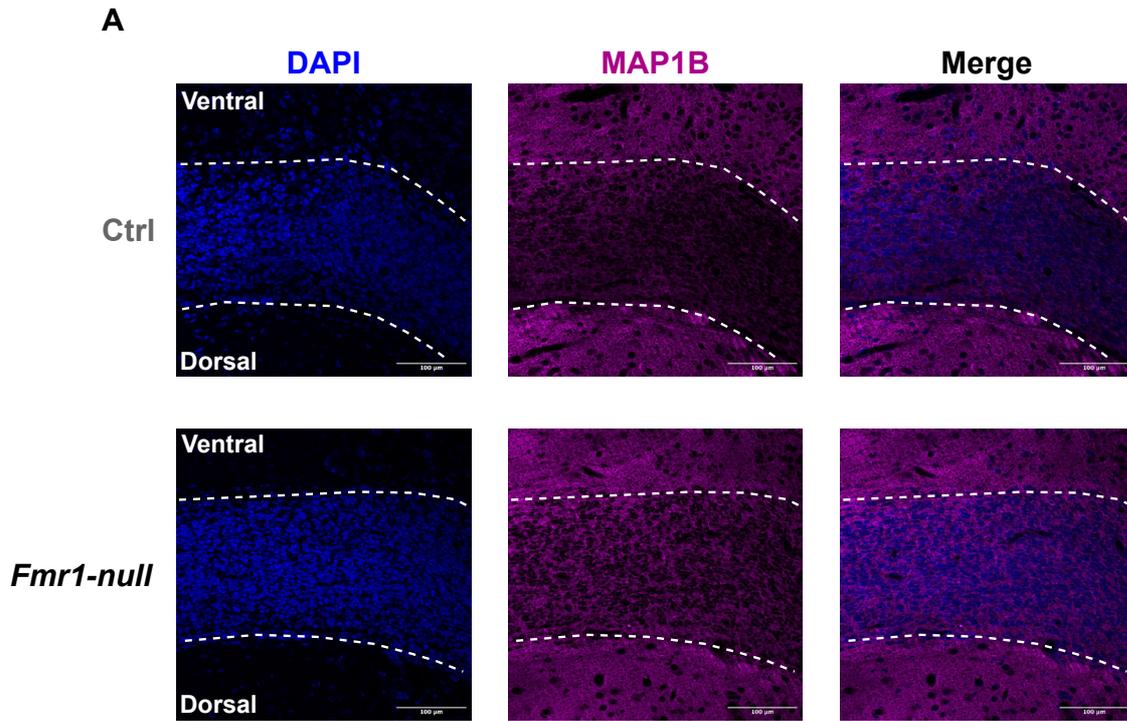


Figure S1



**Figure S2**

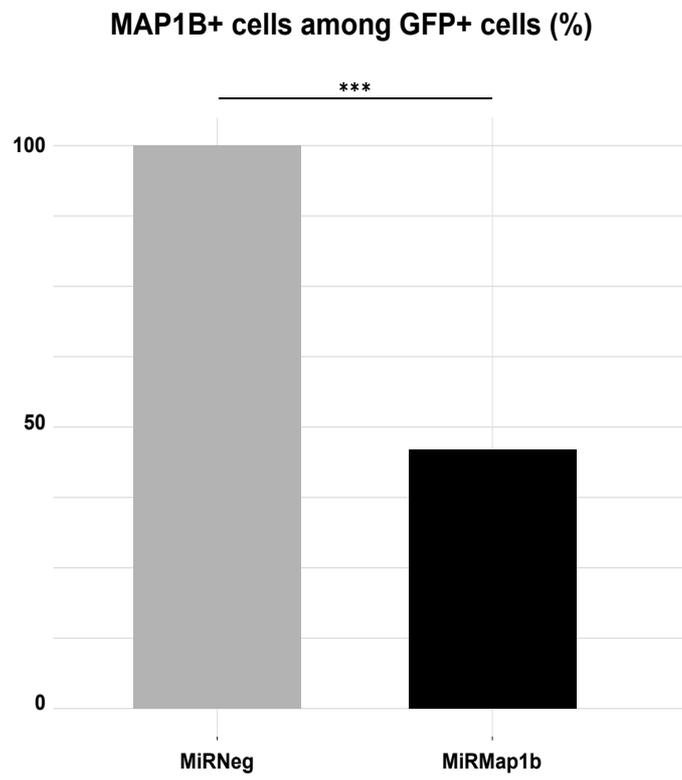
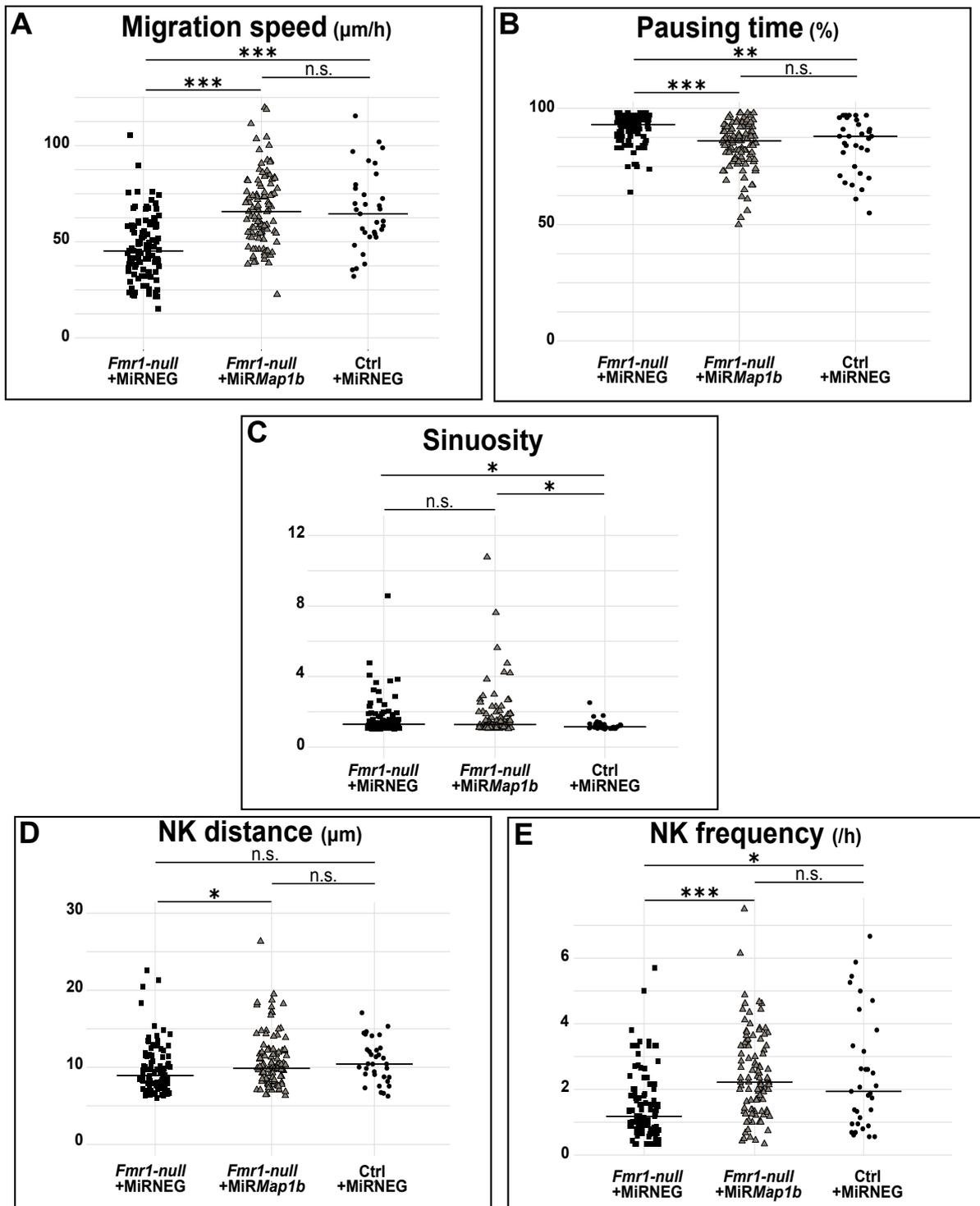


Figure 8



## REFERENCES

- Ascano, M., Mukherjee, N., Bandaru, P., Miller, J.B., Nusbaum, J.D., Corcoran, D.L., Langlois, C., Munschauer, M., Dewell, S., Hafner, M., Williams, Z., Ohler, U., Tuschl, T., 2012. FMRP targets distinct mRNA sequence elements to regulate protein expression. *Nature* 492, 382–386. <https://doi.org/10.1038/nature11737>
- Banerjee, A., Ifrim, M.F., Valdez, A.N., Raj, N., Bassell, G.J., 2018. Aberrant RNA translation in fragile X syndrome: From FMRP mechanisms to emerging therapeutic strategies. *Brain Res.* 1693, 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.04.008>
- Bellion, A., Baudoin, J.-P., Alvarez, C., Bornens, M., Métin, C., 2005. Nucleokinesis in Tangentially Migrating Neurons Comprises Two Alternating Phases: Forward Migration of the Golgi/Centrosome Associated with Centrosome Splitting and Myosin Contraction at the Rear. *J. Neurosci.* 25, 5691–5699. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1030-05.2005>
- Bolte, S., Cordelières, F.P., 2006. A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy. *J. Microsc.* 224, 213–232. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2006.01706.x>
- Brown, V., Jin, P., Ceman, S., Darnell, J.C., O'Donnell, W.T., Tenenbaum, S.A., Jin, X., Feng, Y., Wilkinson, K.D., Keene, J.D., Darnell, R.B., Warren, S.T., 2001. Microarray identification of FMRP-associated brain mRNAs and altered mRNA translational profiles in fragile X syndrome. *Cell* 107, 477–487. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00568-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00568-2)
- Bülow, P., Segal, M., Bassell, G.J., 2022. Mechanisms Driving the Emergence of Neuronal Hyperexcitability in Fragile X Syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 6315. <https://doi.org/10.3390/ijms23116315>
- Consortium, The Dutch-Belgian Fragile X., Cathy E. Bakker, Coleta Verheij, Rob Willemsen, Robert van der Helm, Frank Oerlemans, Marcel Vermey, et al. 1994. « Fmr1 Knockout Mice: A Model to Study Fragile X Mental Retardation ». *Cell* 78 (1): 23-33. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90569-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90569-X).
- Darnell, J. C., K. B. Jensen, P. Jin, V. Brown, S. T. Warren, et R. B. Darnell. 2001. « Fragile X Mental Retardation Protein Targets G Quartet MRNAs Important for Neuronal Function ». *Cell* 107 (4): 489-99. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00566-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00566-9).

Daroles, L., Gribaudo, S., Doulazmi, M., Scotto-Lomassese, S., Dubacq, C., Mandairon, N., Greer, C.A., Didier, A., Trembleau, A., Caillé, I., 2016. Fragile X Mental Retardation Protein and Dendritic Local Translation of the Alpha Subunit of the Calcium/Calmodulin-Dependent Kinase II Messenger RNA Are Required for the Structural Plasticity Underlying Olfactory Learning. *Biol. Psychiatry* 80, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.023>

Gholizadeh, S., Halder, S.K., Hampson, D.R., 2015. Expression of fragile X mental retardation protein in neurons and glia of the developing and adult mouse brain. *Brain Res.* 1596, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.023>

Gonzalez-Billault, C., Avila, J., Cáceres, A., 2001. Evidence for the role of MAP1B in axon formation. *Mol. Biol. Cell* 12, 2087–2098. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.7.2087>

Gonzalez-Billault, C., Jimenez-Mateos, E.M., Caceres, A., Diaz-Nido, J., Wandosell, F., Avila, J., 2004. Microtubule-associated protein 1B function during normal development, regeneration, and pathological conditions in the nervous system. *J. Neurobiol.* 58, 48–59. <https://doi.org/10.1002/neu.10283>

Higginbotham, H.R., Gleeson, J.G., 2007. The centrosome in neuronal development. *Trends Neurosci.* 30, 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.04.001>

Koester, M.P., Müller, O., Pollerberg, G.E., 2007. Adenomatous polyposis coli is differentially distributed in growth cones and modulates their steering. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 12590–12600. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2250-07.2007>

Kuijpers, M., Hoogenraad, C.C., 2011. Centrosomes, microtubules and neuronal development. *Mol. Cell. Neurosci.* 48, 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2011.05.004>

La Fata, G., Gärtner, A., Domínguez-Iturza, N., Dresselaers, T., Dawitz, J., Poorthuis, R.B., Avena, M., Himmelreich, U., Meredith, R.M., Achsel, T., Dotti, C.G., Bagni, C., 2014. FMRP regulates multipolar to bipolar transition affecting neuronal migration and cortical circuitry. *Nat. Neurosci.* 17, 1693–1700. <https://doi.org/10.1038/nn.3870>

Lee, F.H.F., Lai, T.K.Y., Su, P., Liu, F., 2019. Altered cortical Cytoarchitecture in the Fmr1 knockout mouse. *Mol. Brain* 12, 56. <https://doi.org/10.1186/s13041-019-0478-8>

Levy, R.J., Paşca, S.P., 2022. What Have Organoids and Assembloids Taught Us About the Pathophysiology of Neuropsychiatric Disorders? *Biol. Psychiatry* 50006-3223(22)01797–8. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.11.017>

Lois, C., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1996. Chain migration of neuronal precursors. *Science* 271, 978–981. <https://doi.org/10.1126/science.271.5251.978>

Lu, Robert, Houping Wang, Zhe Liang, Li Ku, William T. O'donnell, Wen Li, Stephen T. Warren, et Yue Feng. 2004. « The Fragile X Protein Controls Microtubule-Associated Protein 1B Translation and Microtubule Stability in Brain Neuron Development ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (42): 15201-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404995101>.

Marín, O., Valiente, M., Ge, X., Tsai, L.-H., 2010. Guiding Neuronal Cell Migrations. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2, a001834. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001834>

Maurin, T., Lebrigand, K., Castagnola, S., Paquet, A., Jarjat, M., Popa, A., Grossi, M., Rage, F., Bardoni, B., 2018. HITS-CLIP in various brain areas reveals new targets and new modalities of RNA binding by fragile X mental retardation protein. *Nucleic Acids Res.* 46, 6344–6355. <https://doi.org/10.1093/nar/gky267>

Meijering, Erik, Oleh Dzyubachyk, et Ihor Smal. 2012. « Methods for Cell and Particle Tracking ». *Methods in Enzymology* 504: 183-200. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391857-4.00009-4>.

Michaelsen-Preusse, K., Zessin, S., Grigoryan, G., Scharkowski, F., Feuge, J., Remus, A., Korte, M., 2016. Neuronal profilins in health and disease: Relevance for spine plasticity and Fragile X syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 3365–3370. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516697113>

Michaelsen-Preusse, K., Feuge, J., Korte, M., 2018. Imbalance of synaptic actin dynamics as a key to fragile X syndrome? *J. Physiol.* 596, 2773–2782. <https://doi.org/10.1113/JP275571>

Miyashiro, K.Y., Beckel-Mitchener, A., Purk, T.P., Becker, K.G., Barret, T., Liu, L., Carbonetto, S., Weiler, I.J., Greenough, W.T., Eberwine, J., 2003. RNA cargoes associating with FMRP reveal deficits in cellular functioning in *Fmr1* null mice. *Neuron* 37, 417–431. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00034-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00034-5)

Moro, F., Pisano, T., Bernardina, B.D., Polli, R., Murgia, A., Zoccante, L., Darra, F., Battaglia, A., Pramparo, T., Zuffardi, O., Guerrini, R., 2006. Periventricular heterotopia in fragile X syndrome. *Neurology* 67, 713–715. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000230223.51595.99>

Moutin, M.-J., Bosc, C., Peris, L., Andrieux, A., 2021. Tubulin post-translational modifications control neuronal development and functions. *Dev. Neurobiol.* 81, 253–272. <https://doi.org/10.1002/dneu.22774>

Paredes, M.F., James, D., Gil-Perotin, S., Kim, H., Cotter, J.A., Ng, C., Sandoval, K., Rowitch, D.H., Xu, D., McQuillen, P.S., Garcia-Verdugo, J.-M., Huang, E.J., Alvarez-Buylla, A., 2016. Extensive migration of young neurons into the infant human frontal lobe. *Science* 354. <https://doi.org/10.1126/science.aaf7073>

Pieretti, M., Zhang, F.P., Fu, Y.H., Warren, S.T., Oostra, B.A., Caskey, C.T., Nelson, D.L., 1991. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome. *Cell* 66, 817–822. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90125-j](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90125-j)

Reiner, O., Sapir, T., 2009. Polarity regulation in migrating neurons in the cortex. *Mol. Neurobiol.* 40, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s12035-009-8065-0>

Richter, J.D., Zhao, X., 2021. The Molecular Biology of FMRP: New Insights into Fragile X Syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* 22, 209–222. <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00432-0>

Romero, D.M., Bahi-Buisson, N., Francis, F., 2018. Genetics and mechanisms leading to human cortical malformations. *Semin. Cell Dev. Biol.* 76, 33–75. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.09.031>

Sakakibara, A., Ando, R., Sapir, T., Tanaka, T., 2013. Microtubule dynamics in neuronal morphogenesis. *Open Biol.* 3, 130061. <https://doi.org/10.1098/rsob.130061>

Sanai, N., Nguyen, T., Ihrie, R.A., Mirzadeh, Z., Tsai, H.-H., Wong, M., Gupta, N., Berger, M.S., Huang, E., Garcia-Verdugo, J.-M., Rowitch, D.H., Alvarez-Buylla, A., 2011. Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature* 478, 382–386. <https://doi.org/10.1038/nature10487>

Scotto-Lomassese, S., Nissant, A., Mota, T., Néant-Féry, M., Oostra, B.A., Greer, C.A., Lledo, P.-M., Trembleau, A., Caillé, I., 2011. Fragile X mental retardation protein regulates new neuron

differentiation in the adult olfactory bulb. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 2205–2215.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5514-10.2011>

Stoufflet, Julie, Maxime Chaulet, Mohamed Doulazmi, Coralie Fouquet, Caroline Dubacq, Christine Métin, Sylvie Schneider-Maunoury, Alain Trembleau, Pierre Vincent, et Isabelle Caillé. 2020. « Primary Cilium-Dependent CAMP/PKA Signaling at the Centrosome Regulates Neuronal Migration ». *Science Advances* 6 (36): eaba3992.  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aba3992>.

