



NAVIGATE 2022

Résumés de présentation

11 Août 2022

10h à 12h30 / 13h30 à 16h00

Hall E du centre du recherche CERVO

Organisé par



CERVOLET

Et avec le support de



Présentation #1

Magnétométrie quantique à l'aide de défauts dans le diamant

CHARLAND Thomas¹, CÔTÉ Daniel¹

[1] Centre de recherche CERVO

Le projet consiste à me familiariser et à faire des essais expérimentaux avec le concept de mesure de champs magnétiques en utilisant le centre NV, un défaut présent dans la structure cristalline de diamant. Cela est fait dans l'optique, à long terme, de développer un appareil de magnétoencéphalographie pouvant imager l'activité neuronale du cerveau en détectant les champs magnétiques infimes émanant de la propagation des potentiels d'actions entre les neurones. Mon travail consiste à établir les fondations théoriques et expérimentales d'un tel projet, qui s'étendra sur plusieurs années.

Caractérisation de la réponse de capteurs d'irradiance solaire

PHILIBERT Simon-Olivier^{1,2,3}, QUÉMENER Mireille^{1,2,3}, CÔTÉ Daniel^{1,2,3}, DOMINÉ Florent^{1,4}

[1] Université Laval

[2] Centre d'optique, photonique et laser (COPL)

[3] Centre de recherche CERVO

[4] Laboratoire de Recherche International Takuvik

Dans le cadre du Projet expérimentiel Neige, des capteurs d'irradiance ont été fabriqués avec une photodiode, de la fibre optique de plastique et une bille dépolie de polystyrène. Déployés à la forêt Montmorency durant l'hiver 2020, ces capteurs ont acquis des données d'irradiance solaire qui doivent être corrigées selon leur réponse. La caractérisation de la réponse des capteurs a ainsi pour objectif de corriger les données à des fins d'analyse, mais permet aussi d'évaluer le potentiel d'utilisation de ces capteurs peu coûteux et simples de fabrication. La réponse des capteurs est mesurée avec succès en laboratoire, mais elle ne correspond pas à la réponse cosinus voulue d'un capteur d'irradiance solaire dispendieux. En considérant les conditions d'éclairement solaire durant le Projet expérimentiel Neige, les données peuvent être corrigées selon cette réponse. Cette correction supplémentaire des données réduit le potentiel d'utilisation de ces capteurs.

Présentation #3

Conception d'un microscope polyvalent à grand champ de sources ouvertes muni d'un spectromètre ponctuel

CHALIFOUR Médéric¹, QUÉMENER Mireille¹, CÔTÉ Daniel C.¹

[1] Centre de recherche CERVO

Le projet consiste à développer un microscope polyvalent et facile d'utilisation. L'objectif étant d'avoir accès et de pouvoir distribuer un outils fiable et simple.

Ce système comprend 2 systèmes d'illumination, soit en transmission et en réflexion, éclairé par DEL. Ces deux systèmes optiques sont ajustable pour obtenir l'illumination de Kohler. En plus d'un réglage électrique, des diaphragmes de champs et d'ouverture permettent de contrôler l'illumination.

Afin de faciliter sa distribution, plusieurs éléments, dont la tourelle porte-objectifs, sont imprimés en 3D. Cette dernière composante permet d'ailleurs de changer 4 objectifs avec facilité.

Le microscope est doté de la caméra ZWO ASI183MM Pro (mono). La grandeur du champs de l'image est déterminé par le critère de Nyquist appliqué à la résolution d'un objectif 20X.

Un spectromètre permettant de mesurer le spectre d'un point de l'image est installé en parallèle. Ce dernier est disposer sur un rail comprenant en ensemble d'encodeurs linéaires maisons qui permet de détecter les coordonnées du point mesuré dans l'image.

Caractérisation et optimisation d'un modèle d'ischémie focale à l'aide d'endothéline-1

DAIGLE Béatrice^{1,2}, BOUCHARD Jonathan^{1,2}, LEBEL Manon², MÉNARD Caroline^{1,2}

[1] Faculté de médecine, Université Laval, Québec (Canada)

[2] Centre de recherche CERVO, Québec (Canada)