Takei, Y., Teng, J., Harada, A., Hirokawa, N., 2000. Defects in axonal elongation and neuronal migration in mice with disrupted tau and map1b genes. *J. Cell Biol.* 150, 989–1000.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.150.5.989>

Tortosa, E., Galjart, N., Avila, J., Sayas, C.L., 2013. MAP1B regulates microtubule dynamics by sequestering EB1/3 in the cytosol of developing neuronal cells. *EMBO J.* 32, 1293–1306.  
<https://doi.org/10.1038/emboj.2013.76>

Tsai, L.-H., Gleeson, J.G., 2005. Nucleokinesis in neuronal migration. *Neuron* 46, 383–388.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.04.013>

Tucker, R.P., Binder, L.I., Matus, A.I., 1988. Neuronal microtubule-associated proteins in the embryonic avian spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 271, 44–55.  
<https://doi.org/10.1002/cne.902710106>

Tucker, R.P., Garner, C.C., Matus, A., 1989. In situ localization of microtubule-associated protein mRNA in the developing and adult rat brain. *Neuron* 2, 1245–1256.  
[https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90309-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90309-7)

Tymanskyj, S.R., Scales, T.M.E., Gordon-Weeks, P.R., 2012. MAP1B enhances microtubule assembly rates and axon extension rates in developing neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 49, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2011.10.003>

Utreras, E., Jiménez-Mateos, E.M., Contreras-Vallejos, E., Tortosa, E., Pérez, M., Rojas, S., Saragoni, L., Maccioni, R.B., Avila, J., González-Billault, C., 2008. Microtubule-associated protein 1B interaction with tubulin tyrosine ligase contributes to the control of microtubule tyrosination. *Dev. Neurosci.* 30, 200–210. <https://doi.org/10.1159/000109863>

Wu, C., Zhang, X., Chen, P., Ruan, X., Liu, W., Li, Y., Sun, C., Hou, L., Yin, B., Qiang, B., Shu, P., Peng, X., 2019. MicroRNA-129 modulates neuronal migration by targeting Fmr1 in the developing mouse cortex. *Cell Death Dis.* 10, 287. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1517-1>

Zalfa, Francesca, Marcello Giorgi, Beatrice Primerano, Annamaria Moro, Alessandra Di Penta, Surya Reis, Ben Oostra, et Claudia Bagni. 2003. « The Fragile X Syndrome Protein FMRP Associates with BC1 RNA and Regulates the Translation of Specific MRNAs at Synapses ». *Cell* 112 (3): 317-27. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00079-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00079-5).

Zhang, Y. Q., A. M. Bailey, H. J. Matthies, R. B. Renden, M. A. Smith, S. D. Speese, G. M. Rubin, et K. Broadie. 2001. « Drosophila Fragile X-Related Gene Regulates the MAP1B Homolog Futsch to Control Synaptic Structure and Function ». *Cell* 107 (5): 591-603. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00589-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00589-x).

# RESULTATS II

## III.2. L'absence de FMRP ne conduit pas à des défauts de migration tangentielle chez l'embryon

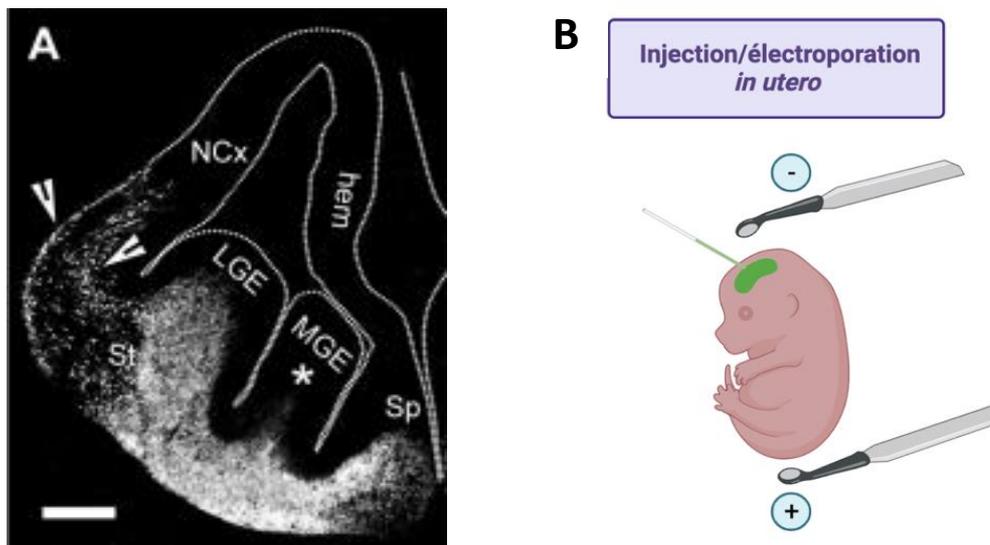
### III.2.1. Résultats

Après l'observation du fort phénotype migratoire des neurones en migration tangentielle dans le CMR postnatal (décrit en détail dans la première partie des résultats), notre intérêt s'est porté sur la migration tangentielle embryonnaire. En effet, le SXF est une pathologie neurodéveloppementale et la migration est un phénomène majeur du développement embryonnaire du cerveau.

En ce qui concerne la migration radiaire, La Fata et al. ont décrit des défauts de la transition multipolaire à bipolaire (TMB) en l'absence de FMRP (La Fata et al., 2014). La TMB est une étape clé intervenant au cours de la migration radiaire embryonnaire et précédant la progression des neurones dans la plaque corticale. De plus, Wu et al. ont décrit le rôle promigratoire de FMRP, en aval du miR-129, au cours de la migration corticale radiaire (Wu et al., 2019).

Cependant, la mécanistique migratoire *per se* n'a, jusqu'à présent, pas été étudiée chez les embryons *Fmr1-null* et à notre connaissance, la migration tangentielle n'a jamais été analysée. Cependant, la composition en interneurones gabaergiques du cortex somato-sensoriel est altérée chez les souris *Fmr1-null* (Lee et al., 2019; Selby et al., 2007), ce qui pourrait être la conséquence d'un problème migratoire.

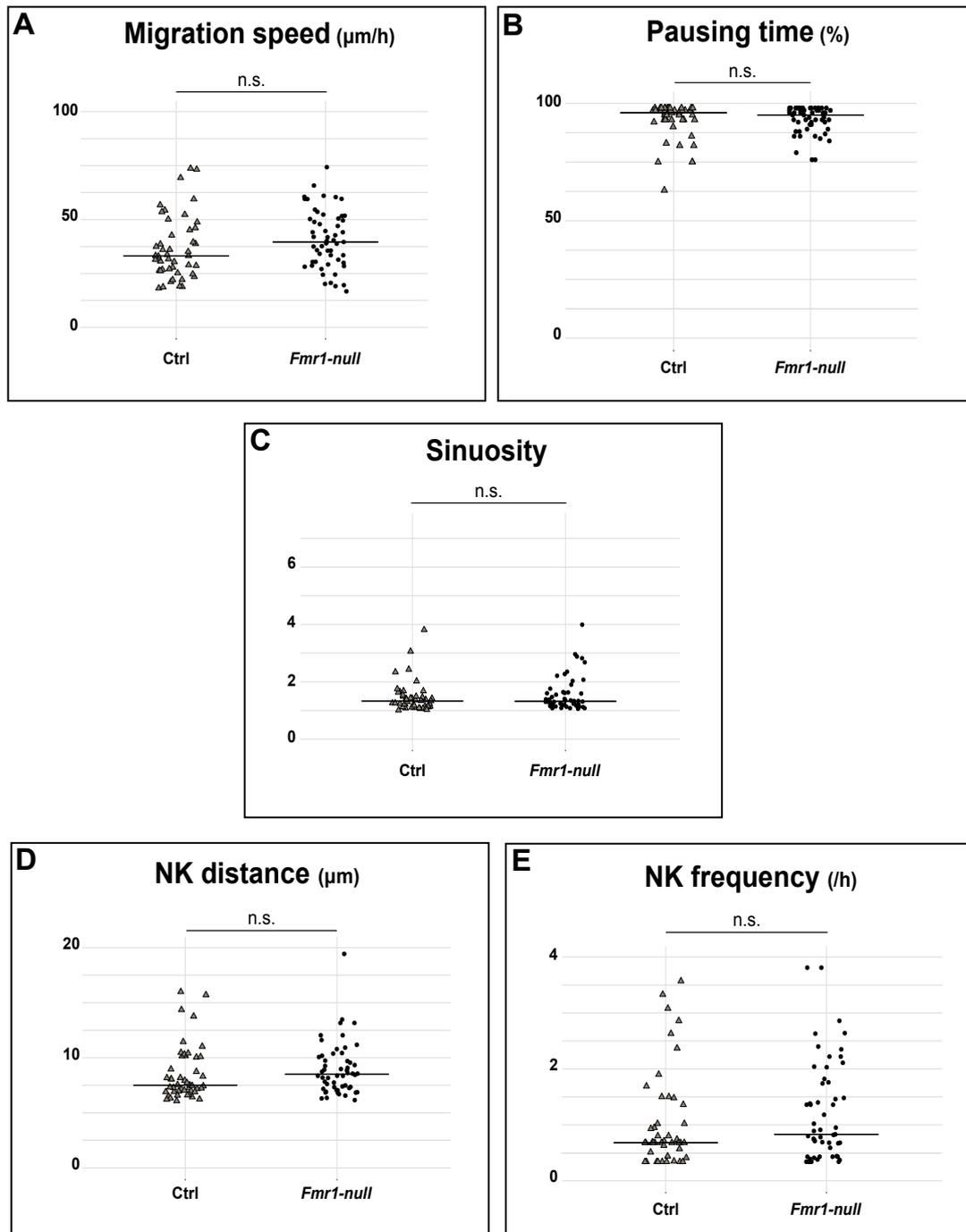
Afin d'analyser la migration tangentielle embryonnaire, nous avons injecté des plasmides codant pour des protéines fluorescentes puis procédé à une électroporation *in utero* d'embryons *Fmr1-null* et d'embryons contrôles à E13.5. Ceci a été une technique difficile à mettre au point car la région germinale qu'il faut électroporer est la MGE (Medial Ganglionic Eminence) qui est difficile à électroporer car difficile d'accès depuis le ventricule (**Figure 22A**). Aussi, avons-nous mis au point une électroporation en conformation « tête à queue » pour pouvoir cibler la MGE (**Figure 22B**).



**Figure 22 : Électroporation in utero.**  
**A. Coupe coronale du cerveau d'un embryon E13.5 montrant la position de la MGE et les flux de migration tangentielle des interneurons corticaux (têtes de flèches), adapté de (Hernández-Miranda et al., 2010).** **B. Schéma représentant notre technique d'injection / électroporation in utero.**

Trois jours après l'électroporation, nous procédons à la dissection suivie de la coupe de tranches aiguës de cerveaux contenant les interneurons en migration tangentielle depuis l'éminence ganglionnaire médiane jusqu'à la plaque corticale. Ces tranches sont analysées par imagerie en temps réel, ce qui permet d'étudier les différents paramètres de migration des neurones *Fmr1-null*. Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les neurones *Fmr1-null* et les neurones contrôles, et ce pour tous les paramètres de migration analysés : la vitesse, le pourcentage de temps de pause, la sinuosité, la distance moyenne et la fréquence de NK ([Films 1 et 2](#), **Figure 23**). Les paramètres mesurés sont tout à fait cohérents avec les données de la littérature pour ce type de migration (Eom et al., 2014; Silva et al., 2018).

Ces résultats suggèrent donc de manière surprenante que l'absence de FMRP à ce stade embryonnaire ne semble pas avoir d'impact sur la migration tangentielle, contrairement à ce que nous avons observé en postnatal.



**Figure 23: Migration tangentielle embryonnaire des neurones *Fmr1*-null.**

(A) Vitesse de migration des neurones *Fmr1*-null et des neurones contrôles (Ctrl). Ctrl:  $38 \pm 3 \mu\text{m}/\text{h}$ ; *Fmr1*-null:  $41 \pm 2 \mu\text{m}/\text{h}$  (test Mann-Whitney,  $p = 0.076$ ). (B) Pourcentage de temps de pause des neurones *Fmr1*-null et des neurones contrôles. Ctrl: 93 %; *Fmr1*-null: 93 % (test de Mann-Whitney,  $p = 0.527$ ). (C) Index de sinuosité des neurones *Fmr1*-null et des neurones contrôles. Ctrl:  $1.45 \pm 0.08$ ; *Fmr1*-null:  $1.74 \pm 0.21$  (test de Mann-Whitney,  $p = 0.359$ ). (D) Distance moyenne de NK des neurones *Fmr1*-null et des neurones contrôles. Ctrl:  $8.5 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ; *Fmr1*-null:  $9.3 \pm 0.4 \mu\text{m}$  (test de Mann-Whitney,  $p = 0.088$ ). (E) Fréquence de NK des neurones *Fmr1*-null et des neurones contrôles. Ctrl:  $1.2 \pm 0.2 \text{ NK}/\text{h}$ ; *Fmr1*-null:  $1.2 \pm 0.1 \text{ NK}/\text{h}$  (test de Mann-Whitney,  $p = 0.523$ ). La droite noire représente la médiane. Ctrl:  $N = 3$ ,  $n = 47$ ; *Fmr1*-null:  $N = 3$ ,  $n = 55$ . n.s. (non significatif),  $p > 0.05$ .

### III.2.2. Matériel et Méthodes

#### III.2.2.1. Électroporation in utero

Des souris (*Fmr1-null* ou contrôles) gestantes au 13<sup>e</sup> jour embryonnaire (E13.5) ont été anesthésiées à l'isoflurane. Pendant l'expérience, les souris ont été placées sur une plaque à 37°C. Les cornes utérines ont été exposées, et les embryons ont été injectés dans le ventricule latéral avec une micropipette en verre. Un microlitre de plasmide (0,6 M) a été injecté. Les animaux injectés avec succès ont ensuite été soumis à 5 impulsions de 40 V pendant 50 ms séparées par 950 ms à l'aide de l'électroporateur CUY21 SC et d'une électrode de 3 mm (CUY650P3, Nepa Gene). Les électrodes ont été placées en conformation « tête à queue » pour pouvoir accéder à la zone germinale. Les cornes utérines ont ensuite été replacées dans le ventre et le ventre a été recousu. Les animaux ont été placés dans une cage sur plaque à 37°C pour rétablir leur température corporelle avant de retourner dans leur propre cage.

#### III.2.2.2. Coupes de cerveau aiguës embryonnaires

Pour l'imagerie des embryons E16.5, la mère a été sacrifiée par dislocation cervicale et les embryons ont été retirés et placés dans du PBS1x sur glace. Les embryons ont été décapités, et le cerveau a été rapidement retiré du crâne. Des tranches coronales de cerveau (300 µm) ont été réalisées avec un microtome VT1200S (Leica) dans une solution de coupe froide (125 mM NaCl, 0.4 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 26 mM NaHCO<sub>3</sub>, 5 mM sodium pyruvate, 20 mM glucose and 1 mM acide kynurénique), saturée à 5% de CO<sub>2</sub> et 95% d'O<sub>2</sub>. Les tranches ont été placées dans une solution de coupe saturée de 5% de CO<sub>2</sub> et 95% d'O<sub>2</sub> à température ambiante pendant au moins 30 minutes. Les tranches ont ensuite été maintenues sur une membrane Millicell (Millicell cell culture insert ; Millipore ; PICMORG50) placée dans une boîte à fond de verre MatTek (MatTek glass-bottom 35mm dishes ; MatTek Corporation ; P35G-0-20-C) remplie d'un milieu Neurobasal de la composition suivante : 2% de supplément B-27 (Gibco ; Thermo Fisher Scientific ; 17504044), 1% de supplément N-2 (Gibco ; Thermo Fisher Scientific ; 17502048), 1% de pénicilline/streptomycine et 1% de GlutaMAX (Gibco ; Thermo Fisher Scientific ; 35050061). Les boîtes contenant les tranches ont ensuite été placées pendant la nuit dans l'incubateur à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub>.

### III.2.2.3. Vidéomicroscopie de tranches d'embryons

Après une nuit d'incubation à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub>, les tranches ont été imagées avec un microscope droit Biphoton SP5 MPlI (Leica) et un objectif 25x/0,95-N.A. avec un zoom optique de 1,30. Les images ont été acquises toutes les 3 minutes pendant 3 heures avec un intervalle de 2 µm. La température de la chambre du microscope a été maintenue à 34°C pendant l'imagerie et les tranches de cerveau ont été continuellement perfusées avec une solution d'enregistrement chauffée (de composition identique à la solution de coupe, sauf que la concentration de CaCl<sub>2</sub> est à 2 mM et que l'acide kynurénique est absent) saturée à 5% de CO<sub>2</sub> et 95% d'O<sub>2</sub>.

### III.2.2.4. Quantification et analyse des paramètres de migration (comme pour le postnatal)

Les analyses sont réalisées grâce au logiciel ImageJ et son plugin mTrackJ. Après une projection maximale d'intensité de tous les intervalles dans le plan z, les corps cellulaires des neurones marqués sont traqués manuellement à chaque pas de temps pendant toute la durée de l'acquisition. Des coordonnées x, y, t sont ainsi générées.

Une cellule est considérée comme migrante si au moins une translocation nucléaire (ou nucléokinèse) est établie au cours de sa trajectoire. En définissant une nucléokinèse comme un mouvement du corps cellulaire  $\geq 6$  µm entre deux pas de temps (1 pas de temps = 3 minutes), nous sommes en mesure de calculer plusieurs paramètres caractérisant la migration grâce aux coordonnées obtenues.

#### III.2.2.4.1. Vitesse de migration

$$\text{Vitesse} = \sqrt{(x_{t+1} - x_t)^2 + (y_{t+1} - y_t)^2} \times 20$$

#### III.2.2.4.2. Temps de pause

Une cellule qui n'effectue pas une translocation nucléaire entre  $t$  et  $t+1$  est considérée comme étant en pause.

Le pourcentage de temps passé par la cellule en pause sur le temps total considéré est un indicateur de sa motilité.

$$\text{Temps de pause (\%)} = \frac{\text{Nombre de pas de temps passé en pause}}{\text{Nombre total de pas de temps} - 1} \times 100$$

### III.2.2.4.3. Index de sinuosité

Rapport entre la distance totale parcourue par la cellule sur la distance euclidienne entre ses points de départ et d'arrivée.

$$\text{Index de sinuosité} = \frac{\sqrt{(x_{final} - x_{initial})^2 + (y_{final} - y_{initial})^2}}{\sum_{initial}^{final} \sqrt{(x_{n+1} - x_n)^2 + (y_{n+1} - y_n)^2}}$$

### III.2.2.4.4. Directionnalité

La quantification de ce paramètre est basée sur le calcul d'un angle de migration  $\theta$ . L'angle de migration d'un neurone est défini comme l'angle formé par un vecteur reliant son point de départ à son point d'arrivée et un vecteur fictif reliant directement la zone sous-ventriculaire au bulbe olfactif au niveau de la fenêtre d'acquisition considérée. Pour chaque cellule, nous avons donc calculé un vecteur de migration  $\vec{v} \begin{pmatrix} x_n \\ y_n \end{pmatrix}$  à partir des coordonnées x et y initiales et finales comme suit :

$$\vec{v} \begin{pmatrix} x_n = x_{final} - x_{initial} \\ y_n = y_{final} - y_{initial} \end{pmatrix}$$

Et de la même manière, nous avons également calculé un vecteur de migration pour le CMR qu'on appellera  $\vec{u} \begin{pmatrix} x_{CMR} \\ y_{CMR} \end{pmatrix}$  pour chaque fenêtre d'acquisition.

C'est ainsi que nous sommes en mesure d'accéder à la valeur de l'angle de migration  $\theta$  :

$$\theta = \cos^{-1} \frac{x_n \cdot x_{CMR} + y_n \cdot y_{CMR}}{\sqrt{x_n^2 + y_n^2} \cdot \sqrt{x_{CMR}^2 + y_{CMR}^2}}$$

Les valeurs des angles de migration varient ainsi de 0° à 360°. Sachant qu'une cellule qui suivrait parfaitement la direction de la ZSV vers le BO au centre du CMR aurait un angle de migration égal à 0°.