CONTEXTE La dépression survenant à la suite d'un accident vasculaire cérébral (AVC), ou post-stroke depression (PSD), est la complication psychiatrique post-AVC la plus fréquente avec une prévalence d'environ 33%. La localisation de l'AVC dans les ganglions de la base (comprenant le noyau accumbens (NAc)) et les lobes frontaux (incluant le cortex préfrontal (PFC)) est un facteur de risque au développement de la PSD. La barrière hémato-encéphalique (BHE) du NAc et du PFC a été démontrée comme particulièrement vulnérable chez les souris mâles et femelles respectivement suite à un stress chronique, facteur clé dans l'apparition de symptômes dépressifs. **OBJECTIFS** Le premier objectif est d'identifier les changements d'expression de gènes associés aux cellules endothéliales, à la BHE, à l'apoptose et aux astrocytes dans le PFC de souris mâles ayant subi une ischémie dans le NAc. Le deuxième objectif est de déterminer si le modèle d'ET-1, établi chez la souris mâle, peut être également utilisé chez la souris femelle. **MÉTHODE** L'ET-1 est un puissant vasoconstricteur qui est couramment utilisé afin d'induire une lésion ischémique focale chez les rongeurs. Suite à l'induction de l'ischémie, l'analyse des changements d'expression de gènes a été réalisée par RT-qPCR alors que la mise en évidence du dommage ischémique et l'expression protéique ont été réalisées par coloration au crésyl violet et par immunofluorescence. **RÉSULTATS** Même lorsque l'ischémie a été induite dans le NAc, des changements d'expression des gènes associés aux astrocytes et à la BHE sont observables dans le PFC. Une lésion ischémique a bien été induite dans le PFC chez les souris femelles. **CONCLUSION** La BHE et les astrocytes sont affectés par une lésion ischémique, et ce, même dans une région éloignée de l'ischémie. Ce modèle d'ischémie est bien utilisable chez les souris femelles. Des essais supplémentaires devront être effectués pour continuer l'optimisation des coordonnées d'injection dans le PFC de souris femelles.

Visualisation de l'apoptose intra-cérébrale du poisson-zèbre à l'aide d'outils fluorescents cellulaires

BISSONNETTE Étienne¹, TANVE Odessa¹, LEBORDAIS Marc², LEMIEUX Mado³, DE KONINCK Paul^{3,4}

[1] Faculté de médecine, Université Laval

[2] Faculté de sciences et génies, Université Laval

[3] Centre de recherche CERVO, Institut Universitaire en Santé Mentale du Québec

[4] Département de Biochimie, Microbiologie et Bioinformatique, Université Laval

L'apoptose est un mécanisme biologique impliqué dans le développement et l'homéostasie des poissons-zèbres. Les fonctions sensorielles du poisson-zèbre apparaissent de manière séquentielle et avec la production de neurones pour la mise en place de ces fonctions, plusieurs connexions neurales sont inutiles ou même néfastes, dans la mesure où le signal entre neurones n'est pas optimal. L'apoptose vient restructurer les circuits neuronaux en retirant les cellules en surnombre et permet au poisson de se développer normalement. Il est donc intéressant de développer des outils fluorescents pour visualiser l'apoptose dans la mesure où l'information recueillie est directement liée à la mise en place des circuits neuronaux. Un de ces outils est l'acridine orange, un composé chimique avec des propriétés métachromatiques qui se lie à l'ADN disponible à l'intercalation entre les paires de bases du matériel génétique et qui émet une lumière verte lorsque illuminé en microscopie confocale. L'acridine orange met en évidence le matériel génétique dans les corps apoptotiques, qui sont à la toute fin de la cascade moléculaire de l'apoptose. Le nombre d'événement apoptotique est influencé par plusieurs facteurs internes ou externes à la cellule, mais ultimement augmente ou diminue selon l'âge du poisson pour se stabiliser lorsqu'il a atteint un certain âge. Mon objectif est de visualiser les pics apoptotiques du poisson-zèbre en faisant une évaluation de la quantité et de la fluorescence des corps apoptotiques. J'ai donc développé un protocole d'incubation à l'acridine orange qui donnera un ratio signal sur bruit satisfaisant pour ensuite faire une cinétique d'imagerie avec des larves de 3 à 9 jours post fertilisation (jpf), dans le but de voir les pics d'apoptoses développementaux. Ensuite, l'utilisation d'un logiciel de segmentation a permis d'obtenir des données quantitatives sur le nombre et la fluorescence des corps apoptotiques. Les résultats préliminaires ont montré deux pics d'apoptose qui varient légèrement entre lignés transgéniques, mais qui se situent aux alentours de 3 et 6 jpf à l'intérieur du tectum optique des larves. Ces pics concorderaient avec le développement de structure visuelle comme la rétine et donc de la fonction de vision chez le poisson-zèbre et confirmerait que l'apoptose développementale peut être imagée de façon fiable grâce à l'acridine orange.

Caractérisation de la protéine PlxnA4 dans la formation des circuits dopaminergique

FRENETTE Béatrice¹, GORA Charles¹, LÉVESQUE Martin¹

[1] Département de psychiatrie et neurosciences.

Les neurones dopaminergiques jouent un rôle crucial dans plusieurs fonctions cérébrales, telles que les mouvements volontaires et la motivation. Durant le développement embryonnaire et postnatal, les neurones projettent leurs axones vers leurs structures cibles afin de former des réseaux complexes. Ainsi, des anomalies ou une dégénérescence dans ces réseaux engendrent une diversité de maladies neurodégénératives ou psychiatriques, telles que la maladie de Parkinson et les troubles de l'attention. Ces neurones s'organisent en différents noyaux qui possèdent des distinctions majeures dans leur profil d'expression génique et leur projection. Toutefois, les mécanismes cellulaires et moléculaires qui permettent d'établir ces différentes projections sont encore très peu connus. Le guidage axonal de ces neurones est médié par des interactions ligand-récepteur qui ont des actions attractives ou répulsives sur l'axone. Récemment, il a été montré qu'un grand nombre de ces protéines sont produites localement dans les axones via une transcription locale d'ARNm. Une étude en cours dans le laboratoire a montré, via le séquençage d'ARNm, un enrichissement de certains ARNm dans les principales projections dopaminergiques ; le striatum dorsal (STD), le noyau accumbens (Nac) et le cortex préfrontal (CPF). Plusieurs différences au niveau de l'enrichissement de certains ARNm ont été identifiées. Notamment, PlxnA4, un récepteur de guidage axonal est enrichi dans les projections dopaminergiques vers le STD tandis que son antisens 2 (PlxnA4os2) est enrichi dans celle vers le Nac. Ainsi, ce projet a pour but de confirmer l'expression de PlxnA4 et PlxnA4os2 identifiés dans les neurones dopaminergiques et de leur projection. Afin de caractériser leur expression, des méthodes d'immunofluorescence et d'hybridation in situ ont été utilisées. Nos résultats ont montré une différence au niveau protéique de l'expression de PlxnA4 entre les populations dopaminergiques. De plus, la caractérisation des ARNm a montré une proximité entre les ARNm de PlxnA4 et ceux de l'antisens, ce qui semble être plus présent dans les neurones projetant vers le Nac. Ces résultats suggèrent une interaction entre ces deux ARNm qui pourrait réguler l'établissement des projections axonales vers le STD et le Nac. Des études futures sur la nature de ces possibles interactions et d'une régulation seront nécessaires pour mieux comprendre leur rôle dans l'établissement des projections axonales dopaminergiques.

Élaboration d'un outil moléculaire exploitant les caractéristiques de la Réflectine de *D.pealeii*

HUOT Karina¹, PAQUET Marie-Eve¹

[1] Centre de recherche CERVO

Doryteuthis pealeii, un céphalopode, peut modifier l'incidence de la lumière sur sa peau pour se confondre avec son environnement. La Réflectine est l'une des protéine responsable de ces changements optiques. Mon projet consiste en l'utilisation de cette protéine pour développer un outil moléculaire.

Dans une cellule de mammifère, la Réflectine forme des complexes qui s'organisent en fonction de l'environnement ce qui modifie la réfraction de la lumière de la cellule. Sachant que la réponse cellulaire aux facteurs environnementaux peut varier selon leur état de « santé », l'organisation de la Réflectine pourrait agir comme indicateur moléculaire. Nous souhaitons exprimer cette protéine dans des neurones à l'aide d'un vecteur viral et en exploiter ainsi le potentiel comme biomarqueur pour les individus atteints de maladies du cerveau. La microscopie digitale holographique, qui permet de mesurer des changements de phase, pourrait permettre de différencier la réponse d'un neurone sain et d'un neurone « malade » à l'environnement.

Le but du projet est de développer un outil moléculaire exploitant les caractéristiques de la Réflectine de *D.pealeii*. L'utilisation d'un vecteur viral de type adéno associé (AAV) permettra d'exprimer la Réflectine dans des cellules mammifères et d'y caractériser les changements de transparence/diffraction de la lumière.

Des étapes de biologie moléculaire et cellulaire ont été effectuées pour générer un plasmide d'AAV contenant la séquence codante de la Réflectine et une protéine fluorescente. Nous avons aussi utilisé les plasmides d'ADN contenant la séquence de la Réflectine afin de transfecter des cellules HEK. Ceux-ci permettront de nous assurer que, par notre vecteur viral, l'expression de la protéine et la réponse de la cellule n'est pas modifié.

À ce jour, nos AAV sont produits et des tests en cytométrie pour mesurer la granularité des cellules HEK transfectées ont été effectués. Les cellules HEK exprimant la Réflectine ainsi que celles infectées avec l'AAV seront observées en microscopie DHM.

Mon stage a été axé sur la production du vecteur viral ainsi que sur des analyses avec les cellules transfectées. À l'aide des AAV nous visons à aller exprimer cette protéine dans les neurones de rongeur et visualiser les effets de la Réflectine sur ceux-ci dans différents environnements. Enfin, si les avancées le permettent, le vecteur viral servira à exprimer la Réflectine dans des neurones humains dérivés de cellules iPS.