Pour simplifier la présentation de ces données, nous représentons les angles de migration des différentes cellules sous forme de « radars de migration » compartimentés en intervalles d'angles, pour pouvoir constater visuellement la distribution des directions.

#### III.2.2.4.5. Distance de nucléokinèse

Distance NK = *Moyenne des distances parcourues*/NK

#### III.2.2.4.6. Fréquence de nucléokinèse

$$\text{Fréquence NK} = \frac{\text{Nombre de NK}}{\text{Nombre total de pas de temps}} \times 60$$

Sont exclues des analyses les cellules n'effectuant aucune nucléokinèse sur tout l'intervalle de temps considéré et les cellules traquées strictement moins de 30 minutes.

#### III.2.2.4.7. Vitesse de centrokinèse

Grâce à l'injection et l'électroporation de la Centrine-RFP localisée au centrosome des cellules migrantes, nous avons accès aux coordonnées centrosomales x, y et t. De plus, nous avons défini un mouvement du centrosome ou centrokinèse (CK) comme une augmentation  $\geq 2 \mu\text{m}$  puis une diminution  $\geq 2 \mu\text{m}$  de la distance séparant le noyau du centrosome. Ainsi, nous sommes capables de calculer, de la même manière que pour les corps cellulaires, une vitesse de mouvement centrosomal comme ceci :

$$\text{Vitesse de centrokinèse} = \sqrt{(x_{t+1} - x_t)^2 + (y_{t+1} - y_t)^2} \times 20$$

#### III.2.2.4.8. Fréquence de centrokinèse

$$\text{Fréquence CK} = \frac{\text{Nombre de CK}}{\text{Nombre total de pas de temps}} \times 60$$

#### III.2.2.4.9. Efficacité de centrokinèse

L'une des caractéristiques majeures du mouvement saltatoire des neurones migrants est le couplage entre le mouvement centrosomal et nucléaire. Effectivement, la migration des neuroblastes de la ZSV s'effectue en deux temps : le centrosome s'avance vers le prolongement migratoire et le mouvement nucléaire s'effectue subséquemment. Cela dit, en réalité, nous constatons que toutes les centrokinèses ne conduisent pas nécessairement à une nucléokinèse. Ainsi, nous définissons l'efficacité d'une centrokinèse comme sa capacité à entraîner une nucléokinèse.

$$\text{Efficacité CK (\%)} = \frac{\text{Nombre de CK couplées à une NK}}{\text{Nombre total de CK}} \times 100$$



# DISCUSSION

## IV. Discussion

### IV.1. Le phénotype migratoire décrit

L'étiologie génétique du SXF a été élucidée il y'a plusieurs décennies. Cependant, l'identification des mécanismes reliant l'origine de ce syndrome au panel de manifestations cliniques des patients demeure un vaste domaine à explorer. Dans le cadre de mon projet de thèse, nous tentons d'approcher cette question par l'exploration d'un phénomène biologique fondamental qu'est la migration neuronale.

Mon projet de thèse a permis de mettre en évidence un rôle nouveau de FMRP dans le développement du système nerveux. FMRP est une protéine découverte dans le cadre du syndrome de l'X fragile, largement documentée dans le champ de la neurobiologie. L'un des défauts histologiques robustes retrouvé à la fois chez l'Homme et chez les rongeurs concerne la maturation des épines dendritiques (Galvez and Greenough, 2005; Hinton et al., 1991). De plus, des défauts de l'architecture corticale des souris *Fmr1-null* ont également été décrits (Lee et al., 2019; Selby et al., 2007) ainsi que des défauts de corticogenèse (Castrén, 2016). Néanmoins, le rôle de FMRP dans la migration neuronale, un processus développemental crucial, n'a été que très peu exploré.

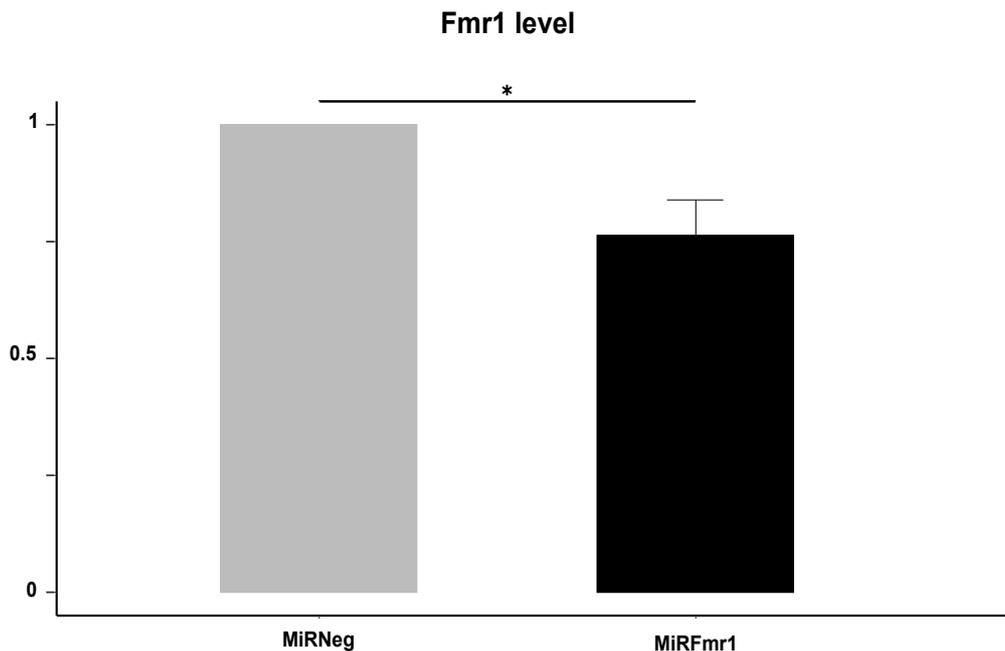
Mon projet a permis de mettre en lumière un rôle majeur de FMRP dans la migration tangentielle. Grâce à l'utilisation du modèle murin du SXF et du CMR comme système d'étude, nous avons pu découvrir les conséquences de l'absence de FMRP sur la migration tangentielle postnatale. En effet, les neurones *Fmr1-null* migrant le long du CMR présentent des défauts de migration sévères. Ces résultats sont fondamentaux pour une meilleure compréhension des mécanismes à l'origine de cette pathologie neurodéveloppementale. La découverte de défauts de migration à des stades précoces et cruciaux du développement confère à FMRP un rôle clé dans le développement du SNC. Dans la littérature, l'une des rares études s'intéressant au rôle de FMRP dans la migration décrit l'importance de FMRP dans la transition multipolaire à bipolaire, étape essentielle à la migration embryonnaire radiaire (La Fata et al., 2014). De plus, Wu et al. ont décrit le rôle pro-migratoire de FMRP, en aval du miR-129, dans les neurones corticaux embryonnaires (Wu et al., 2019). Cette étude démontre que le niveau d'expression de FMRP impacte directement la migration radiaire et le positionnement des neurones dans les couches corticales profondes.

Ces résultats associés aux nôtres font de FMRP un acteur clé de la migration neuronale. Chez l'Homme, de nombreux flux migratoires tangentiels postnataux apparemment humain-spécifiques ont été découverts récemment (Paredes et al., 2016; Sanai et al., 2011). Un rôle de FMRP dans la migration neuronale pourrait ainsi constituer un facteur fondamental à l'établissement des réseaux neuronaux des patients SXF. Par ailleurs, la balance inhibition/excitation est essentielle à un bon fonctionnement des circuits neuronaux et les patients et modèles animaux SXF présentent une hyperexcitabilité neuronale (Bülow et al., 2022). L'importante implication de FMRP dans la migration neuronale pourrait donc constituer un élément de compréhension de ce déséquilibre de la balance inhibition/excitation.

#### IV.2. Un phénotype autonome cellulaire

Afin de mieux comprendre le rôle de FMRP dans la migration neuronale, notre intérêt s'est porté sur le caractère autonome cellulaire du phénotype observé. En effet, il était primordial de déterminer si les défauts de migration étaient dus à l'absence de FMRP dans le neurone lui-même ou à la perturbation d'éléments extracellulaires. Dans ce contexte, j'ai conçu un nouvel outil permettant l'extinction de *Fmr1* (ou Knock Down KD). L'extinction de *Fmr1* a permis de récapituler tous les défauts migratoires retrouvés dans les neurones *Fmr1-null*. Ces résultats ont permis de conclure que le phénotype décrit est bien autonome cellulaire.

De manière surprenante, la quantification du taux d'extinction de *FMR1* par l'outil utilisé ne révèle une diminution que d'environ 25% du niveau d'ARN (**Figure 24**). Cette quantification a été réalisée par q RT PCR (quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) sur des cultures de cellules HEK (Human Embryonic Kidney) transfectées. La diminution de 25% peut paraître insuffisante pour expliquer un tel phénotype de migration.



**Figure 24: Analyse q RT PCR des cellules HEK transfectées avec miRFmr1 ou miRNeg.**  
**Histogramme des niveaux d'ARNm FMR1 (par rapport à l'ARNm GUS) dans les cellules HEK transfectées avec miRFmr1 normalisés aux niveaux d'ARNm FMR1 dans les cellules HEK transfectées avec le plasmide contrôle miRNeg. (Test de Student,  $P = 0.035$ ). Condition miRNeg :  $n = 3$  ; condition miRFmr1 :  $n = 3$ . \* $p$ -value < 0,05.**

**Matériel et méthodes correspondant :** Les cellules HEK confluentes ont été transfectées soit avec le plasmide miRFmr1 soit avec le plasmide contrôle miRNeg, en utilisant la Lipofectamine à 4% (Invitrogen ; 11668-027). 48h après, les cellules ont été récoltées et les ARNs totaux ont été isolés en utilisant le RNeasy Mini Kit (Qiagen ; 74104), selon les procédures indiquées par le fabricant. 1 µg de l'ARN total extrait a été utilisé pour la transcription inverse avec le kit Superscript IV Vilo (ThermoFisher ; 11756050). L'ADNc résultant a été dilué au 1/10e et immédiatement utilisé pour la PCR quantitative (qPCR). La qPCR a été réalisée dans le LightCycler 480-II (Roche) en utilisant le LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche ; 04707516001). Le programme de PCR comprend une étape initiale de dénaturation (95°C ; 5 minutes) pour activer la polymérase, 45 cycles avec une étape de dénaturation à 95°C pendant 10 secondes, une étape d'hybridation à 53°C pendant 15 secondes, une étape d'élongation de 72°C pendant 15 secondes, puis une collecte des données de courbes de fusion. Les amorces ont été conçues pour améliorer l'efficacité de l'amplification et utilisées à une concentration optimisée de 500 nM : les amorces Fmr1 étaient Fmr1-fw (5'-GCAGATTCCATTTTCATGATGTCA-3') et Fmr1-rv (5'-ACCACCAACAGCAAGGCTCT-3'). Les amorces GUS étaient GUS-fw (5'-CTCATTGGGAATTTGCCGATT-3') et GUS-rv (5'-CCGAGTGAAGATCCCCTTTTA-3'). Des contrôles négatifs sans transcription inverse et sans matrice ont été testés pour chaque échantillon afin de s'assurer qu'aucun produit n'était obtenu. Chaque échantillon d'ADNc a été amplifié en triplicat. Les quantités absolues d'ARNm Fmr1 ont été normalisées avec l'ARNm GUS utilisé comme gène de référence pour évaluer les quantités relatives d'ARNm.

Cependant, la quantification est réalisée sur des cultures d'une lignée cellulaire humaine après transfection et récolte des cellules 48 heures plus tard. Ce système d'expérimentation diffère complètement du système avec lequel nous avons étudié la migration neuronale. En effet, l'analyse de la migration des neurones a été réalisée par imagerie en temps réel sur des tranches de cerveaux de souris, injectées et électroporées 5 jours au préalable. On peut donc imaginer une sous-estimation de la down-régulation dans le système de quantification utilisé.

Nous avons également tenté de quantifier l'efficacité du miRFmr1 grâce à des marquages immunohistochimiques. Après injection/électroporation du miRFmr1 et perfusion des animaux quelques jours plus tard, des marquages anti-FMRP sont réalisés sur des tranches de cerveaux contenant des cellules marquées au niveau du CMR. Cependant, étant donné la présence de FMRP dans toutes les cellules du CMR et la forte densité de cellules au niveau de ce courant de migration, nous sommes incapables de distinguer le marquage des cellules isolément. Le marquage de la cohorte de cellules exprimant le miRFmr1 est donc indissociable des cellules avoisinantes n'exprimant pas le miRFmr1.

Une expérience alternative serait de réaliser une quantification au niveau protéique ou transcriptionnel. Cette expérience s'appuierait sur l'utilisation de ZSV ou CMR disséqués qui auraient préalablement été injectés et électroporés. Une dissociation cellulaire suivie d'un FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting) pour sélectionner les cellules fluorescentes seraient nécessaires. Enfin, une extraction protéique et une quantification par Western Blot ou q RT PCR (après extraction d'ARN) permettraient de réaliser une analyse plus proche de notre système et plus pertinente pour établir l'efficacité de l'outil utilisé.

Pour l'instant, nous n'avons pas pu quantifier précisément la diminution de FMRP dans notre système suite au KD par l'outil utilisé. Cependant, nos résultats montrent bien que le miRFmr1 récapitule entièrement le phénotype migratoire des souris *Fmr1-null*, ce qui prouve que ce phénotype est bien cellulaire autonome.

### IV.3. L'implication de MAP1B dans le phénotype migratoire

Mon projet a permis de mettre en lumière un acteur clé impliqué dans le phénotype migratoire que nous avons découvert. MAP1B est une protéine associée aux microtubules et une cible de FMRP bien documentée (Brown et al., 2001; Darnell et al., 2001; Zalfa et al., 2003;

Zhang et al., 2001). Comme décrit dans d'autres systèmes (Lu et al., 2004; Zhang et al., 2001), MAP1B est surexprimée dans le CMR postnatal *Fmr1-null* (**Figure S.1 des résultats**). De manière surprenante, le KD de MAP1B a permis de restaurer complètement le phénotype migratoire décrit chez les *Fmr1-null*. Ce résultat démontre le rôle essentiel de MAP1B dans la migration tangentielle postnatale et l'importance de la régulation de MAP1B par FMRP dans ce contexte.

L'efficacité de l'outil de KD utilisé pour MAP1B a été évalué par marquage immunohistochimique sur des explants de ZSV mis en culture 3D. Cette technique a été utilisée pour l'évaluation de l'efficacité du miRMap1b mais pas pour le miRFmr1. Le marquage immunohistochimique de FMRP nécessite un traitement de l'échantillon permettant un démasquage antigénique préalable. Or, la mise en culture 3D s'appuie sur l'utilisation de Matrigel, incompatible avec le traitement permettant le démasquage antigénique. C'est pour cette raison que nous avons quantifié l'efficacité du miRFmr1 par q RT PCR sur lignée cellulaire transfectée.

Concernant l'efficacité du KD de MAP1B, le pourcentage de cellules exprimant le mirMap1b qui sont MAP1B négatives est d'environ 50% (**Figure S.2 des résultats**). Ce résultat suggère que l'extinction de MAP1B dans la moitié des cellules serait suffisante pour restaurer le phénotype migratoire des neurones *Fmr1-null*. Cependant, la technique utilisée pour la quantification du miRMap1b pourrait être améliorée. En effet, il s'agit d'un marquage immunohistochimique anti-MAP1B sur des cellules en culture 3D et nous déterminons si la cellule exprimant le miRMap1b est MAP1B+ ou MAP1B-. Cette technique ne nous permet donc pas d'apprécier le pourcentage de diminution de MAP1B à l'échelle de la cellule elle-même.

La sinuosité est le seul paramètre de migration qui demeure inchangé suite au KD de MAP1B dans les neurones *Fmr1-null*. Dans ce contexte, le réseau d'actine et sa dynamique au cours de la migration saltatoire peuvent apporter des éléments de compréhension. En effet, la dynamique des filaments d'actine est essentielle au mouvement saltatoire (Bellion et al., 2005; Martini et al., 2009; Schaar and McConnell, 2005). J'ai réalisé quelques tentatives (infructueuses) pour visualiser les filaments d'actine en temps réel *via* l'injection/électroporation du plasmide tdTomato-Lifeact (Plasmid #54528, Addgene). La

visualisation des filaments d'actine dans les neurones *Fmr1-null* en migration demeure une piste à explorer.

Aussi, nous pouvons imaginer que des cibles de FMRP en relation avec l'actine et intervenant dans le cône de croissance pourraient être impliquées. Le complexe Arp2/3 (Actin-Related Proteins 2 and 3) est une cible de FMRP (Ascano et al., 2012) impliquée dans divers processus de directionnalité du mouvement (Korobova and Svitkina, 2008; Suraneni et al., 2012). Le complexe Arp2/3 présent dans le cône de croissance, est nécessaire à son guidage et suffisant à son changement de direction (San Miguel-Ruiz and Letourneau, 2014).

D'autres partenaires du réseau d'actine ont été identifiés comme cibles de FMRP ; par exemple la profiline 1 et la cofiline 1. La profiline 1 est impliquée dans la polymérisation de l'actine tandis que la cofiline 1 dépolymérise les filaments d'actine (Michaelsen-Preusse et al., 2018). La traduction de ces protéines régulatrices pourrait être médiée par FMRP et constituer un élément de compréhension des défauts de trajectoire des neurones *Fmr1-null*.

Un autre exemple de potentiels acteurs impliqués dans la sinuosité des neurones *Fmr1-null* est APC (Adenomatous Polyposis Coli). Protéine associée aux microtubules et au réseau d'actine, APC est une cible récemment découverte de FMRP (Maurin et al., 2018). APC est impliquée dans la dynamique du cône de croissance (Koester et al., 2007) et a un rôle essentiel dans la migration tangentielle des interneurons embryonnaires (Eom et al., 2014). En effet, APC permet le remodelage rapide du cône de croissance, nécessaire à la migration tangentielle. Ces éléments suggèrent qu'APC peut représenter un acteur, en aval de FMRP, assurant la trajectoire rectiligne des neurones migrant tangentiellement.

En dehors de la régulation traductionnelle de MAP1B dans les neurones en migration, d'autres processus (post-traductionnels par exemple) restent à préciser pour étayer l'implication de MAP1B dans le phénotype que nous décrivons.

D'une part, les modifications post-traductionnelles de MAP1B sont déterminantes pour ses différentes fonctions biologiques. P1-MAP1B est enrichie dans la partie distale des axones et dans le cône de croissance (Ulloa et al., 1994a). Il faudrait tenter de moduler la phosphorylation (de type I) de MAP1B, par exemple, pour apprécier un éventuel impact sur la migration.

D'autre part, on ne peut pas exclure un rôle de FMRP sur la localisation subcellulaire de MAP1B. Pour tester cette hypothèse, il faudrait pouvoir localiser précisément MAP1B au niveau subcellulaire et vérifier si cette localisation est impactée par l'absence de FMRP.