Mapping de la voie LH-DRN

BENMAMMAR Zakaria¹, SADRETDINOVA Renata¹, PROULX Christophe¹

[1] Centre de recherche CERVO

Le laboratoire de Christophe Proulx travaille sur le rôle qu'a l'habenula lateral sur le comportement par ces projection au VTA, LH et DRN. Lors de mon stage j'ai travailler a la caractérisation de la voie projetant de l'hypothalamus lateral jusqu'au noyau du raphe dorsal et au projection qui lui sont associé. C'est par l'utilisation d'approche viral, d'immunohistochimie, de microscopie confocal et autre microscope a fluorescence qu'on a procéder. L'utilisation de logiciel comme imageJ et zen ont permis l'analyse des données et d'avoir eu une meilleur compréhension de cette voie neuronal.

La résonance des plasmons de surface pour une production de vecteurs viraux plus efficiente

LÉONARD-DUFOUR Philippe¹, ALY Rim¹, PAQUET Marie-Eve¹

[1] Centre de recherche CERVO

Les vecteurs viraux sont des outils moléculaires flexibles tirant parti de la grande efficacité qu’ont gagné les virus au cours de leur évolution à délivrer des gènes dans les cellules hôtes qu’ils infectent. Leurs possibilités d’utilisation très diverses vont de la thérapie génique à la conception de vaccins. Ils sont également des outils quotidiens de recherche fondamentale dans de nombreux laboratoires.

La production de vecteurs viraux est néanmoins coûteuse puisque les vecteurs doivent rencontrer tout au long du processus des critères de qualité élevés qui prouvent leur efficacité. On obtient une évaluation de la pureté d’un lot seulement à la toute fin du processus, traditionnellement par ELISA, plages de lyse ou PCR quantitatif, selon la nature du virus d’origine. Cette dernière technique, qui est favorisée pour le dénombrement des virus adéno associés (AAV), est applicable à tous les variants (sérotypes) d’AAV mais apporte une information limitée, soit le nombre de copies du génome viral. On ne sait rien quant au nombre réel de capsides virales produites ni de leur potentielle efficacité de transduction. La résonance de plasmons de surface (SPR) se présente comme un candidat de choix pour offrir une estimation de la pureté rapide et fiable à plusieurs moments clés du processus de fabrication. Elle permet de mesurer le quantité de biomolécules se trouvant à l’interface entre deux milieux (métal et eau) en tirant parti de l’effet des biomolécules d’une solution sur la résonance des électrons du métal. Le niveau d’interaction pourra être déduit en mesurant indirectement l’effet d’une onde de plasmon produite par l’interaction biomolécule/électrons sur une onde électromagnétique réfléchi à l’interface du métal.

En plus du PCR quantitatif, l’ELISA et la microscopie électronique à transmission permettront d’établir des standards de quantification SPR assez fiables pour une utilisation courante. Les premiers résultats obtenus de quantification sur différents sérotypes d’AAV à l’aide d’un appareil SPR fourni par Affinité Instruments sont très encourageants et semblent démontrer un signal stable et proportionnel d’une dilution d’AAV à une autre. Le seuil de détection est assez bas pour une quantification pratique, nécessitant un volume test n’impactant pas significativement le rendement de production. Il existe néanmoins toujours une certaine variabilité d’un essai à un autre qu’il est nécessaire de réduire en continuant d’optimiser les paramètres de test.

Fine-tuning d'événements calciques

CASTONGUAY Katrine¹, BEAUPRÉ Frédéric¹, WIESNER Theresa¹, MITCHELL Diana²,
ARRAYA Roberto², GAGNÉ Christian³, LAVOIE-CARDINAL Flavie^{1,3}