#### IV.4. Hypothèses sur le mécanisme d'action de MAP1B dans les neurones de CMR

MAP1B se distingue des autres MAPs par ses propriétés « dynamisantes » des MTs. Plusieurs études ont démontré l'association préférentielle de MAP1B avec les MTs dynamiques (tyrosinés) et sa contribution au maintien de cette sous-catégorie de MTs (Tortosa et al., 2013; Tymanskyj et al., 2012; Utreras et al., 2008). De plus, la délétion de MAP1B est associée à une diminution du niveau de MTs tyrosinés (Gonzalez-Billault et al., 2001).

Dans le cadre de mon projet de thèse, j'ai démontré que le phénotype migratoire observé en l'absence de FMRP est associé à des défauts morphologiques des neurones migrants. Le nombre de prolongements par cellule est, en moyenne, augmenté et la longueur du prolongement principal est diminuée dans les neurones *Fmr1-null*, par rapport aux contrôles. Dans la littérature, il a été démontré que les neurones murins MAP1B KO présentent une augmentation du nombre de branchements axonaux (Bouquet et al., 2004). Ces observations, associées aux résultats que nous avons obtenus, démontrent que le niveau intracellulaire de MAP1B est essentiel à l'intégrité morphologique du neurone.

Hormis les conséquences morphologiques induites par l'absence de MAP1B, nous pouvons nous interroger sur l'intervention de partenaires potentiels de MAP1B dans le phénotype décrit. Une étude a démontré l'interaction de MAP1B avec des protéines de l'extrémité + des MTs : EB1 et EB3 (End Binding 1/3). Au cours des phases d'élongation du cône de croissance, MAP1B séquestrerait ces molécules libérant ainsi les extrémités + des MTs qui polymérisent des nouveaux dimères de tubuline, ce qui permet l'élongation du cône de croissance. Lorsque MAP1B est absente, EB1 et EB3 interagissent de manière accrue avec les extrémités des MTs, ce qui conduit à la stabilisation augmentée des MTs. Inversement, lorsque MAP1B est surexprimée, EB1 et EB3 ne s'associent plus aux extrémités + des MTs. MAP1B agirait vraisemblablement comme un tampon de ces protéines qui se lient aux extrémités des MTs et en régule l'interaction avec l'extrémité + (Tortosa et al., 2013). Nous pourrions imaginer un tel mécanisme d'action dans les neurones en migration de notre système : la surexpression de MAP1B dans les *Fmr1-null* conduirait à la séquestration des protéines de l'extrémité +,

induisant ainsi une perte de stabilité (augmentation du nombre de prolongements) et un rétrécissement du/des prolongements migratoires (diminution de la longueur du prolongement principal).

L'enzyme TTL figure parmi les partenaires décrits de MAP1B (Utreras et al., 2008). L'enzyme TTL permet l'incorporation du résidu tyrosiné sur les sous-unités de tubuline. L'interaction de MAP1B avec l'enzyme TTL, indépendante de la phosphorylation de MAP1B, facilite la tyrosination de la tubuline. De plus, cette étude démontre que l'absence de MAP1B retarde la récupération du pool de tubuline tyrosinée après application du Nocodazole (dépolymérisation réversible des MTs).

Dans le cadre de mon projet, nous avons voulu examiner le profil de tyrosination des MTs dans les neurones *Fmr1-null*. En effet, il a été démontré que le profil de distribution subcellulaire des MTs tyrosinés est essentiel à la migration (Umeshima et al., 2007). Pour ce faire, nous avons disséqué la ZSV et mis en culture en 3D dans du Matrigel. Après fixation et immunohistochimie de la tubuline tyrosinée et la tubuline acétylée (marqueur de stabilité des MTs), nous observons une différence distribution subcellulaire de tubuline tyrosinée entre les neurones *Fmr1-null* et les contrôles. Grâce à l'utilisation de coefficients de colocalisation, nous avons pu décrire une augmentation du ratio de colocalisation entre tyrosination et acétylation dans les neurones *Fmr1-null* (**Figure 7 des résultats**). Pour préciser ces observations, il faudrait pouvoir quantifier précisément le niveau de tubuline tyrosinée par cellule. De plus, pour établir un lien entre FMRP, MAP1B et la tyrosination des MTs dans les neurones migrants, il serait intéressant de vérifier si le KD de MAP1B dans les neurones *Fmr1-null* restaure la distribution de tubuline tyrosinée.

Bien qu'ayant *in extremis* donné des résultats positifs et extrêmement intéressants, la technique que nous avons utilisée a été très difficile à mettre au point. Étant donné la conformation 3D et le Matrigel qui forme un dôme sur les explants, les anticorps ne pénètrent pas nécessairement de manière homogène. Cette technique de mise en culture a été utilisée pour obtenir des neurones bien isolés et des marquages individualisés. Sur les coupes de CMR, les neurones migrants sont très compactés tridimensionnellement, ce qui compromet l'accès à des neurones individualisés et c'est pour cette raison que nous avons tenté la mise en culture de la ZSV. L'idéal serait de trouver un système où l'on peut observer des cellules migrantes individualisées et où les anticorps pénètrent de manière homogène. Une alternative

concernerait la méthode d'incubation des anticorps. Une incubation sur une période plus longue peut être envisagée, par exemple, pour pallier l'hétérogénéité de la pénétration dans le Matrigel. Une incubation séquentielle des anticorps peut également être testée : commencer par l'incubation d'un premier anticorps primaire (anti-tubuline acétylée par exemple) suivie de sa révélation puis poursuivre par l'incubation du deuxième anticorps primaire (anti-tubuline tyrosinée) suivie de sa révélation. En effet, les deux modifications post-traductionnelles (tyrosination et acétylation) sont situées sur la même sous-unité de tubuline. Enfin, nous avons également tenté la quantification protéique par Western Blot sur CMR de la tubuline tyrosinée et acétylée. Cependant, les résultats obtenus étaient inconsistants au fil des répétitions. L'extraction protéique de la tubuline et de ses différentes modifications post-traductionnelles n'est probablement pas aussi simple qu'une extraction protéique standard. Dans ce cadre, il faudrait éventuellement tester d'autres techniques d'extraction protéique.

#### IV.5. Le phénotype postnatal n'est pas retrouvé au stade embryonnaire

Grâce à l'électroporation *in utero* de l'éminence ganglionnaire médiane au stade E13.5, pic prolifératif des progéniteurs des interneurones, nous avons pu accéder à la migration tangentielle embryonnaire en temps réel. Les interneurones *Fmr1-null* ne présentent aucun défaut migratoire, comparé aux contrôles. Nous filmons des neurones proches de la MGE trois jours après l'électroporation et nous ne retrouvons pas les défauts de migration des neurones *Fmr1-null* postnataux.

Néanmoins, la technique que nous avons utilisée pour analyser la migration tangentielle embryonnaire n'est pas fréquemment utilisée. En effet, l'imagerie d'interneurones génétiquement induits pour exprimer des protéines fluorescentes est plus largement utilisée (Eom et al., 2014; Silva et al., 2018). La culture d'explants de MGE injectée et électroporée *ex utero* est également retrouvée dans la littérature (Lepiemme et al., 2021; Silva et al., 2018). L'électroporation *ex utero* suivie de la mise en culture des tranches de cerveaux peut également être envisagée (Eid et al., 2018). Toutes ces techniques permettent un accès plus simple à la niche neurogénique et un marquage plus ciblé des interneurones destinés à migrer tangentiellement.

Aussi, le stade que nous avons déterminé pour l'injection et électroporation (E13.5) représente le pic prolifératif des progéniteurs des interneurons dans la MGE (Lim et al., 2018). En revanche, le stade auquel nous avons réalisé l'imagerie des neurones migrants (E16.5) est tardif. Nous avons déterminé cette fenêtre de 3 jours entre l'électroporation et l'imagerie au cours de la mise au point de cette technique. C'était, en effet, la durée qui nous semblait optimale pour pouvoir visualiser des neurones en migration mais dans ce contexte, il est difficile de conclure quant à l'identité des neurones que nous filmions. En somme, la technique que nous avons utilisée pour l'imagerie de la migration tangentielle embryonnaire n'est pas optimale et il nous faudrait adopter une technique plus classique pour pouvoir conclure de manière définitive.

Considérant néanmoins ce résultat apparemment négatif, nous avons souhaité savoir si FMRP et MAP1B étaient bien exprimées dans les neurones embryonnaires en migration tangentielle. Frédéric Causeret (Communication personnelle et (Moreau et al., 2021)) nous a bien confirmé que tel était le cas dans ses analyses par single cell transcriptomics : les deux ARNm sont bien exprimés bien que plus faiblement que dans les neurones matures. S'il s'avère que FMRP ne régule vraiment pas la migration tangentielle embryonnaire, on peut imaginer que le niveau de FMRP à ce stade ne permet pas la régulation de la traduction de MAP1B et/ou que celle-ci n'est pas FMRP dépendante à cet âge-là.

## IV.6. Perspectives

Concernant les perspectives, il demeure essentiel de comprendre les mécanismes sous-tendant le rôle central de MAP1B dans le phénotype migratoire que nous décrivons. En effet, la précision de l'implication de la tyrosination des MTs en aval de MAP1B représente un enjeu fondamental. De plus, l'exploration d'autres cibles de FMRP qui expliqueraient la sinuosité des neurones *Fmr1-null* (seul paramètre non restauré par le KD de MAP1B) demeure essentielle.

Nous avons également exploré la migration tangentielle au stade embryonnaire et il apparaît que l'absence de FMRP n'a pas d'impact sur le phénotype des neurones *Fmr1-null*, en tous cas avec la méthode que nous avons utilisée. Considérant l'ampleur des mouvements migratoires au stade embryonnaire, il faudrait envisager une technique plus adaptée pour étudier la migration tangentielle à ce stade développemental. Aussi, sachant que la migration tangentielle subsiste à l'âge adulte chez le rongeur, il serait intéressant d'analyser également

l'impact de FMRP dans ce contexte. L'étude de la migration tangentielle au cours de ces différentes périodes développementales permettrait l'exploration des cibles potentiellement impliquées. MAP1B pourrait jouer un rôle central (comme en postnatal) ou d'autres acteurs pourraient entrer en jeu.

Par ailleurs, un élément essentiel est également à explorer. Comme démontré par mes résultats et d'autres études dans la littérature, FMRP agit sur la traduction de MAP1B. Cependant, les mécanismes gouvernant cette régulation sont inconnus. Nous pouvons imaginer une modulation de la traduction locale par exemple. Afin de vérifier cette hypothèse, l'utilisation de rapporteurs de traduction photo-convertibles peut être envisagée (Banerjee et al., 2009). La question d'une traduction locale potentiellement régulée par FMRP pendant la migration cyclique saltatoire est une question fascinante jusqu'alors totalement inexplorée.



## V. Liste des abréviations

**APC** : Adenomatous Polyposis Coli

**ARNm** : Acide RiboNucléique messenger

**BO** : Bulbe Olfactif

**CDK5** : Cycline Dependent Kinase 5

**CMR** : Courant de Migration Rostrale

**DCC** : Deleted in Colorectal Carcinoma

**DCX** : Double Cortin

**DHPG** : DiHydroxyPhenyl Glycine

**EB1 et 3** : End Binding 1/3

**EG** : Éminence Ganglionnaire ou **GE** : Ganglionic Eminences

**FACS** : Fluorescence-Activated Cell Sorting

**FM** : Full Mutation

**FMRP** : Fragile X Mental Retardation Protein

**FMR1** : Fragile X Mental Retardation 1

**GABA** : Gamma-Amino-Butyric Acide

**GSK3 $\beta$**  : glycogen synthase 3  $\beta$

**GTP** : Guanosine TriPhosphate

**HEK** : Human Embryonic Kidney

**IGF-1** : Insulin-like Growth Factor 1

**IRM** : Imagerie à Résonance Magnétique

**iZSV** : Zone Sous-Ventriculaire interne ou **iSVZ** : inner SubVentricular Zone

**KD** : Knock Down

**KH** : K – Homology

**Lis1** : Lissencephaly-related protein 1

**LTP** : Long Term Potentiation

**LTD** : Long Term Depression

**MAPs** : Microtubule-Associated Proteins ou Protéines Associées aux Microtubules

**MAP1B** : Microtubule-Associated Protein 1B

**MGE** : Medial Ganglionic Eminence

**mGluR** : Récepteurs Glutamatergiques métabotropiques

**MPEP** : Méthyl Phényl Ethynyl Pyridine

**mRNPs** : messenger RiboNulceoParticles

**MTs** : MicroTubules

**MTB** : Multipolar To Bipolar transition

**NCAM** : Neural Cell Adhesion Molecule

**NES** : Nuclear Export Signal

**NLS** : Nuclear Localization Signal

**oZSV** : Zone Sous-Ventriculaire externe ou oSVZ : outer SubVentricular Zone

**PC** : Plaque Corticale ou CP : Cortical Plate

**PM** : Pré-Mutation

**PSA** : PolySialic Acid

**QI** : Quotient Intellectuel

**q RT PCR** : quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

**RBPs** : RNA-Binding Proteins

**RGG** : Arginine Glycine Rich

**RNPs** : RiboNulceoParticles

**Shh** : Sonic hedgehog

**SXF** : Syndrome de l'X Fragile

**TDAH** : Trouble de Déficit de l'Attention/Hyperactivité

**TMB** : Transition Multipolaire à Bipolaire

**TSA** : Trouble du Spectre Autistique

**TTL** : Tubuline Tyrosine Ligase

**UTR** : Untranslated Transcribed Region

**VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor

**ZI** : Zone Intermédiaire ou **IZ** : Intermediate Zone

**ZSV** : Zone Sous-Ventriculaire ou **SVZ** : SubVentricular Zone

**ZV** : Zone Ventriculaire ou **VZ** : Ventricular Zone

## VI. Bibliographie

- Aakalu, G., Smith, W.B., Nguyen, N., Jiang, C., Schuman, E.M., 2001. Dynamic visualization of local protein synthesis in hippocampal neurons. *Neuron* 30, 489–502. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00295-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00295-1)
- Abbeduto, L., John Thurman, A., McDuffie, A., Klusek, J., Tempero Feigles, R., Ted Brown, W., Harvey, D.J., Adayev, T., LaFauci, G., Dobkins, C., Roberts, J.E., 2019. ASD Comorbidity in Fragile X Syndrome: Symptom Profile and Predictors of Symptom Severity in Adolescent and Young Adult Males. *J. Autism Dev. Disord.* 49, 960–977. <https://doi.org/10.1007/s10803-018-3796-2>
- Abitbol, M., Menini, C., Delezoide, A.-L., Rhyner, T., Vekemans, M., Mallet, J., 1993. Nucleus basalis magnocellularis and hippocampus are the major sites of FMR-1 expression in the human fetal brain. *Nat. Genet.* 4, 147–153. <https://doi.org/10.1038/ng0693-147>
- Adinolfi, S., Bagni, C., Musco, G., Gibson, T., Mazzarella, L., Pastore, A., 1999. Dissecting FMR1, the protein responsible for fragile X syndrome, in its structural and functional domains. *RNA* 5, 1248–1258.
- Adinolfi, S., Ramos, A., Martin, S.R., Dal Piaz, F., Pucci, P., Bardoni, B., Mandel, J.L., Pastore, A., 2003. The N-terminus of the fragile X mental retardation protein contains a novel domain involved in dimerization and RNA binding. *Biochemistry* 42, 10437–10444. <https://doi.org/10.1021/bi034909g>
- Aimone, J.B., Li, Y., Lee, S.W., Clemenson, G.D., Deng, W., Gage, F.H., 2014. Regulation and Function of Adult Neurogenesis: From Genes to Cognition. *Physiol. Rev.* 94, 991–1026. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2014>
- Alpatov, R., Lesch, B.J., Nakamoto-Kinoshita, M., Blanco, A., Chen, S., Stützer, A., Armache, K.J., Simon, M.D., Xu, C., Ali, M., Murn, J., Prusic, S., Kutateladze, T.G., Vakoc, C.R., Min, J., Kingston, R.E., Fischle, W., Warren, S.T., Page, D.C., Shi, Y., 2014. A chromatin-dependent role of the fragile X mental retardation protein FMRP in the DNA damage response. *Cell* 157, 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.040>
- Altman, J., 1963. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *Anat. Rec.* 145, 573–591. <https://doi.org/10.1002/ar.1091450409>
- Altman, J., 1962. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135, 1127–1128. <https://doi.org/10.1126/science.135.3509.1127>
- Alvarez-Buylla, A., García-Verdugo, J.M., 2002. Neurogenesis in Adult Subventricular Zone. *J. Neurosci.* 22, 629–634. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-03-00629.2002>
- Anderson, S.A., Eisenstat, D.D., Shi, L., Rubenstein, J.L.R., 1997. Interneuron Migration from Basal Forebrain to Neocortex: Dependence on Dlx Genes. *Science* 278, 474–476. <https://doi.org/10.1126/science.278.5337.474>
- Angevine, J.B., Sidman, R.L., 1961. Autoradiographic Study of Cell Migration during Histogenesis of Cerebral Cortex in the Mouse. *Nature* 192, 766–768. <https://doi.org/10.1038/192766b0>

- Angot, E., Loulier, K., Nguyen-Ba-Charvet, K.T., Gadeau, A.-P., Ruat, M., Traiffort, E., 2008. Chemoattractive Activity of Sonic Hedgehog in the Adult Subventricular Zone Modulates the Number of Neural Precursors Reaching the Olfactory Bulb. *STEM CELLS* 26, 2311–2320. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2008-0297>
- Antar, L.N., Afroz, R., Dichtenberg, J.B., Carroll, R.C., Bassell, G.J., 2004. Metabotropic glutamate receptor activation regulates fragile x mental retardation protein and FMR1 mRNA localization differentially in dendrites and at synapses. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 2648–2655. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0099-04.2004>
- Antar, L.N., Dichtenberg, J.B., Plociniak, M., Afroz, R., Bassell, G.J., 2005. Localization of FMRP-associated mRNA granules and requirement of microtubules for activity-dependent trafficking in hippocampal neurons. *Genes Brain Behav.* 4, 350–359. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00128.x>
- Ascano, M., Mukherjee, N., Bandaru, P., Miller, J.B., Nusbaum, J.D., Corcoran, D.L., Langlois, C., Munschauer, M., Dewell, S., Hafner, M., Williams, Z., Ohler, U., Tuschl, T., 2012. FMRP targets distinct mRNA sequence elements to regulate protein expression. *Nature* 492, 382–386. <https://doi.org/10.1038/nature11737>
- Ashley, C.T., Wilkinson, K.D., Reines, D., Warren, S.T., 1993. FMR1 protein: conserved RNP family domains and selective RNA binding. *Science* 262, 563–566. <https://doi.org/10.1126/science.7692601>
- Ayala, R., Shu, T., Tsai, L.-H., 2007. Trekking across the Brain: The Journey of Neuronal Migration. *Cell* 128, 29–43. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.12.021>
- Bagni, C., Greenough, W.T., 2005. From mRNP trafficking to spine dysmorphogenesis: the roots of fragile X syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 376–387. <https://doi.org/10.1038/nrn1667>
- Bagni, C., Tassone, F., Neri, G., Hagerman, R., 2012. Fragile X syndrome: causes, diagnosis, mechanisms, and therapeutics. *J. Clin. Invest.* 122, 4314–4322. <https://doi.org/10.1172/JCI63141>
- Bailey, D.B., Raspa, M., Olmsted, M., Holiday, D.B., 2008. Co-occurring conditions associated with FMR1 gene variations: findings from a national parent survey. *Am. J. Med. Genet. A.* 146A, 2060–2069. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32439>
- Balenci, L., Saoudi, Y., Grunwald, D., Deloulme, J.C., Bouron, A., Bernards, A., Baudier, J., 2007. IQGAP1 regulates adult neural progenitors in vivo and vascular endothelial growth factor-triggered neural progenitor migration in vitro. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 4716–4724. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0830-07.2007>
- Banerjee, S., Neveu, P., Kosik, K.S., 2009. A coordinated local translational control point at the synapse involving relief from silencing and MOV10 degradation. *Neuron* 64, 871–884. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.023>
- Banker, G.A., 1980. Trophic interactions between astroglial cells and hippocampal neurons in culture. *Science* 209, 809–810. <https://doi.org/10.1126/science.7403847>
- Barres, B.A., 2008. The Mystery and Magic of Glia: A Perspective on Their Roles in Health and Disease. *Neuron* 60, 430–440. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.10.013>

- Bartholomay, K.L., Lee, C.H., Bruno, J.L., Lightbody, A.A., Reiss, A.L., 2019. Closing the Gender Gap in Fragile X Syndrome: Review of Females with Fragile X Syndrome and Preliminary Research Findings. *Brain Sci.* 9. <https://doi.org/10.3390/brainsci9010011>
- Bassell, G.J., Warren, S.T., 2008. Fragile X Syndrome: Loss of Local mRNA Regulation Alters Synaptic Development and Function. *Neuron* 60, 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.10.004>
- Batista-Brito, R., Close, J., Machold, R., Fishell, G., 2008. The Distinct Temporal Origins of Olfactory Bulb Interneuron Subtypes. *J. Neurosci.* 28, 3966–3975. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5625-07.2008>
- Battista, D., Rutishauser, U., 2010. Removal of Polysialic Acid Triggers Dispersion of Subventricularly Derived Neuroblasts into Surrounding CNS Tissues. *J. Neurosci.* 30, 3995–4003. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4382-09.2010>
- Bear, M.F., Huber, K.M., Warren, S.T., 2004. The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends Neurosci.* 27, 370–377. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.04.009>
- Bellion, A., Baudoin, J.-P., Alvarez, C., Bornens, M., Métin, C., 2005. Nucleokinesis in Tangentially Migrating Neurons Comprises Two Alternating Phases: Forward Migration of the Golgi/Centrosome Associated with Centrosome Splitting and Myosin Contraction at the Rear. *J. Neurosci.* 25, 5691–5699. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1030-05.2005>
- Berry-Kravis, E., 2002. Epilepsy in fragile X syndrome. *Dev. Med. Child Neurol.* 44, 724–728. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2002.tb00277.x>
- Berry-Kravis, E., Hessler, D., Coffey, S., Hervey, C., Schneider, A., Yuhas, J., Hutchison, J., Snape, M., Tranfaglia, M., Nguyen, D.V., Hagerman, R., 2009. A pilot open label, single dose trial of fenobam in adults with fragile X syndrome. *J. Med. Genet.* 46, 266–271. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.063701>
- Bettencourt da Cruz, A., Schwärzel, M., Schulze, S., Niyiyati, M., Heisenberg, M., Kretschmar, D., 2005. Disruption of the MAP1B-related protein FUTSCH leads to changes in the neuronal cytoskeleton, axonal transport defects, and progressive neurodegeneration in *Drosophila*. *Mol. Biol. Cell* 16, 2433–2442. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-11-1004>
- Bhakar, A.L., Dölen, G., Bear, M.F., 2012. The Pathophysiology of Fragile X (and What It Teaches Us about Synapses). *Annu. Rev. Neurosci.* 35, 417–443. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-060909-153138>
- Bhattacharyya, A., McMillan, E., Wallace, K., Tubon, T.C., Capowski, E.E., Svendsen, C.N., 2008. Normal Neurogenesis but Abnormal Gene Expression in Human Fragile X Cortical Progenitor Cells. *Stem Cells Dev.* 17, 107–117. <https://doi.org/10.1089/scd.2007.0073>
- Binder, L.I., Frankfurter, A., Kim, H., Caceres, A., Payne, M.R., Rebhun, L.I., 1984. Heterogeneity of microtubule-associated protein 2 during rat brain development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81, 5613–5617. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.17.5613>
- Bloom, G.S., Luca, F.C., Vallee, R.B., 1985. Microtubule-associated protein 1B: identification of a major component of the neuronal cytoskeleton. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82, 5404–5408. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.16.5404>

- Borrell, V., Reillo, I., 2012. Emerging roles of neural stem cells in cerebral cortex development and evolution. *Dev. Neurobiol.* 72, 955–971. <https://doi.org/10.1002/dneu.22013>
- Bouquet, C., Soares, S., von Boxberg, Y., Ravaille-Veron, M., Propst, F., Nothias, F., 2004. Microtubule-associated protein 1B controls directionality of growth cone migration and axonal branching in regeneration of adult dorsal root ganglia neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 7204–7213. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2254-04.2004>
- Bramham, C.R., Wells, D.G., 2007. Dendritic mRNA: transport, translation and function. *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 776–789. <https://doi.org/10.1038/nrn2150>
- Brill, M.S., Ninkovic, J., Winpenny, E., Hodge, R.D., Ozen, I., Yang, R., Lepier, A., Gascón, S., Erdelyi, F., Szabo, G., Parras, C., Guillemot, F., Frotscher, M., Berninger, B., Hevner, R.F., Raineteau, O., Götz, M., 2009. Adult generation of glutamatergic olfactory bulb interneurons. *Nat. Neurosci.* 12, 1524–1533. <https://doi.org/10.1038/nn.2416>
- Brown, V., Jin, P., Ceman, S., Darnell, J.C., O'Donnell, W.T., Tenenbaum, S.A., Jin, X., Feng, Y., Wilkinson, K.D., Keene, J.D., Darnell, R.B., Warren, S.T., 2001. Microarray identification of FMRP-associated brain mRNAs and altered mRNA translational profiles in fragile X syndrome. *Cell* 107, 477–487. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00568-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00568-2)
- Buchsbaum, I.Y., Cappello, S., 2019. Neuronal migration in the CNS during development and disease: insights from in vivo and in vitro models. *Development* 146. <https://doi.org/10.1242/dev.163766>
- Bülow, P., Segal, M., Bassell, G.J., 2022. Mechanisms Driving the Emergence of Neuronal Hyperexcitability in Fragile X Syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 6315. <https://doi.org/10.3390/ijms23116315>
- Callan, M.A., Zarnescu, D.C., 2011. Heads-up: new roles for the fragile X mental retardation protein in neural stem and progenitor cells. *Genes. N. Y. N* 2000 49, 424–440. <https://doi.org/10.1002/dvg.20745>
- Calvert, R., Anderton, B.H., 1985. A microtubule-associated protein (MAP1) which is expressed at elevated levels during development of the rat cerebellum. *EMBO J.* 4, 1171–1176. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1985.tb03756.x>
- Carroll, R.C., Lissin, D.V., von Zastrow, M., Nicoll, R.A., Malenka, R.C., 1999. Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nat. Neurosci.* 2, 454–460. <https://doi.org/10.1038/8123>
- Castrén, M., Tervonen, T., Kärkkäinen, V., Heinonen, S., Castrén, E., Larsson, K., Bakker, C.E., Oostra, B.A., Åkerman, K., 2005. Altered differentiation of neural stem cells in fragile X syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 17834–17839. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508995102>
- Castrén, M.L., 2016. Cortical neurogenesis in fragile X syndrome. *Front. Biosci. Sch. Ed.* 8, 160–168. <https://doi.org/10.2741/s455>
- Ceman, S., O'Donnell, W.T., Reed, M., Patton, S., Pohl, J., Warren, S.T., 2003. Phosphorylation influences the translation state of FMRP-associated polyribosomes. *Hum. Mol. Genet.* 12, 3295–3305. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg350>

- Chen, L., Yun, S.W., Seto, J., Liu, W., Toth, M., 2003. The fragile X mental retardation protein binds and regulates a novel class of mRNAs containing U rich target sequences. *Neuroscience* 120, 1005–1017. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00406-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00406-8)
- Chowdhury, K., Bonaldo, P., Torres, M., Stoykova, A., Gruss, P., 1997. Evidence for the stochastic integration of gene trap vectors into the mouse germline. *Nucleic Acids Res.* 25, 1531–1536. <https://doi.org/10.1093/nar/25.8.1531>
- Ciaccio, C., Fontana, L., Milani, D., Tabano, S., Miozzo, M., Esposito, S., 2017. Fragile X syndrome: a review of clinical and molecular diagnoses. *Ital. J. Pediatr.* 43. <https://doi.org/10.1186/s13052-017-0355-y>
- Coffee, R.L., Williamson, A.J., Adkins, C.M., Gray, M.C., Page, T.L., Broadie, K., 2012. In vivo neuronal function of the fragile X mental retardation protein is regulated by phosphorylation. *Hum. Mol. Genet.* 21, 900–915. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr527>
- Collins, M.O., Yu, L., Coba, M.P., Husi, H., Campuzano, I., Blackstock, W.P., Choudhary, J.S., Grant, S.G.N., 2005. Proteomic analysis of in vivo phosphorylated synaptic proteins. *J. Biol. Chem.* 280, 5972–5982. <https://doi.org/10.1074/jbc.M411220200>
- Colucci-D'Amato, L., Bonavita, V., di Porzio, U., 2006. The end of the central dogma of neurobiology: stem cells and neurogenesis in adult CNS. *Neurol. Sci.* 27, 266–270. <https://doi.org/10.1007/s10072-006-0682-z>
- Consortium, T.D.-B.F.X., Bakker, C.E., Verheij, C., Willemsen, R., Helm, R. van der, Oerlemans, F., Vermey, M., Bygrave, A., Hoogeveen, A., Oostra, B.A., Reyniers, E., Boule, K.D., D'Hooge, R., Cras, P., Velzen, D. van, Nagels, G., Martin, J.-J., Deyn, P.P.D., Darby, J.K., Willems, P.J., 1994. Fmr1 knockout mice: A model to study fragile X mental retardation. *Cell* 78, 23–33. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90569-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90569-X)
- Cremer, H., Lange, R., Christoph, A., Plomann, M., Vopper, G., Roes, J., Brown, R., Baldwin, S., Kraemer, P., Scheff, S., 1994. Inactivation of the N-CAM gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 367, 455–459. <https://doi.org/10.1038/367455a0>
- Cronister, A., Schreiner, R., Wittenberger, M., Amiri, K., Harris, K., Hagerman, R.J., 1991. Heterozygous fragile X female: historical, physical, cognitive, and cytogenetic features. *Am. J. Med. Genet.* 38, 269–274. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320380221>
- Darnell, J.C., Jensen, K.B., Jin, P., Brown, V., Warren, S.T., Darnell, R.B., 2001. Fragile X mental retardation protein targets G quartet mRNAs important for neuronal function. *Cell* 107, 489–499. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00566-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00566-9)
- Darnell, J.C., Klann, E., 2013. The translation of translational control by FMRP: therapeutic targets for FXS. *Nat. Neurosci.* 16, 1530–1536. <https://doi.org/10.1038/nn.3379>
- Darnell, J.C., Mostovetsky, O., Darnell, R.B., 2005. FMRP RNA targets: identification and validation. *Genes Brain Behav.* 4, 341–349. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00144.x>
- Darnell, J.C., Van Driesche, S.J., Zhang, C., Hung, K.Y.S., Mele, A., Fraser, C.E., Stone, E.F., Chen, C., Fak, J.J., Chi, S.W., Licatalosi, D.D., Richter, J.D., Darnell, R.B., 2011. FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell* 146, 247–261.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.013>

Davidovic, L., Jaglin, X.H., Lepagnol-Bestel, A.-M., Tremblay, S., Simonneau, M., Bardoni, B., Khandjian, E.W., 2007. The fragile X mental retardation protein is a molecular adaptor between the neurospecific KIF3C kinesin and dendritic RNA granules. *Hum. Mol. Genet.* 16, 3047–3058. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm263>

De Boulle, K., Verkerk, A.J., Reyniers, E., Vits, L., Hendrickx, J., Van Roy, B., Van den Bos, F., de Graaff, E., Oostra, B.A., Willems, P.J., 1993. A point mutation in the FMR-1 gene associated with fragile X mental retardation. *Nat. Genet.* 3, 31–35. <https://doi.org/10.1038/ng0193-31>

De Diego Otero, Y., Severijnen, L.-A., van Cappellen, G., Schrier, M., Oostra, B., Willemsen, R., 2002. Transport of fragile X mental retardation protein via granules in neurites of PC12 cells. *Mol. Cell. Biol.* 22, 8332–8341. <https://doi.org/10.1128/mcb.22.23.8332-8341.2002>

De Rubeis, S., Bagni, C., 2010. Fragile X mental retardation protein control of neuronal mRNA metabolism: Insights into mRNA stability. *Mol. Cell. Neurosci.* 43, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2009.09.013>

De Rubeis, S., Pasciuto, E., Li, K.W., Fernández, E., Di Marino, D., Buzzi, A., Ostroff, L.E., Klann, E., Zwartkruis, F.J.T., Komiyama, N.H., Grant, S.G.N., Poujol, C., Choquet, D., Achsel, T., Posthuma, D., Smit, A.B., Bagni, C., 2013. CYFIP1 coordinates mRNA translation and cytoskeleton remodeling to ensure proper dendritic spine formation. *Neuron* 79, 1169–1182. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.039>

Debrey, S.M., Leehey, M.A., Klepitskaya, O., Filley, C.M., Shah, R.C., Kluger, B., Berry-Kravis, E., Spector, E., Tassone, F., Hall, D.A., 2016. Clinical Phenotype of Adult Fragile X Gray Zone Allele Carriers: a Case Series. *Cerebellum Lond. Engl.* 15, 623–631. <https://doi.org/10.1007/s12311-016-0809-6>

Dehmelt, L., Halpain, S., 2005. The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biol.* 6, 204. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-6-1-204>

Del Río, J.A., González-Billault, C., Ureña, J.M., Jiménez, E.M., Barallobre, M.J., Pascual, M., Pujadas, L., Simó, S., La Torre, A., Wandosell, F., Avila, J., Soriano, E., 2004. MAP1B is required for Netrin 1 signaling in neuronal migration and axonal guidance. *Curr. Biol. CB* 14, 840–850. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.04.046>

Deng, P.-Y., Rotman, Z., Blundon, J.A., Cho, Y., Cui, J., Cavalli, V., Zakharenko, S.S., Klyachko, V.A., 2013. FMRP Regulates Neurotransmitter Release and Synaptic Information Transmission by Modulating Action Potential Duration via BK channels. *Neuron* 77, 696–711. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.018>

Deng, P.-Y., Sojka, D., Klyachko, V.A., 2011. Abnormal Presynaptic Short-Term Plasticity and Information Processing in a Mouse Model of Fragile X Syndrome. *J. Neurosci.* 31, 10971–10982. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2021-11.2011>

Devys, D., Lutz, Y., Rouyer, N., Bellocq, J.-P., Mandel, J.-L., 1993. The FMR-1 protein is cytoplasmic, most abundant in neurons and appears normal in carriers of a fragile X premutation. *Nat. Genet.* 4, 335–340. <https://doi.org/10.1038/ng0893-335>

- Dictenberg, J.B., Swanger, S.A., Antar, L.N., Singer, R.H., Bassell, G.J., 2008. A direct role for FMRP in activity-dependent dendritic mRNA transport links filopodial-spine morphogenesis to fragile X syndrome. *Dev. Cell* 14, 926–939. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.04.003>
- Dimidschstein, J., Passante, L., Dufour, A., van den Aemele, J., Tiberi, L., Hrechdakian, T., Adams, R., Klein, R., Lie, D.C., Jossin, Y., Vanderhaeghen, P., 2013. Ephrin-B1 Controls the Columnar Distribution of Cortical Pyramidal Neurons by Restricting Their Tangential Migration. *Neuron* 79, 1123–1135. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.07.015>
- DiTella, M.C., Feiguin, F., Carri, N., Kosik, K.S., Cáceres, A., 1996. MAP-1B/TAU functional redundancy during laminin-enhanced axonal growth. *J. Cell Sci.* 109 ( Pt 2), 467–477. <https://doi.org/10.1242/jcs.109.2.467>
- Doetsch, F., 2003. A niche for adult neural stem cells. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 13, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2003.08.012>
- Doetsch, F., Caillé, I., Lim, D.A., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1999. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97, 703–716. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80783-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80783-7)
- Dölen, G., Osterweil, E., Shankaranarayana Rao, B.S., Smith, G.B., Auerbach, B.D., Chattarji, S., Bear, M.F., 2007. Correction of fragile X syndrome in mice. *Neuron* 56, 955–962. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.12.001>
- Eberhart, D.E., Malter, H.E., Feng, Y., Warren, S.T., 1996. The fragile X mental retardation protein is a ribonucleoprotein containing both nuclear localization and nuclear export signals. *Hum. Mol. Genet.* 5, 1083–1091. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.8.1083>
- Edmondson, J., Hatten, M., 1987. Glial-guided granule neuron migration in vitro: a high-resolution time-lapse video microscopic study. *J. Neurosci.* 7, 1928–1934. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.07-06-01928.1987>
- Eid, L., Lachance, M., Hickson, G., Rossignol, E., 2018. Ex Utero Electroporation and Organotypic Slice Cultures of Embryonic Mouse Brains for Live-Imaging of Migrating GABAergic Interneurons. *J. Vis. Exp. JoVE* 57526. <https://doi.org/10.3791/57526>
- Eom, T.-Y., Li, J., Anton, E.S., 2010. Going Tubular in the Rostral Migratory Stream: Neurons Remodel Astrocyte Tubes to Promote Directional Migration in the Adult Brain. *Neuron* 67. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.07.013>
- Eom, T.-Y., Stanco, A., Guo, J., Wilkins, G., Deslauriers, D., Yan, J., Monckton, C., Blair, J., Oon, E., Perez, A., Salas, E., Oh, A., Ghukasyan, V., Snider, W.D., Rubenstein, J.L.R., Anton, E.S., 2014. Differential regulation of microtubule severing by APC underlies distinct patterns of projection neuron and interneuron migration. *Dev. Cell* 31, 677–689. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.022>
- Evsyukova, I., Plestant, C., Anton, E.S., 2013. Integrative Mechanisms of Oriented Neuronal Migration in the Developing Brain. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 29, 299–353. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122400>
- Faux, C., Rakic, S., Andrews, W., Britto, J.M., 2012. Neurons on the Move: Migration and

Lamination of Cortical Interneurons. *Neurosignals* 20, 168–189. <https://doi.org/10.1159/000334489>

Feng, Y., Gutekunst, C.A., Eberhart, D.E., Yi, H., Warren, S.T., Hersch, S.M., 1997. Fragile X mental retardation protein: nucleocytoplasmic shuttling and association with somatodendritic ribosomes. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 1539–1547.