[1] Centre de Recherche CERVO

[2] Université de Montréal

[3] Institut Intelligence et Données

L'activité calcique joue un rôle capital dans la signalisation cellulaire et dans la plasticité synaptique. Son dérèglement dans les neurones est un symptôme retrouvé chez les patients ayant une maladie neurodégénérative (Wojda et al. IUBMB Life. 2008). L'étude spatiale et temporelle des événements calciques pourrait mener à une meilleure compréhension du stade précoce des maladies neurodégénératives. La microscopie à fluorescence permet l'observation de l'activité calcique à l'échelle micrométrique grâce à des protéines fluorescentes sensibles au calcium (GCaMP6). La liaison de la protéine GCaMP6f au calcium augmente sa fluorescence qui peut être détectée au microscope. L'utilisation d'une forme d'annotation semi-automatique basée sur une technique d'apprentissage profond supervisé rend les tâches de détection et d'analyse quantitative plus accessibles. Les objectifs de ce stage sont l'affinement d'un réseau de neurones profond entraîné sur des vidéos de microscopie de neurones en culture et l'analyse et la caractérisation des événements calciques in vivo. L'annotation et la préparation des données, l'affinement du modèle pré-entraîné et l'analyse des performances du modèle affiné et des événements calciques détectés sont les méthodes qui permettent l'atteinte des objectifs de ce stage. Un réseau de neurones profond (modèle) permettant la génération d'annotations optimisées pour les événements calciques de neurone en culture a été comparé à une méthode semi-automatique développée dans le laboratoire précédemment. La variabilité de l'intensité fluorescente dans un même neurone ainsi que la structure tridimensionnelle complexe du réseau présentent des défis importants pour l'analyse. L'affinement du modèle donne un modèle capable de segmenter plusieurs événements calciques et de mieux généraliser. Le Dice Score (DS) qui est un calcul de la précision de la prédiction permet d'évaluer certains aspects de la performance du modèle. Selon les plus récents résultats, le modèle affiné présente une meilleure moyenne de DS sur l'ensemble des vidéos testées que ceux non affinis. Une analyse approfondie du modèle et de sa capacité de généralisation sera poursuivie dans les prochains mois.

Astrocyte alterations are involved in stress-induced blood-brain barrier dysfunction

BOSSÉ Marie-Eve^{1,2}, BINDER Luisa B.^{1,2}, LEBEL Manon^{1,2}, MÉNARD Caroline^{1,2}

[1] CERVO Brain Research Centre

[2] Department of Psychiatry and Neuroscience, Université Laval

Major depressive disorder (MDD) is a severe psychiatric illness and is currently the leading cause of disabilities worldwide. Classic treatments, that modulate mainly neuronal functions, are not efficient to improve symptoms in 30-50% of patients suggesting causal biological mechanisms remain unaddressed. The blood-brain barrier (BBB) is a complex structure that protects the brain from entry of harmful toxins or peripheral inflammation. Chronic stress can cause alterations in this barrier, leading to BBB hyperpermeability. Astrocytes are key structural components of the BBB essential for maintenance of its integrity. The general objective of this project is to evaluate the role of astrocytes in stress-induced dysfunction of the BBB and their potential involvement in antidepressant responses.

Chronic social defeat stress (CSDS) is a mouse model of MDD where C57Bl/6 are exposed daily to a dominant aggressive CD1, generating phenotypes of resilient (RES) and susceptible (SS) animals as assessed by a social interaction test. 24h later, brain punches from areas involved in emotional processing – the nucleus accumbens (NAc) and prefrontal cortex (PFC) were collected and astrocyte-related genes analyzed by quantitative PCR. In parallel, a second cohort of male mice was treated with the antidepressant fluoxetine after the 10-d CSDS paradigm. Genes analyzed included astrocyte markers, such as glial fibrillary acidic protein (Gfap), aquaporin 4 (Aqp4), glial-derived neurotrophic factor (Gdnf), and inflammatory mediators, like nuclear factor kappa B (Nfkb) and tumor necrosis factor alpha (TNFalpha). CSDS exposure led to alterations in the PFC, notably an increase for NFkB in RES and a decrease in SS of vascular endothelial growth factor A (Vegfa) expression, suggesting a role for inflammation and angiogenesis respectively. Changes were also observed in fluoxetine-treated animals. Connexin 43, an important transmembrane protein bridging neurons, astrocytes and BBB communication, was significantly increased in the PFC of SS after treatment. As for the NAc, no difference was noted. In conclusion, this study provided us a better understanding of astrocytic region-specific alterations induced by chronic stress and gave important insights for futures studies of BBB dysfunction in depression.

KCC2 as a regulator of CNS development

SUGÈRE Camille¹, GODIN Antoine^{1,2}, DE KONINCK Yves^{1,2}

[1] CERVO Brain Research Center, Université Laval, Québec City, Canada.

[2] Department of Psychiatry and Neuroscience, Université Laval, Québec City, Canada.

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is the main inhibitory neurotransmitter in the adult nervous system but exerts a depolarizing effect during early development. A shift from depolarizing to hyperpolarizing GABAergic neurotransmission occurs during the perinatal period due to the upregulation of the neuron-specific K-Cl cotransporter KCC2. Cl⁻ extrusion by KCC2 results in a low intracellular chloride concentration [Cl⁻]_i that is essential for inhibitory GABAergic transmission to occur. However, the functional relationship between KCC2 expression and GABA-shift timing requires further investigation. KCC2 impairments result in changes in the balance between excitation and inhibition and have been linked to disorders such as epilepsy, autism, and schizophrenia, whose developmental origins hint towards an important role for KCC2 upregulation in neurodevelopment. Here, we sought to measure the effects of the pharmacological compound CLP257, known to enhance chloride extrusion, on the timing of the GABA shift in males and females. We hypothesized that CLP257 increases KCC2 function and hastes the timing of the GABA shift. Moreover, the higher prevalence of neurodevelopmental disorders in the male population and previous evidence that GABA-shift occurs earlier in females prompted us to investigate sex differences in response to CLP257 administration.

First, to assess the expression of KCC2 at the membrane during different stages of development, we performed immunohistochemistry on neuronal cultures from the cortex of newborn rats aged 2 to 21 days, with and without treatment with CLP257. As expected, we saw an increase in membrane KCC2 with age, and we expect CLP257 treatment to haste KCC2 upregulation. Second, to test the function of KCC2, we will use the chloride indicator MQAE and monitor changes in [Cl⁻]_i upon GABA stimulation of cortical neurons, with and without CLP257 treatment. The fluorescence lifetime of MQAE is inversely proportional to [Cl⁻]_i; therefore, hyperpolarizing GABAergic neurotransmission resulting in chloride entry would manifest as a decrease in fluorescence lifetime following GABA stimulation. We expect the number of neurons showing a hyperpolarizing response to GABA to increase in with age, female sex, and CLP257 treatment. Overall, this investigation of KCC2 expression and function during development will shed light on important neuronal mechanisms involved in neurodevelopmental disorders and, potentially, new sex-specific treatment avenues.

Définir l'identité et les caractéristiques des neurones de l'aire tegmentale ventrale (VTA) recevant des projections du cortex préfrontal médian (mPFC)

DUMAS Éloïse¹, PANCOTTI Luca¹, LABONTÉ Benoit¹

[1] Centre de recherche CERVO, Université Laval - département de psychiatrie et de neurosciences

Le stress est une réaction physiologique et psychologique de l'organisme face à des situations menaçantes dans une optique de protection. Le réseau qui relie le cortex préfrontal médian (mPFC) et l'aire tegmentale ventrale (VTA) est l'un des circuits cérébraux spécialisés participant à la gestion des processus reliés au stress. Ce circuit est notamment impliqué dans le processus de décision comportementale basée sur une valeur émotionnelle et motivationnelle en situation de stress. Une exposition prolongée au stress peut altérer le fonctionnement de ce circuit et, par le fait même, engendrer des comportements mésadaptés. Nous nous intéressons au fonctionnement physiologique du circuit mPFC-VTA afin de mieux comprendre les effets du stress sur celui-ci. Mon projet se concentre plus spécifiquement sur l'identification et la caractérisation des neurones intercommunicants de ces deux structures cérébrales. Pour ce faire, nous utilisons une stratégie virale intersectionnelle basée sur les capacités de traçage antérograde et rétrograde de différents virus afin d'obtenir une représentation complète du circuit corticotegmental avec différents fluorophores. La première étape vers la caractérisation de ces neurones tegmentaux a été de réaliser des expériences d'immunohistochimie avec différents marqueurs dopaminergiques. Nous en sommes venus à la conclusion que certains de ces neurones sont en effet dopaminergiques et que les différentes populations identifiées grâce à la stratégie virale présentent, en elles-mêmes, une hétérogénéité biomoléculaire. Toutefois, la variabilité des résultats obtenus avec les différents marqueurs nous amène à tenter de confirmer ceux-ci avec des méthodes plus précises et quantitatives comme le qPCR et le RNAscope. En ce sens, nous avons "designé" et validé quelques paires d'amorces ainsi que séparé, avec succès, les différentes populations neuronales fluorescentes de la VTA de souris infectées grâce à une technique de cytométrie en flux par fluorescence (FACS) avant d'en extraire l'ARN. Somme toute, bien qu'encore préliminaires, ces résultats nous indiquent sans doute que nous sommes sur la voie de la caractérisation du réseau neuronal corticotegmental. Ces connaissances nous aideront certainement dans la compréhension des effets du stress sur cet important circuit.

Effects of Early-Life Stress on the Expression of Blood-Brain Barrier Genes in the Basolateral Amygdala

O'KEEFFE Oisín¹, SOLANO José L. ¹, DION-ALBERT Laurence¹, DUDEK Katarzyna A.¹, ARSENAULT Eric¹, LEBEL Manon¹, LABONTÉ Benoit¹, MÉNARD Caroline¹

[1] CERVO Brain Research Centre

It has been suggested that stress in early-life can calibrate an individual's future response to stress, such that those exposed to early-life stress (ELS) are better able to cope with stressful situations as adults. Additionally, recent research has implicated blood-brain barrier (BBB) integrity in affective disorders such as MDD which can arise from chronic stress. Genes involved in BBB integrity and astrocyte-neuron interactions have been found to be differentially expressed in mice exposed to chronic social defeat stress (CSDS). Previous research from our lab has suggested that these CSDS-induced changes in the brain occur in a sex-specific manner. However, an important brain region which has been thus far overlooked is the amygdala, an integral part of the limbic system which is the first step in triggering a stress response. The amygdala is composed of three groups of nuclei; in particular, the basolateral amygdala (BA) sends and receives projections to several brain regions in which our lab has previously identified sex-specific differences in gene expression relating to the BBB.