Ferrari, F., Mercaldo, V., Piccoli, G., Sala, C., Cannata, S., Achsel, T., Bagni, C., 2007. The fragile X mental retardation protein-RNP granules show an mGluR-dependent localization in the post-synaptic spines. *Mol. Cell. Neurosci.* 34, 343–354. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2006.11.015>

Fischer, I., Romano-Clarke, G., 1991. Association of microtubule-associated protein (MAP1B) with growing axons in cultured hippocampal neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 2, 39–51. [https://doi.org/10.1016/1044-7431\(91\)90038-p](https://doi.org/10.1016/1044-7431(91)90038-p)

Florio, M., Borrell, V., Huttner, W.B., 2017. Human-specific genomic signatures of neocortical expansion. *Curr. Opin. Neurobiol., Developmental neuroscience* 42, 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2016.11.004>

Galvez, R., Greenough, W.T., 2005. Sequence of abnormal dendritic spine development in primary somatosensory cortex of a mouse model of the fragile X mental retardation syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* 135, 155–160. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30709>

Gantois, I., Vandesompele, J., Speleman, F., Reyniers, E., D’Hooge, R., Severijnen, L.-A., Willemsen, R., Tassone, F., Kooy, R.F., 2006. Expression profiling suggests underexpression of the GABA(A) receptor subunit delta in the fragile X knockout mouse model. *Neurobiol. Dis.* 21, 346–357. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.07.017>

García-Pérez, J., Avila, J., Díaz-Nido, J., 1998. Implication of cyclin-dependent kinases and glycogen synthase kinase 3 in the phosphorylation of microtubule-associated protein 1B in developing neuronal cells. *J. Neurosci. Res.* 52, 445–452. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19980515\)52:4<445::AID-JNR8>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19980515)52:4<445::AID-JNR8>3.0.CO;2-9)

Gholizadeh, S., Halder, S.K., Hampson, D.R., 2015. Expression of fragile X mental retardation protein in neurons and glia of the developing and adult mouse brain. *Brain Res.* 1596, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.023>

González-Billault, C., Avila, J., 2000. Molecular genetic approaches to microtubule-associated protein function. *Histol. Histopathol.* 15, 1177–1183. <https://doi.org/10.14670/HH-15.1177>

Gonzalez-Billault, C., Avila, J., Cáceres, A., 2001. Evidence for the role of MAP1B in axon formation. *Mol. Biol. Cell* 12, 2087–2098. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.7.2087>

González-Billault, C., Del Río, J.A., Ureña, J.M., Jiménez-Mateos, E.M., Barallobre, M.J., Pascual, M., Pujadas, L., Simó, S., Torre, A.L., Gavin, R., Wandosell, F., Soriano, E., Avila, J., 2005. A role of MAP1B in Reelin-dependent Neuronal Migration. *Cereb. Cortex* 15, 1134–1145. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh213>

González-Billault, C., Demandt, E., Wandosell, F., Torres, M., Bonaldo, P., Stoykova, A., Chowdhury, K., Gruss, P., Avila, J., Sánchez, M.P., 2000. Perinatal lethality of microtubule-associated protein 1B-deficient mice expressing alternative isoforms of the protein at low

- levels. *Mol. Cell. Neurosci.* 16, 408–421. <https://doi.org/10.1006/mcne.2000.0880>
- González-Billault, C., Engelke, M., Jiménez-Mateos, E.M., Wandosell, F., Cáceres, A., Avila, J., 2002. Participation of structural microtubule-associated proteins (MAPs) in the development of neuronal polarity. *J. Neurosci. Res.* 67, 713–719. <https://doi.org/10.1002/jnr.10161>
- Gonzalez-Billault, C., Jimenez-Mateos, E.M., Caceres, A., Diaz-Nido, J., Wandosell, F., Avila, J., 2004. Microtubule-associated protein 1B function during normal development, regeneration, and pathological conditions in the nervous system. *J. Neurobiol.* 58, 48–59. <https://doi.org/10.1002/neu.10283>
- Goold, R.G., Owen, R., Gordon-Weeks, P.R., 1999. Glycogen synthase kinase 3beta phosphorylation of microtubule-associated protein 1B regulates the stability of microtubules in growth cones. *J. Cell Sci.* 112 ( Pt 19), 3373–3384. <https://doi.org/10.1242/jcs.112.19.3373>
- Greene, L.A., Liem, R.K., Shelanski, M.L., 1983. Regulation of a high molecular weight microtubule-associated protein in PC12 cells by nerve growth factor. *J. Cell Biol.* 96, 76–83. <https://doi.org/10.1083/jcb.96.1.76>
- Gross, C.G., 2000. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat. Rev. Neurosci.* 1, 67–73. <https://doi.org/10.1038/35036235>
- Hack, I., Bancila, M., Loulier, K., Carroll, P., Cremer, H., 2002. Reelin is a detachment signal in tangential chain-migration during postnatal neurogenesis. *Nat. Neurosci.* 5, 939–945. <https://doi.org/10.1038/nn923>
- Hagerman, P., 2013. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS): Pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 126, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1138-1>
- Hagerman, R.J., Berry-Kravis, E., Hazlett, H.C., Bailey, D.B., Moine, H., Kooy, R.F., Tassone, F., Gantois, I., Sonenberg, N., Mandel, J.L., Hagerman, P.J., 2017. Fragile X syndrome. *Nat. Rev. Dis. Primer* 3, 17065. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.65>
- Hagerman, R.J., Berry-Kravis, E., Kaufmann, W.E., Ono, M.Y., Tartaglia, N., Lachiewicz, A., Kronk, R., Delahunty, C., Hessler, D., Visootsak, J., Picker, J., Gane, L., Tranfaglia, M., 2009. Advances in the Treatment of Fragile X Syndrome. *Pediatrics* 123, 378–390. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-0317>
- Hagerman, R.J., Jackson, C., Amiri, K., Silverman, A.C., O'Connor, R., Sobesky, W., 1992. Girls with fragile X syndrome: physical and neurocognitive status and outcome. *Pediatrics* 89, 395–400.
- Halpain, S., Dehmelt, L., 2006. The MAP1 family of microtubule-associated proteins. *Genome Biol.* 7, 224. <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-6-224>
- Hamilton, S.M., Green, J.R., Veeraragavan, S., Yuva, L., McCoy, A., Wu, Y., Warren, J., Little, L., Ji, D., Cui, X., Weinstein, E., Paylor, R., 2014. Fmr1 and Nlgn3 knockout rats: novel tools for investigating autism spectrum disorders. *Behav. Neurosci.* 128, 103–109. <https://doi.org/10.1037/a0035988>
- Hammarback, J.A., Obar, R.A., Hughes, S.M., Vallee, R.B., 1991. MAP1B is encoded as a polyprotein that is processed to form a complex N-terminal microtubule-binding domain. *Neuron* 7, 129–139. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90081-a](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90081-a)

- Hartley, S.L., Seltzer, M.M., Raspa, M., Olmstead, M., Bishop, E., Bailey, D.B., 2011. Exploring the Adult Life of Men and Women With Fragile X Syndrome: Results From a National Survey. *Am. J. Intellect. Dev. Disabil.* 116, 16–35. <https://doi.org/10.1352/1944-7558-116.1.16>
- Hatten, M.E., 2002. New Directions in Neuronal Migration. *Science* 297, 1660–1663. <https://doi.org/10.1126/science.1074572>
- Heins, N., Malatesta, P., Cecconi, F., Nakafuku, M., Tucker, K.L., Hack, M.A., Chapouton, P., Barde, Y.-A., Götz, M., 2002. Glial cells generate neurons: the role of the transcription factor Pax6. *Nat. Neurosci.* 5, 308–315. <https://doi.org/10.1038/nn828>
- Hernandez, R.N., Feinberg, R.L., Vaurio, R., Passanante, N.M., Thompson, R.E., Kaufmann, W.E., 2009. Autism Spectrum Disorder in Fragile X Syndrome: A Longitudinal Evaluation. *Am. J. Med. Genet. A.* 149A, 1125–1137. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32848>
- Hernández-Miranda, L.R., Parnavelas, J.G., Chiara, F., 2010. Molecules and mechanisms involved in the generation and migration of cortical interneurons. *ASN Neuro* 2, e00031. <https://doi.org/10.1042/AN20090053>
- Hessl, D., Rivera, S.M., Reiss, A.L., 2004. The neuroanatomy and neuroendocrinology of fragile X syndrome. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 10, 17–24. <https://doi.org/10.1002/mrdd.20004>
- Hinds, H.L., Ashley, C.T., Sutcliffe, J.S., Nelson, D.L., Warren, S.T., Housman, D.E., Schalling, M., 1993. Tissue specific expression of FMR-1 provides evidence for a functional role in fragile X syndrome. *Nat. Genet.* 3, 36–43. <https://doi.org/10.1038/ng0193-36>
- Hinton, V.J., Brown, W.T., Wisniewski, K., Rudelli, R.D., 1991. Analysis of neocortex in three males with the fragile X syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 41, 289–294. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320410306>
- Hirota, Y., Ohshima, T., Kaneko, N., Ikeda, M., Iwasato, T., Kulkarni, A.B., Mikoshiba, K., Okano, H., Sawamoto, K., 2007. Cyclin-Dependent Kinase 5 Is Required for Control of Neuroblast Migration in the Postnatal Subventricular Zone. *J. Neurosci.* 27, 12829–12838. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1014-07.2007>
- Hodges, J.L., Yu, X., Gilmore, A., Bennett, H., Tjia, M., Perna, J.F., Chen, C.-C., Li, X., Lu, J., Zuo, Y., 2017. Astrocytic contributions to synaptic and learning abnormalities in a mouse model of Fragile X Syndrome. *Biol. Psychiatry* 82, 139–149. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.08.036>
- Hoefl, F., Walter, E., Lightbody, A.A., Hazlett, H.C., Chang, C., Piven, J., Reiss, A.L., 2011. Neuroanatomical differences in toddler boys with fragile X syndrome and idiopathic autism. *Arch. Gen. Psychiatry* 68, 295–305. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.153>
- Hu, H., Tomasiewicz, H., Magnuson, T., Rutishauser, U., 1996. The role of polysialic acid in migration of olfactory bulb interneuron precursors in the subventricular zone. *Neuron* 16, 735–743. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80094-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80094-x)
- Hu, X., Viesselmann, C., Nam, S., Merriam, E., Dent, E.W., 2008. Activity-dependent dynamic microtubule invasion of dendritic spines. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 13094–13105.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3074-08.2008>

Huber, K.M., Gallagher, S.M., Warren, S.T., Bear, M.F., 2002. Altered synaptic plasticity in a mouse model of fragile X mental retardation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 7746–7750. <https://doi.org/10.1073/pnas.122205699>

Huber, K.M., Kayser, M.S., Bear, M.F., 2000. Role for Rapid Dendritic Protein Synthesis in Hippocampal mGluR-Dependent Long-Term Depression. *Science*.

Hummel, T., Krukkert, K., Roos, J., Davis, G., Klämbt, C., 2000. *Drosophila* Futsch/22C10 is a MAP1B-like protein required for dendritic and axonal development. *Neuron* 26, 357–370. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81169-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81169-1)

Hunter, J., Rivero-Arias, O., Angelov, A., Kim, E., Fotheringham, I., Leal, J., 2014. Epidemiology of fragile X syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Med. Genet. A.* 164, 1648–1658. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36511>

Hunter, J.E., Berry-Kravis, E., Hipp, H., Todd, P.K., 1993. FMR1 Disorders, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Stephens, K., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

Hurtado-Chong, A., Yusta-Boyo, M.J., Vergaño-Vera, E., Bulfone, A., Pablo, F.D., Vicario-Abejón, C., 2009. IGF-I promotes neuronal migration and positioning in the olfactory bulb and the exit of neuroblasts from the subventricular zone. *Eur. J. Neurosci.* 30, 742–755. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06870.x>

Irwin, S.A., Patel, B., Idupulapati, M., Harris, J.B., Crisostomo, R.A., Larsen, B.P., Kooy, F., Willems, P.J., Cras, P., Kozlowski, P.B., Swain, R.A., Weiler, I.J., Greenough, W.T., 2001. Abnormal dendritic spine characteristics in the temporal and visual cortices of patients with fragile-X syndrome: a quantitative examination. *Am. J. Med. Genet.* 98, 161–167. [https://doi.org/10.1002/1096-8628\(20010115\)98:2<161::aid-ajmg1025>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/1096-8628(20010115)98:2<161::aid-ajmg1025>3.0.co;2-b)

Jacobs, S., Nathwani, M., Doering, L.C., 2010. Fragile X astrocytes induce developmental delays in dendrite maturation and synaptic protein expression. *BMC Neurosci.* 11, 132. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-132>

Jacquemont, S., Hagerman, R.J., Leehey, M.A., Hall, D.A., Levine, R.A., Brunberg, J.A., Zhang, L., Jardini, T., Gane, L.W., Harris, S.W., Herman, K., Grigsby, J., Greco, C.M., Berry-Kravis, E., Tassone, F., Hagerman, P.J., 2004. Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in a premutation carrier population. *JAMA* 291, 460–469. <https://doi.org/10.1001/jama.291.4.460>

Jankovski, A., Sotelo, C., 1996. Subventricular zone-olfactory bulb migratory pathway in the adult mouse: cellular composition and specificity as determined by heterochronic and heterotopic transplantation. *J. Comp. Neurol.* 371, 376–396. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960729\)371:3<376::AID-CNE3>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960729)371:3<376::AID-CNE3>3.0.CO;2-#)

Jawaid, S., Kidd, G.J., Wang, J., Swetlik, C., Dutta, R., Trapp, B.D., 2018. Alterations in CA1 hippocampal synapses in a mouse model of Fragile X Syndrome. *Glia* 66, 789–800. <https://doi.org/10.1002/glia.23284>

Jaworski, J., Kapitein, L.C., Gouveia, S.M., Dortland, B.R., Wulf, P.S., Grigoriev, I., Camera,

- P., Spangler, S.A., Di Stefano, P., Demmers, J., Krugers, H., Defilippi, P., Akhmanova, A., Hoogenraad, C.C., 2009. Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron* 61, 85–100. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.11.013>
- Jiménez-Mateos, E.M., Wandosell, F., Reiner, O., Avila, J., González-Billault, C., 2005. Binding of microtubule-associated protein 1B to LIS1 affects the interaction between dynein and LIS1. *Biochem. J.* 389, 333–341. <https://doi.org/10.1042/BJ20050244>
- Jung, H., Yoon, B.C., Holt, C.E., 2012. Axonal mRNA localization and local protein synthesis in nervous system assembly, maintenance and repair. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 308–324. <https://doi.org/10.1038/nrn3210>
- Kanai, Y., Dohmae, N., Hirokawa, N., 2004. Kinesin transports RNA: isolation and characterization of an RNA-transporting granule. *Neuron* 43, 513–525. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.07.022>
- Kandel, E.R., Squire, L.R., 2000. Neuroscience: Breaking Down Scientific Barriers to the Study of Brain and Mind. *Science* 290, 1113–1120. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1113>
- Kaneko, N., Sawada, M., Sawamoto, K., 2017. Mechanisms of neuronal migration in the adult brain. *J. Neurochem.* 141, 835–847. <https://doi.org/10.1111/jnc.14002>
- Kao, D.-I., Aldridge, G.M., Weiler, I.J., Greenough, W.T., 2010. Altered mRNA transport, docking, and protein translation in neurons lacking fragile X mental retardation protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 15601–15606. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010564107>
- Kazdoba, T.M., Leach, P.T., Silverman, J.L., Crawley, J.N., 2014. Modeling fragile X syndrome in the Fmr1 knockout mouse. *Intractable Rare Dis. Res.* 3, 118–133. <https://doi.org/10.5582/irdr.2014.01024>
- Kemp, N., Bashir, Z.I., 1999. Induction of LTD in the adult hippocampus by the synaptic activation of AMPA/kainate and metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38, 495–504. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(98\)00222-6](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(98)00222-6)
- Kenneson, A., Zhang, F., Hagedorn, C.H., Warren, S.T., 2001. Reduced FMRP and increased FMR1 transcription is proportionally associated with CGG repeat number in intermediate-length and premutation carriers. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1449–1454. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.14.1449>
- Khandjian, E.W., Fortin, A., Thibodeau, A., Tremblay, S., Côté, F., Devys, D., Mandel, J.L., Rousseau, F., 1995. A heterogeneous set of FMR1 proteins is widely distributed in mouse tissues and is modulated in cell culture. *Hum. Mol. Genet.* 4, 783–789. <https://doi.org/10.1093/hmg/4.5.783>
- Kidd, S.A., Lachiewicz, A., Barbouth, D., Blitz, R.K., Delahunty, C., McBrien, D., Visootsak, J., Berry-Kravis, E., 2014. Fragile X syndrome: a review of associated medical problems. *Pediatrics* 134, 995–1005. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-4301>
- Kim, M., Bellini, M., Ceman, S., 2009. Fragile X mental retardation protein FMRP binds mRNAs in the nucleus. *Mol. Cell. Biol.* 29, 214–228. <https://doi.org/10.1128/MCB.01377-08>
- Kitamura, C., Shirai, K., Inoue, M., Tashiro, T., 2007. Changes in the subcellular distribution of microtubule-associated protein 1B during synaptogenesis of cultured rat cortical neurons.