To investigate the effects of ELS on the adult stress response, mice were exposed at PN10 to a 10-day ELS period of maternal separation and limited bedding and nesting. The same mice were subsequently exposed to 10 days of CSDS at Week 8. 24 hours later, their response to stress was tested using a social interaction test. Brain punches from the BA were collected for qPCR analysis.

While CSDS had a significant effect on behaviour, this change was consistent for both ELS mice and non-ELS mice. However, some interesting changes in gene expression were measured. As previously observed, differences in gene expression in the BA were not consistent between male and female mice. In female mice, genes involved in maintaining BBB integrity were upregulated in response to ELS. In both males and females, different genes governing astrocyte-neuron interactions also showed a response to ELS and CSDS. Interestingly, a significant change was also observed in an epigenetic regulator in the ELS group, which disappeared in mice subject to CSDS. Together, our results support a sex-specific calibration of stress response by ELS to stress in adult life and suggest that while exposure to ELS may help to maintain the BBB integrity in the face of CSDS by stabilising the expression levels of relevant genes, this is not the only mechanism by which CSDS induces behavioural changes in mice.

Analyse des impacts des arbustes enfouis sur les profils d'irradiance dans la neige

DIONNE Valérie^{1,2}, QUÉMENER Mireille^{1,2}, DOMINÉ Florent³, CÔTÉ Daniel^{1,2}

[1] CERVO

[2] Université Laval

[3] Université de Grenoble

Avec le réchauffement climatique, l'été dans le nord du Québec est plus long ce qui entraîne la croissance des arbustes et autres végétations. Dès lors, on peut se questionner sur l'impact de cette croissance sur l'irradiance de la neige, en quelque sorte son interaction avec la lumière. Notre hypothèse est que la neige va fondre plus vite lorsque qu'elle est entre les branches de buissons que dans un champ sans hautes végétations. Après avoir installé tout un hiver des capteurs dans la forêt Montmorency pour mesurer cette irradiance selon plusieurs paramètres, nous avons analysé les données amassées afin de comparer le coefficient d'extinction (nombre qui caractérise l'absorption de lumière d'un milieu) de la neige avec et sans arbustes. Il reste encore quelques étapes avant d'énoncer clairement une réponse à notre question de recherche, mais j'ai espoir de pouvoir présenter le tout le 11 août.

Approfondissement de nos connaissances sur les tavelures lasers

ROUSSEL Jonathan¹, GENEST Gabriel¹, QUÉMENER Mireille¹, CÔTÉ Daniel C.¹

[1] Université Laval; département de physique, de génie physique et d'optique; CERVO, DCCLAB

Les speckles sont souvent une source de bruit dans les systèmes optiques, cependant elles peuvent aussi être un outil pertinent dans certains systèmes tels que la microscopie HiLo et un système LSCI. L'objectif du projet est d'approfondir nos connaissances sur le phénomène des speckles afin d'établir une base rigoureuse pour d'éventuels projets plus poussés qui utiliseront les speckles comme outils. Le projet a comme première étape d'observer des patrons de speckles « fully/partially developed », analyser la distribution d'intensité ainsi que l'effet de la polarisation du laser sur les speckles. La deuxième étape du projet est d'observer la corrélation entre ces patrons de speckles afin d'obtenir une valeur de temps caractéristique qui serait relié au mouvement brownien du matériel ainsi que déterminer l'impact de la taille moyenne des speckles sur le temps de corrélation. La troisième étape du projet porte sur l'analyse du contraste des patrons de speckles d'un système de LSCI de base afin d'obtenir des vitesses relatives d'un échantillon fantôme. Pour réussir la première étape du projet, il a fallu monter un système optique qui permet l'observation de speckles. Il a fallu trouver la meilleure configuration ainsi que composantes optiques pour obtenir des speckles sans avoir de saturation de la caméra. Afin d'analyser la distribution d'intensité des patrons de speckles, l'utilisation du logiciel ImageJ permet la création d'histogrammes qui représentent la distribution d'intensité des pixels de l'image de patron de speckles. L'utilisation de polariseurs permet d'observer l'impact de la polarisation sur le type de speckles observés. Deuxièmement, plusieurs images seront prises sur un grand intervalle de temps, afin d'observer la corrélation des speckles. L'utilisation d'une lentille permet de contrôler la grosseur moyenne des speckles et d'analyser s'il y a un impact sur le temps caractéristique de la corrélation, qui suivrait un modèle d'exponentielle décroissante selon le modèle théorique. La conception d'un système LSCI ainsi qu'un échantillon fantôme permettront d'analyser le contraste des speckles aisément. La polarisation du laser joue un rôle important dans l'obtention de speckles fully developed. Ce type de patrons a une distribution d'intensité qui suit un modèle d'exponentielle décroissante. Une valeur de temps caractéristique absolue est difficile à obtenir par manque de reproductibilité de l'expérience. La corrélation suit aussi une exponentielle décroissante (avec quelques aberrations). La taille des speckles semblent affecter la reproductibilité des expériences.