Cell. Mol. Neurobiol. 27, 57–73. <https://doi.org/10.1007/s10571-006-9117-x>

Koester, M.P., Müller, O., Pollerberg, G.E., 2007. Adenomatous polyposis coli is differentially distributed in growth cones and modulates their steering. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 12590–12600. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2250-07.2007>

Koizumi, H., Higginbotham, H., Poon, T., Tanaka, T., Brinkman, B.C., Gleeson, J.G., 2006. Doublecortin maintains bipolar shape and nuclear translocation during migration in the adult forebrain. *Nat. Neurosci.* 9, 779–786. <https://doi.org/10.1038/nn1704>

Korobova, F., Svitkina, T., 2008. Arp2/3 complex is important for filopodia formation, growth cone motility, and neuritogenesis in neuronal cells. *Mol. Biol. Cell* 19, 1561–1574. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-09-0964>

Kuo, T.-Y., Hong, C.-J., Hsueh, Y.-P., 2009. Bcl11A/CTIP1 regulates expression of DCC and MAP1b in control of axon branching and dendrite outgrowth. *Mol. Cell. Neurosci.* 42, 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2009.07.006>

La Fata, G., Gärtner, A., Domínguez-Iturza, N., Dresselaers, T., Dawitz, J., Poorthuis, R.B., Avena, M., Himmelreich, U., Meredith, R.M., Achsel, T., Dotti, C.G., Bagni, C., 2014. FMRP regulates multipolar to bipolar transition affecting neuronal migration and cortical circuitry. *Nat. Neurosci.* 17, 1693–1700. <https://doi.org/10.1038/nn.3870>

Lachiewicz, A.M., Dawson, D.V., Spiridigliozzi, G.A., 2000. Physical characteristics of young boys with fragile X syndrome: Reasons for difficulties in making a diagnosis in young males. *Am. J. Med. Genet.* 92, 229–236. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(20000605\)92:4<229::AID-AJMG1>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(20000605)92:4<229::AID-AJMG1>3.0.CO;2-K)

Laggerbauer, B., Ostareck, D., Keidel, E.M., Ostareck-Lederer, A., Fischer, U., 2001. Evidence that fragile X mental retardation protein is a negative regulator of translation. *Hum. Mol. Genet.* 10, 329–338. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.4.329>

Lee, F.H.F., Lai, T.K.Y., Su, P., Liu, F., 2019. Altered cortical Cytoarchitecture in the Fmr1 knockout mouse. *Mol. Brain* 12, 56. <https://doi.org/10.1186/s13041-019-0478-8>

Lepiemme, F., Silva, C.G., Nguyen, L., 2021. Time lapse recording of cortical interneuron migration in mouse organotypic brain slices and explants. *STAR Protoc.* 2, 100467. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100467>

Li, Z., Zhang, Y., Ku, L., Wilkinson, K.D., Warren, S.T., Feng, Y., 2001. The fragile X mental retardation protein inhibits translation via interacting with mRNA. *Nucleic Acids Res.* 29, 2276–2283. <https://doi.org/10.1093/nar/29.11.2276>

Lim, D.A., Alvarez-Buylla, A., 2016. The Adult Ventricular-Subventricular Zone (V-SVZ) and Olfactory Bulb (OB) Neurogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018820>

Lim, L., Mi, D., Llorca, A., Marín, O., 2018. Development and Functional Diversification of Cortical Interneurons. *Neuron* 100, 294–313. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.009>

Loehr, J.P., Synhorst, D.P., Wolfe, R.R., Hagerman, R.J., 1986. Aortic root dilatation and mitral valve prolapse in the fragile X syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 23, 189–194. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320230113>

- Lois, C., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1996. Chain migration of neuronal precursors. *Science* 271, 978–981. <https://doi.org/10.1126/science.271.5251.978>
- LoTurco, J.J., Bai, J., 2006. The multipolar stage and disruptions in neuronal migration. *Trends Neurosci.*, Nature and nurture in brain development and neurological disorders 29, 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.05.006>
- Lu, R., Wang, H., Liang, Z., Ku, L., O'donnell, W.T., Li, W., Warren, S.T., Feng, Y., 2004. The fragile X protein controls microtubule-associated protein 1B translation and microtubule stability in brain neuron development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 15201–15206. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404995101>
- Lubs, H.A., 1969. A marker X chromosome. *Am. J. Hum. Genet.* 21, 231–244.
- Lucas, F.R., Goold, R.G., Gordon-Weeks, P.R., Salinas, P.C., 1998. Inhibition of GSK-3beta leading to the loss of phosphorylated MAP-1B is an early event in axonal remodelling induced by WNT-7a or lithium. *J. Cell Sci.* 111 ( Pt 10), 1351–1361. <https://doi.org/10.1242/jcs.111.10.1351>
- Lui, J.H., Hansen, D.V., Kriegstein, A.R., 2011. Development and Evolution of the Human Neocortex. *Cell* 146, 18–36. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.030>
- Lukong, K.E., Chang, K., Khandjian, E.W., Richard, S., 2008. RNA-binding proteins in human genetic disease. *Trends Genet.* TIG 24, 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.05.004>
- Ma, D., Nothias, F., Boyne, L.J., Fischer, I., 1997. Differential regulation of microtubule-associated protein 1B (MAP1B) in rat CNS and PNS during development. *J. Neurosci. Res.* 49, 319–332. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4547\(19970801\)49:3<319::aid-jnr7>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4547(19970801)49:3<319::aid-jnr7>3.0.co;2-f)
- Mack, T.G., Koester, M.P., Pollerberg, G.E., 2000. The microtubule-associated protein MAP1B is involved in local stabilization of turning growth cones. *Mol. Cell. Neurosci.* 15, 51–65. <https://doi.org/10.1006/mcne.1999.0802>
- Malecki, C., Hambly, B.D., Jeremy, R.W., Robertson, E.N., 2020. The RNA-binding fragile-X mental retardation protein and its role beyond the brain. *Biophys. Rev.* 12, 903–916. <https://doi.org/10.1007/s12551-020-00730-4>
- Mansfield, S.G., Diaz-Nido, J., Gordon-Weeks, P.R., Avila, J., 1991. The distribution and phosphorylation of the microtubule-associated protein MAP 1B in growth cones. *J. Neurocytol.* 20, 1007–1022. <https://doi.org/10.1007/BF01187918>
- Marín, O., Rubenstein, J.L.R., 2003. Cell Migration in the Forebrain. *Annu. Rev. Neurosci.* 26, 441–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.26.041002.131058>
- Marín, O., Rubenstein, J.L.R., 2001. A long, remarkable journey: Tangential migration in the telencephalon. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 780–790. <https://doi.org/10.1038/35097509>
- Martin, J.P., Bell, J., 1943. A PEDIGREE OF MENTAL DEFECT SHOWING SEX-LINKAGE. *J. Neurol. Psychiatry* 6, 154–157.
- Martini, F.J., Valiente, M., López Bendito, G., Szabó, G., Moya, F., Valdeolmillos, M., Marín, O., 2009. Biased selection of leading process branches mediates chemotaxis during tangential neuronal migration. *Development* 136, 41–50. <https://doi.org/10.1242/dev.025502>

- Maurin, T., Lebrigand, K., Castagnola, S., Paquet, A., Jarjat, M., Popa, A., Grossi, M., Rage, F., Bardoni, B., 2018. HITS-CLIP in various brain areas reveals new targets and new modalities of RNA binding by fragile X mental retardation protein. *Nucleic Acids Res.* 46, 6344–6355. <https://doi.org/10.1093/nar/gky267>
- McBride, S.M., Bell, A.J., Jongens, T.A., 2012. Behavior in a *Drosophila* model of fragile X. *Results Probl. Cell Differ.* 54, 83–117. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-21649-7\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21649-7_6)
- McBride, S.M.J., Choi, C.H., Wang, Y., Liebelt, D., Braunstein, E., Ferreira, D., Sehgal, A., Siwicki, K.K., Dockendorff, T.C., Nguyen, H.T., McDonald, T.V., Jongens, T.A., 2005. Pharmacological rescue of synaptic plasticity, courtship behavior, and mushroom body defects in a *Drosophila* model of fragile X syndrome. *Neuron* 45, 753–764. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.01.038>
- Meixner, A., Haverkamp, S., Wässle, H., Führer, S., Thalhammer, J., Kropf, N., Bittner, R.E., Lassmann, H., Wiche, G., Propst, F., 2000. MAP1B is required for axon guidance and is involved in the development of the central and peripheral nervous system. *J. Cell Biol.* 151, 1169–1178. <https://doi.org/10.1083/jcb.151.6.1169>
- Michaelsen-Preusse, K., Feuge, J., Korte, M., 2018. Imbalance of synaptic actin dynamics as a key to fragile X syndrome? *J. Physiol.* 596, 2773–2782. <https://doi.org/10.1113/JP275571>
- Mila, M., Alvarez-Mora, M.I., Madrigal, I., Rodriguez-Revenga, L., 2018. Fragile X syndrome: An overview and update of the FMR1 gene. *Clin. Genet.* 93, 197–205. <https://doi.org/10.1111/cge.13075>
- Miyashiro, K.Y., Beckel-Mitchener, A., Purk, T.P., Becker, K.G., Barret, T., Liu, L., Carbonetto, S., Weiler, I.J., Greenough, W.T., Eberwine, J., 2003. RNA cargoes associating with FMRP reveal deficits in cellular functioning in *Fmr1* null mice. *Neuron* 37, 417–431. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00034-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00034-5)
- Moreau, M.X., Saillour, Y., Cwetsch, A.W., Pierani, A., Causeret, F., 2021. Single-cell transcriptomics of the early developing mouse cerebral cortex disentangle the spatial and temporal components of neuronal fate acquisition. *Dev. Camb. Engl.* 148, dev197962. <https://doi.org/10.1242/dev.197962>
- Moreno, F.J., Díaz-Nido, J., Jiménez, J.S., Avila, J., 1999. Distribution of CK2, its substrate MAP1B and phosphatases in neuronal cells. *Mol. Cell. Biochem.* 191, 201–205.
- Muddashetty, R.S., Kelić, S., Gross, C., Xu, M., Bassell, G.J., 2007. Dysregulated metabotropic glutamate receptor-dependent translation of AMPA receptor and postsynaptic density-95 mRNAs at synapses in a mouse model of fragile X syndrome. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 5338–5348. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0937-07.2007>
- Muddashetty, R.S., Nalavadi, V.C., Gross, C., Yao, X., Xing, L., Laur, O., Warren, S.T., Bassell, G.J., 2011. Reversible inhibition of PSD-95 mRNA translation by miR-125a, FMRP phosphorylation and mGluR signaling. *Mol. Cell* 42, 673–688. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.05.006>
- Murase, S., Horwitz, A.F., 2002. Deleted in Colorectal Carcinoma and Differentially Expressed Integrins Mediate the Directional Migration of Neural Precursors in the Rostral Migratory Stream. *J. Neurosci.* 22, 3568–3579. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03568.2002>

- Na, Y., Park, S., Lee, C., Kim, D.-K., Park, J.M., Sockanathan, S., Haganir, R.L., Worley, P.F., 2016. Real-Time Imaging Reveals Properties of Glutamate-Induced Arc/Arg 3.1 Translation in Neuronal Dendrites. *Neuron* 91, 561–573. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.017>
- Nadarajah, B., Alifragis, P., Wong, R.O.L., Parnavelas, J.G., 2002. Ventricle-directed migration in the developing cerebral cortex. *Nat. Neurosci.* 5, 218–224. <https://doi.org/10.1038/nm813>
- Ng, K.L., Li, J.-D., Cheng, M.Y., Leslie, F.M., Lee, A.G., Zhou, Q.-Y., 2005. Dependence of Olfactory Bulb Neurogenesis on Prokineticin 2 Signaling. *Science* 308, 1923–1927. <https://doi.org/10.1126/science.1112103>
- Nguyen-Ba-Charvet, K.T., Picard-Riera, N., Tessier-Lavigne, M., Baron-Van Evercooren, A., Sotelo, C., Chédotal, A., 2004. Multiple Roles for Slits in the Control of Cell Migration in the Rostral Migratory Stream. *J. Neurosci.* 24, 1497–1506. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4729-03.2004>
- Noble, M., Lewis, S.A., Cowan, N.J., 1989. The microtubule binding domain of microtubule-associated protein MAP1B contains a repeated sequence motif unrelated to that of MAP2 and tau. *J. Cell Biol.* 109, 3367–3376. <https://doi.org/10.1083/jcb.109.6.3367>
- Noctor, S.C., Martínez-Cerdeño, V., Ivic, L., Kriegstein, A.R., 2004. Cortical neurons arise in symmetric and asymmetric division zones and migrate through specific phases. *Nat. Neurosci.* 7, 136–144. <https://doi.org/10.1038/nm1172>
- Noiges, R., Eichinger, R., Kutschera, W., Fischer, I., Nemeth, Z., Wiche, G., Propst, F., 2002. Microtubule-associated protein 1A (MAP1A) and MAP1B: light chains determine distinct functional properties. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 2106–2114. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-06-02106.2002>
- Nolin, S.L., Glicksman, A., Ding, X., Ersalesi, N., Brown, W.T., Sherman, S.L., Dobkin, C., 2011. Fragile X analysis of 1112 prenatal samples from 1991 to 2010. *Prenat. Diagn.* 31, 925–931. <https://doi.org/10.1002/pd.2815>
- Nosyreva, E.D., Huber, K.M., 2006. Metabotropic Receptor-Dependent Long-Term Depression Persists in the Absence of Protein Synthesis in the Mouse Model of Fragile X Syndrome. *J. Neurophysiol.* 95, 3291–3295. <https://doi.org/10.1152/jn.01316.2005>
- Ohashi, S., Koike, K., Omori, A., Ichinose, S., Ohara, S., Kobayashi, S., Sato, T.-A., Anzai, K., 2002. Identification of mRNA/protein (mRNP) complexes containing Puralpha, mStaufen, fragile X protein, and myosin Va and their association with rough endoplasmic reticulum equipped with a kinesin motor. *J. Biol. Chem.* 277, 37804–37810. <https://doi.org/10.1074/jbc.M203608200>
- Ohshima, T., Hirasawa, M., Tabata, H., Mutoh, T., Adachi, T., Suzuki, H., Saruta, K., Iwasato, T., Itohara, S., Hashimoto, M., Nakajima, K., Ogawa, M., Kulkarni, A.B., Mikoshiba, K., 2007. Cdk5 is required for multipolar-to-bipolar transition during radial neuronal migration and proper dendrite development of pyramidal neurons in the cerebral cortex. *Development* 134, 2273–2282. <https://doi.org/10.1242/dev.02854>
- Olsson, A.-K., Dimberg, A., Kreuger, J., Claesson-Welsh, L., 2006. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 359–371.

<https://doi.org/10.1038/nrm1911>

O'Rourke, N.A., Dailey, M.E., Smith, S.J., McConnell, S.K., 1992. Diverse migratory pathways in the developing cerebral cortex. *Science* 258, 299–302. <https://doi.org/10.1126/science.1411527>

Orphanet: Recherche de maladies [WWW Document], n.d. URL [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=FR&data\\_id=120&maladie=Syndrome-de-l-X-fragile&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=120&maladie=Syndrome-de-l-X-fragile&search=Disease_Search_Simple) (accessed 4.27.20).

Pacey, L.K.K., Xuan, I.C.Y., Guan, S., Sussman, D., Henkelman, R.M., Chen, Y., Thomsen, C., Hampson, D.R., 2013. Delayed myelination in a mouse model of fragile X syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 22, 3920–3930. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt246>

Paredes, M.F., James, D., Gil-Perotin, S., Kim, H., Cotter, J.A., Ng, C., Sandoval, K., Rowitch, D.H., Xu, D., McQuillen, P.S., Garcia-Verdugo, J.-M., Huang, E.J., Alvarez-Buylla, A., 2016. Extensive migration of young neurons into the infant human frontal lobe. *Science* 354. <https://doi.org/10.1126/science.aaf7073>

Pedrotti, B., Islam, K., 1995. Microtubule associated protein 1B (MAP1B) promotes efficient tubulin polymerisation in vitro. *FEBS Lett.* 371, 29–31. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00842-w](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00842-w)

Peretto, P., Giachino, C., Aimar, P., Fasolo, A., Bonfanti, L., 2005. Chain formation and glial tube assembly in the shift from neonatal to adult subventricular zone of the rodent forebrain. *J. Comp. Neurol.* 487, 407–427. <https://doi.org/10.1002/cne.20576>

Pieretti, M., Zhang, F.P., Fu, Y.H., Warren, S.T., Oostra, B.A., Caskey, C.T., Nelson, D.L., 1991. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome. *Cell* 66, 817–822. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90125-i](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90125-i)

Pixley, S.K.R., de Vellis, J., 1984. Transition between immature radial glia and mature astrocytes studied with a monoclonal antibody to vimentin. *Dev. Brain Res.* 15, 201–209. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(84\)90097-X](https://doi.org/10.1016/0165-3806(84)90097-X)

Poduri, A., Volpe, J.J., 2018. Chapter 6 - Neuronal Migration, in: Volpe, J.J., Inder, T.E., Darras, B.T., de Vries, L.S., du Plessis, A.J., Neil, J.J., Perlman, J.M. (Eds.), *Volpe's Neurology of the Newborn (Sixth Edition)*. Elsevier, pp. 120-144.e8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42876-7.00006-5>

Powell, E.M., Geller, H.M., 1999. Dissection of astrocyte-mediated cues in neuronal guidance and process extension. *Glia* 26, 73–83. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1136\(199903\)26:1<73::aid-glia8>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1136(199903)26:1<73::aid-glia8>3.0.co;2-s)

Primerano, B., Tassone, F., Hagerman, R.J., Hagerman, P., Amaldi, F., Bagni, C., 2002. Reduced FMR1 mRNA translation efficiency in fragile X patients with premutations. *RNA* 8, 1482–1488.

Rakic, P., 2009. Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 724–735. <https://doi.org/10.1038/nrn2719>

Rakic, P., 1974. Neurons in Rhesus Monkey Visual Cortex: Systematic Relation between Time

of Origin and Eventual Disposition. *Science* 183, 425–427. <https://doi.org/10.1126/science.183.4123.425>

Rakic, P., 1972. Extrinsic cytological determinants of basket and stellate cell dendritic pattern in the cerebellar molecular layer. *J. Comp. Neurol.* 146, 335–354. <https://doi.org/10.1002/cne.901460304>

Ramos, A., Hollingworth, D., Pastore, A., 2003. G-quartet-dependent recognition between the FMRP RGG box and RNA. *RNA N. Y. N* 9, 1198–1207. <https://doi.org/10.1261/rna.5960503>

Reillo, I., de Juan Romero, C., García-Cabezas, M.Á., Borrell, V., 2011. A Role for Intermediate Radial Glia in the Tangential Expansion of the Mammalian Cerebral Cortex. *Cereb. Cortex* 21, 1674–1694. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq238>

Richter, J.D., Zhao, X., 2021. The Molecular Biology of FMRP: New Insights into Fragile X Syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* 22, 209–222. <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00432-0>

Ridley, A.J., Schwartz, M.A., Burridge, K., Firtel, R.A., Ginsberg, M.H., Borisy, G., Parsons, J.T., Horwitz, A.R., 2003. Cell Migration: Integrating Signals from Front to Back. *Science* 302, 1704–1709. <https://doi.org/10.1126/science.1092053>

Riederer, B., Cohen, R., Matus, A., 1986. MAP5: a novel brain microtubule-associated protein under strong developmental regulation. *J. Neurocytol.* 15, 763–775. <https://doi.org/10.1007/BF01625193>

Roos, J., Hummel, T., Ng, N., Klämbt, C., Davis, G.W., 2000. *Drosophila* Futsch regulates synaptic microtubule organization and is necessary for synaptic growth. *Neuron* 26, 371–382. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81170-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81170-8)

Russo, V.C., Gluckman, P.D., Feldman, E.L., Werther, G.A., 2005. The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain. *Endocr. Rev.* 26, 916–943. <https://doi.org/10.1210/er.2004-0024>

Safaei, R., Fischer, I., 1989. Cloning of a cDNA encoding MAP1B in rat brain: regulation of mRNA levels during development. *J. Neurochem.* 52, 1871–1879. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1989.tb07270.x>

Saffary, R., Xie, Z., 2011. FMRP Regulates the Transition from Radial Glial Cells to Intermediate Progenitor Cells during Neocortical Development. *J. Neurosci.* 31, 1427–1439. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4854-10.2011>

Saghatelian, A., de Chevigny, A., Schachner, M., Lledo, P.-M., 2004. Tenascin-R mediates activity-dependent recruitment of neuroblasts in the adult mouse forebrain. *Nat. Neurosci.* 7, 347–356. <https://doi.org/10.1038/nn1211>

Saldarriaga, W., Tassone, F., González-Teshima, L.Y., Forero-Forero, J.V., Ayala-Zapata, S., Hagerman, R., 2014. Fragile X syndrome. *Colomb. Medica Cali Colomb.* 45, 190–198.

San Miguel-Ruiz, J.E., Letourneau, P.C., 2014. The Role of Arp2/3 in Growth Cone Actin Dynamics and Guidance Is Substrate Dependent. *J. Neurosci.* 34, 5895–5908. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0672-14.2014>

Sanai, N., Nguyen, T., Ihrie, R.A., Mirzadeh, Z., Tsai, H.-H., Wong, M., Gupta, N., Berger,

- M.S., Huang, E., Garcia-Verdugo, J.-M., Rowitch, D.H., Alvarez-Buylla, A., 2011. Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature* 478, 382–386. <https://doi.org/10.1038/nature10487>
- Sanai, N., Tramontin, A.D., Quiñones-Hinojosa, A., Barbaro, N.M., Gupta, N., Kunwar, S., Lawton, M.T., McDermott, M.W., Parsa, A.T., Manuel-García Verdugo, J., Berger, M.S., Alvarez-Buylla, A., 2004. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature* 427, 740–744. <https://doi.org/10.1038/nature02301>
- Sansone, S.M., Schneider, A., Bickel, E., Berry-Kravis, E., Prescott, C., Hessler, D., 2014. Improving IQ measurement in intellectual disabilities using true deviation from population norms. *J. Neurodev. Disord.* 6, 16. <https://doi.org/10.1186/1866-1955-6-16>
- Santoro, M.R., Bray, S.M., Warren, S.T., 2012. Molecular mechanisms of fragile X syndrome: a twenty-year perspective. *Annu. Rev. Pathol.* 7, 219–245. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132457>
- Sato-Yoshitake, R., Shiomura, Y., Miyasaka, H., Hirokawa, N., 1989. Microtubule-associated protein 1B: molecular structure, localization, and phosphorylation-dependent expression in developing neurons. *Neuron* 3, 229–238. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90036-6](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90036-6)
- Schaar, B.T., McConnell, S.K., 2005. Cytoskeletal coordination during neuronal migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 13652–13657. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506008102>
- Schoenfeld, T.A., McKerracher, L., Obar, R., Vallee, R.B., 1989. MAP 1A and MAP 1B are structurally related microtubule associated proteins with distinct developmental patterns in the CNS. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 9, 1712–1730. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-05-01712.1989>
- Selby, L., Zhang, C., Sun, Q.-Q., 2007. Major Defects in Neocortical GABAergic Inhibitory Circuits in Mice Lacking the Fragile X Mental Retardation Protein. *Neurosci. Lett.* 412, 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.11.062>
- Sherman, S.L., 2000. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 97, 189–194. [https://doi.org/10.1002/1096-8628\(200023\)97:3<189::AID-AJMG1036>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1096-8628(200023)97:3<189::AID-AJMG1036>3.0.CO;2-J)
- Shinohara, R., Thumkeo, D., Kamijo, H., Kaneko, N., Sawamoto, K., Watanabe, K., Takebayashi, H., Kiyonari, H., Ishizaki, T., Furuyashiki, T., Narumiya, S., 2012. A role for mDia, a Rho-regulated actin nucleator, in tangential migration of interneuron precursors. *Nat. Neurosci.* 15, 373–380, S1-2. <https://doi.org/10.1038/nn.3020>
- Shirao, T., González-Billault, C., 2013. Actin filaments and microtubules in dendritic spines. *J. Neurochem.* 126, 155–164. <https://doi.org/10.1111/jnc.12313>
- Silva, C.G., Peyre, E., Adhikari, M.H., Tielens, S., Tanco, S., Van Damme, P., Magno, L., Krusy, N., Agirman, G., Magiera, M.M., Kessaris, N., Malgrange, B., Andrieux, A., Janke, C., Nguyen, L., 2018. Cell-Intrinsic Control of Interneuron Migration Drives Cortical Morphogenesis. *Cell* 172, 1063-1078.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.031>
- Siomi, H., Siomi, M.C., Nussbaum, R.L., Dreyfuss, G., 1993. The protein product of the fragile X gene, FMR1, has characteristics of an RNA-binding protein. *Cell* 74, 291–298.

[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90420-U](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90420-U)

Sittler, A., Devys, D., Weber, C., Mandel, J.L., 1996. Alternative splicing of exon 14 determines nuclear or cytoplasmic localisation of *fmr1* protein isoforms. *Hum. Mol. Genet.* 5, 95–102. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.1.95>

Smith, L.E., Hong, J., Greenberg, J.S., Mailick, M.R., 2016. Change in the Behavioral Phenotype of Adolescents and Adults with FXS: Role of the Family Environment. *J. Autism Dev. Disord.* 46, 1824–1833. <https://doi.org/10.1007/s10803-016-2714-8>

Sreeram, N., Wren, C., Bhate, M., Robertson, P., Hunter, S., 1989. Cardiac abnormalities in the fragile X syndrome. *Br. Heart J.* 61, 289–291. <https://doi.org/10.1136/hrt.61.3.289>

Sullivan, K., Hatton, D., Hammer, J., Sideris, J., Hooper, S., Ornstein, P., Bailey, D., 2006. ADHD symptoms in children with FXS. *Am. J. Med. Genet. A.* 140A, 2275–2288. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31388>

Sun, W., Kim, H., Moon, Y., 2010. Control of neuronal migration through rostral migratory stream in mice. *Anat. Cell Biol.* 43, 269–279. <https://doi.org/10.5115/acb.2010.43.4.269>

Suraneni, P., Rubinstein, B., Unruh, J.R., Durnin, M., Hanein, D., Li, R., 2012. The Arp2/3 complex is required for lamellipodia extension and directional fibroblast cell migration. *J. Cell Biol.* 197, 239–251. <https://doi.org/10.1083/jcb.201112113>

Tabata, H., Nakajima, K., 2003. Multipolar Migration: The Third Mode of Radial Neuronal Migration in the Developing Cerebral Cortex. *J. Neurosci.* 23, 9996–10001. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-31-09996.2003>

Takei, Y., Teng, J., Harada, A., Hirokawa, N., 2000. Defects in axonal elongation and neuronal migration in mice with disrupted *tau* and *map1b* genes. *J. Cell Biol.* 150, 989–1000. <https://doi.org/10.1083/jcb.150.5.989>

Takemura, R., Okabe, S., Umeyama, T., Kanai, Y., Cowan, N.J., Hirokawa, N., 1992. Increased microtubule stability and alpha tubulin acetylation in cells transfected with microtubule-associated proteins MAP1B, MAP2 or tau. *J. Cell Sci.* 103 ( Pt 4), 953–964. <https://doi.org/10.1242/jcs.103.4.953>

Talisa, V.B., Boyle, L., Crafa, D., Kaufmann, W.E., 2014. Autism and anxiety in males with fragile X syndrome: an exploratory analysis of neurobehavioral profiles from a parent survey. *Am. J. Med. Genet. A.* 164A, 1198–1203. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36468>

Tanaka, D.H., Maekawa, K., Yanagawa, Y., Obata, K., Murakami, F., 2006. Multidirectional and multizonal tangential migration of GABAergic interneurons in the developing cerebral cortex. *Development* 133, 2167–2176. <https://doi.org/10.1242/dev.02382>

Tanaka, T., Serneo, F.F., Higgins, C., Gambello, M.J., Wynshaw-Boris, A., Gleeson, J.G., 2004. *Lis1* and doublecortin function with dynein to mediate coupling of the nucleus to the centrosome in neuronal migration. *J. Cell Biol.* 165, 709–721. <https://doi.org/10.1083/jcb.200309025>

Tatavarty, V., Ifrim, M.F., Levin, M., Korza, G., Barbarese, E., Yu, J., Carson, J.H., 2012. Single-molecule imaging of translational output from individual RNA granules in neurons. *Mol. Biol. Cell* 23, 918–929. <https://doi.org/10.1091/mbc.E11-07-0622>

- Tervonen, T.A., Louhivuori, V., Sun, X., Hokkanen, M.-E., Kratochwil, C.F., Zebryk, P., Castrén, E., Castrén, M.L., 2009. Aberrant differentiation of glutamatergic cells in neocortex of mouse model for fragile X syndrome. *Neurobiol. Dis.* 33, 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.010>
- Torii, M., Hashimoto-Torii, K., Levitt, P., Rakic, P., 2009. Integration of neuronal clones in the radial cortical columns by EphA/ephrin-A signaling. *Nature* 461, 524–528. <https://doi.org/10.1038/nature08362>
- Tortosa, E., Galjart, N., Avila, J., Sayas, C.L., 2013. MAP1B regulates microtubule dynamics by sequestering EB1/3 in the cytosol of developing neuronal cells. *EMBO J.* 32, 1293–1306. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.76>
- Tortosa, E., Montenegro-Venegas, C., Benoist, M., Härtel, S., González-Billault, C., Esteban, J.A., Avila, J., 2011. Microtubule-associated protein 1B (MAP1B) is required for dendritic spine development and synaptic maturation. *J. Biol. Chem.* 286, 40638–40648. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.271320>
- Tucker, B., Richards, R., Lardelli, M., 2004. Expression of three zebrafish orthologs of human FMR1-related genes and their phylogenetic relationships. *Dev. Genes Evol.* 214, 567–574. <https://doi.org/10.1007/s00427-004-0438-9>
- Tucker, R.P., Binder, L.I., Matus, A.I., 1988. Neuronal microtubule-associated proteins in the embryonic avian spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 271, 44–55. <https://doi.org/10.1002/cne.902710106>
- Tucker, R.P., Garner, C.C., Matus, A., 1989. In situ localization of microtubule-associated protein mRNA in the developing and adult rat brain. *Neuron* 2, 1245–1256. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90309-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90309-7)
- Tymanskyj, S.R., Scales, T.M.E., Gordon-Weeks, P.R., 2012. MAP1B enhances microtubule assembly rates and axon extension rates in developing neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 49, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2011.10.003>
- Ulloa, L., Avila, J., Díaz-Nido, J., 1993a. Heterogeneity in the phosphorylation of microtubule-associated protein MAP1B during rat brain development. *J. Neurochem.* 61, 961–972. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb03609.x>
- Ulloa, L., Díez-Guerra, F.J., Avila, J., Díaz-Nido, J., 1994a. Localization of differentially phosphorylated isoforms of microtubule-associated protein 1B in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroscience* 61, 211–223. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90225-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90225-9)
- Ulloa, L., Dombrádi, V., Díaz-Nido, J., Szücs, K., Gergely, P., Friedrich, P., Avila, J., 1993b. Dephosphorylation of distinct sites on microtubule-associated protein MAP1B by protein phosphatases 1, 2A and 2B. *FEBS Lett.* 330, 85–89. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80925-k](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80925-k)
- Ulloa, L., Ibarrola, N., Avila, J., Díez-Guerra, F.J., 1994b. Microtubule-associated protein 1B (MAP1B) is present in glial cells phosphorylated different than in neurones. *Glia* 10, 266–275. <https://doi.org/10.1002/glia.440100405>
- Umeshima, H., Hirano, T., Kengaku, M., 2007. Microtubule-based nuclear movement occurs

independently of centrosome positioning in migrating neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 16182–16187. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708047104>

Utari, A., Adams, E., Berry-Kravis, E., Chavez, A., Scaggs, F., Ngotran, L., Boyd, A., Hessler, D., Gane, L.W., Tassone, F., Tartaglia, N., Leehey, M.A., Hagerman, R.J., 2010. Aging in fragile X syndrome. *J. Neurodev. Disord.* 2, 70–76. <https://doi.org/10.1007/s11689-010-9047-2>

Utreras, E., Jiménez-Mateos, E.M., Contreras-Vallejos, E., Tortosa, E., Pérez, M., Rojas, S., Saragoni, L., Maccioni, R.B., Avila, J., González-Billault, C., 2008. Microtubule-associated protein 1B interaction with tubulin tyrosine ligase contributes to the control of microtubule tyrosination. *Dev. Neurosci.* 30, 200–210. <https://doi.org/10.1159/000109863>

Valcanis, H., Tan, S.-S., 2003. Layer Specification of Transplanted Interneurons in Developing Mouse Neocortex. *J. Neurosci.* 23, 5113–5122. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-12-05113.2003>

Vandecandelaere, A., Pedrotti, B., Utton, M.A., Calvert, R.A., Bayley, P.M., 1996. Differences in the regulation of microtubule dynamics by microtubule-associated proteins MAP1B and MAP2. *Cell Motil. Cytoskeleton* 35, 134–146. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0169\(1996\)35:2<134::AID-CM6>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0169(1996)35:2<134::AID-CM6>3.0.CO;2-A)

Verheij, C., de Graaff, E., Bakker, C.E., Willemsen, R., Willems, P.J., Meijer, N., Galjaard, H., Reuser, A.J., Oostra, B.A., Hoogeveen, A.T., 1995. Characterization of FMR1 proteins isolated from different tissues. *Hum. Mol. Genet.* 4, 895–901. <https://doi.org/10.1093/hmg/4.5.895>

Verkerk, A.J., Pieretti, M., Sutcliffe, J.S., Fu, Y.H., Kuhl, D.P., Pizzuti, A., Reiner, O., Richards, S., Victoria, M.F., Zhang, F.P., 1991. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 65, 905–914. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90397-h](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90397-h)

Villarroel-Campos, D., Gonzalez-Billault, C., 2014. The MAP1B case: an old MAP that is new again. *Dev. Neurobiol.* 74, 953–971. <https://doi.org/10.1002/dneu.22178>

Weber, J.D., Smith, E., Berry-Kravis, E., Cadavid, D., Hessler, D., Erickson, C., 2019. Voice of People with Fragile X Syndrome and Their Families: Reports from a Survey on Treatment Priorities. *Brain Sci.* 9. <https://doi.org/10.3390/brainsci9020018>

Weiler, I.J., Irwin, S.A., Klintsova, A.Y., Spencer, C.M., Brazelton, A.D., Miyashiro, K., Comery, T.A., Patel, B., Eberwine, J., Greenough, W.T., 1997. Fragile X mental retardation protein is translated near synapses in response to neurotransmitter activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 5395–5400. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.10.5395>

Wichterle, H., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1997. Direct evidence for homotypic, glia-independent neuronal migration. *Neuron* 18, 779–791. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80317-7](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80317-7)

Willemsen, R., Bontekoe, C., Tamanini, F., Galjaard, H., Hoogeveen, A., Oostra, B., 1996. Association of FMRP with ribosomal precursor particles in the nucleolus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 225, 27–33. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.1126>

Wittko, I.M., Schänzer, A., Kuzmichev, A., Schneider, F.T., Shibuya, M., Raab, S., Plate, K.H.,

2009. VEGFR-1 Regulates Adult Olfactory Bulb Neurogenesis and Migration of Neural Progenitors in the Rostral Migratory Stream In Vivo. *J. Neurosci.* 29, 8704–8714. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5527-08.2009>
- Wu, C., Zhang, X., Chen, P., Ruan, X., Liu, W., Li, Y., Sun, C., Hou, L., Yin, B., Qiang, B., Shu, P., Peng, X., 2019. MicroRNA-129 modulates neuronal migration by targeting *Fmr1* in the developing mouse cortex. *Cell Death Dis.* 10, 287. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1517-1>
- Wu, W., Wong, K., Chen, J., Jiang, Z., Dupuis, S., Wu, J.Y., Rao, Y., 1999. Directional guidance of neuronal migration in the olfactory system by the protein Slit. *Nature* 400, 331–336. <https://doi.org/10.1038/22477>
- Yan, Q.J., Rammal, M., Tranfaglia, M., Bauchwitz, R.P., 2005. Suppression of two major Fragile X Syndrome mouse model phenotypes by the mGluR5 antagonist MPEP. *Neuropharmacology* 49, 1053–1066. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.06.004>
- Yokota, Y., Ghashghaei, H.T., Han, C., Watson, H., Campbell, K.J., Anton, E.S., 2007. Radial Glial Dependent and Independent Dynamics of Interneuronal Migration in the Developing Cerebral Cortex. *PLOS ONE* 2, e794. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000794>
- Zalfa, F., Eleuteri, B., Dickson, K.S., Mercaldo, V., De Rubeis, S., di Penta, A., Tabolacci, E., Chiurazzi, P., Neri, G., Grant, S.G.N., Bagni, C., 2007. A new function for the fragile X mental retardation protein in regulation of PSD-95 mRNA stability. *Nat. Neurosci.* 10, 578–587. <https://doi.org/10.1038/nm1893>
- Zalfa, F., Giorgi, M., Primerano, B., Moro, A., Di Penta, A., Reis, S., Oostra, B., Bagni, C., 2003. The fragile X syndrome protein FMRP associates with BC1 RNA and regulates the translation of specific mRNAs at synapses. *Cell* 112, 317–327. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00079-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00079-5)
- Zarnescu, D.C., Shan, G., Warren, S.T., Jin, P., 2005. Come FLY with us: toward understanding fragile X syndrome. *Genes Brain Behav.* 4, 385–392. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00136.x>
- Zauner, W., Kratz, J., Staunton, J., Feick, P., Wiche, G., 1992. Identification of two distinct microtubule binding domains on recombinant rat MAP 1B. *Eur. J. Cell Biol.* 57, 66–74.
- Zecevic, N., Chen, Y., Filipovic, R., 2005. Contributions of cortical subventricular zone to the development of the human cerebral cortex. *J. Comp. Neurol.* 491, 109–122. <https://doi.org/10.1002/cne.20714>
- Zhang, Y.Q., Bailey, A.M., Matthies, H.J., Renden, R.B., Smith, M.A., Speese, S.D., Rubin, G.M., Broadie, K., 2001. Drosophila fragile X-related gene regulates the MAP1B homolog Futsch to control synaptic structure and function. *Cell* 107, 591–603. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00589-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00589-x)
- Zukin, R.S., Richter, J.D., Bagni, C., 2009. Signals, synapses, and synthesis: how new proteins control plasticity. *Front. Neural Circuits* 3, 14. <https://doi.org/10.3389/neuro.04.014.2009>

## Résumé

Le syndrome de l’X fragile est une maladie génétique rare. C’est la première cause de déficience intellectuelle et la principale cause monogénique d’autisme. Le syndrome de l’X fragile est causé par l’extinction du gène FMR1 (Fragile X Mental Retardation 1) qui conduit à l’absence de la protéine FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein). FMRP est impliquée dans de nombreux processus moléculaires neuronaux. FMRP possède plusieurs domaines de liaison à l’ARNm et l’une de ses fonctions est la régulation de la traduction locale de ses cibles ARNms.

La migration neuronale est un phénomène crucial du développement cérébral. Cette étape fondamentale permet aux neurones naissant dans les zones progénitrices d’atteindre leur zone finale d’intégration. Les défauts de migration peuvent mener à de sévères pathologies.

Le rôle de FMRP dans la migration tangentielle des neurones n’a pas été exploré jusqu’alors. Nous avons donc étudié les conséquences de l’absence de FMRP sur la migration tangentielle, en utilisant le modèle murin *Fmr1-null* et un système de migration tangentielle postnatale bien documenté : le Courant de Migration Rostrale ou CMR.

Nous avons découvert de nouveaux défauts de migration induits par l’absence de FMRP : dans le CMR des souris *Fmr1-null*, les neurones migrent plus lentement et ont une trajectoire plus erratique. Ces défauts sont associés à des défauts de mouvement du centrosome des neurones mutants. De plus, nous montrons que ces défauts sont cellulaire-autonomes. Enfin, nous montrons que la cible ARNm de FMRP incriminée dans ces défauts est MAP1B ((Microtubule-Associated Protein 1B) ce qui nous a permis d’établir un sauvetage du phénotype migratoire par down-régulation de MAP1B. De manière intéressante, nous n’avons pas retrouvé les mêmes défauts de migration dans la migration tangentielle embryonnaire.

En conclusion, la caractérisation des défauts de migration tangentielle en l’absence de FMRP pourrait contribuer à une meilleure compréhension du syndrome de l’X fragile et à l’ouverture potentielle de nouvelles perspectives thérapeutiques.