Prédiction et reproduction de l'activité neuronale avec l'apprentissage machine

DROUIN Anthony¹, DESROSIERS Patrick¹

[1] Centre de recherche CERVO, Université Laval

Les deux dernières décennies en neurosciences ont été caractérisées par le développement de méthodes novatrices d'imagerie optique qui permettent d'observer la dynamique de grandes populations neuronales. Il est notamment possible de monitorer en temps réel l'activité neuronale du cerveau entier du poisson-zèbre larvaire (PZ) avec une résolution cellulaire. De telles observations produisent de grandes quantités de données qui exigent l'utilisation d'un large éventail d'outils d'analyse inspirés de la dynamique non linéaire et de la théorie des graphes. Récemment, les réseaux récurrents de neurones artificiels (RNN) ont fait leur apparition en neuroscience comme un outil d'analyse prometteur. En effet, ils permettent de modéliser à la fois la dynamique neuronale et la connexion synaptique.

Mon hypothèse est que l'entraînement de tels réseaux est possibles. Toutefois, mon hypothèse est que l'entraînement de réseaux complexes demande davantage de métriques lors de l'entraînement pour diminuer l'espace des solutions particulières.

L'objectif est d'effectuer l'entraînement de réseaux récurrents de neurones artificielles selon la dynamique de Wilson-Cowan pour reproduire et prédire l'activité calcique mesuré en laboratoire. Ces modèles d'entraînements sont codés et ajoutés au module Python NeuroTorch développé par Jérémie Gince, étudiant à la maîtrise dans l'équipe de Patrick Desrosiers et Simon Hardy.

Présentement, le module NeuroTorch nous permet l'entraînement de petits réseaux de neurones.

Alignement et caractérisation d'un microscope STED

DESCOMBES Laurence¹, BILODEAU Anthony¹, LAVOIE-CARDINAL Flavie^{1,2}

[1] Centre de recherche CERVO

[2] Département de psychiatrie et de neurosciences de l'Université Laval

La microscopie confocale a été inventée au milieu des années 1950 afin d'obtenir des images ayant un meilleur sectionnement optique que les images obtenues par microscopie à grand champ en introduisant un sténopé. La résolution de la microscopie confocale conventionnelle est toutefois limitée par la diffraction telle que déterminée par la loi d'Abbe de 1873, soit environ 250 nm. Certaines structures biologiques ont une taille située sous cette limite de diffraction, comme les protéines synaptiques desquelles il serait intéressant de mesurer la colocalisation. Ainsi, plusieurs techniques de microscopie permettant de dépasser cette limite, appelées microscopie de super-résolution ou nanoscopie, ont été développées. Certaines ont d'ailleurs été récompensées du prix Nobel de chimie en 2014, notamment la technique de microscopie de type stimulated emission depletion (STED), développée à la fin des années 1990. Cette technique permet de s'affranchir de la limite de la résolution et d'atteindre une résolution de l'ordre de la dizaine de nanomètres, et ce même avec des échantillons vivants. En effet, en superposant un laser en forme de beigne sur le laser d'excitation, il est possible d'éteindre les fluorophores situés sous le beigne et ainsi d'augmenter la résolution des images. Le but du stage consistait à aider à la conception d'un microscope de super-résolution STED. Une des tâches principales réalisées est l'alignement des deux faisceaux laser de déplétion (785 nm et 590 nm) sur la table optique. L'alignement d'un faisceau se fait de manière systématique à l'aide de deux miroirs en tournant les vis à tour de rôle en directions opposées jusqu'à ce que le faisceau soit à la position et l'angle désirés. Pour l'alignement dans les cages comportant les lentilles, un sténopé est utilisé pour aligner le laser au centre des lentilles. Il est important que le laser soit centré dans les lentilles et dans les miroirs pour minimiser les pertes de puissance. L'alignement du laser de 785 nm est terminé et une partie du parcours optique du laser d'excitation a été refait également. Un objectif à accomplir d'ici la fin du stage serait d'acquérir une image en microscopie STED sur un échantillon de calibration. À long terme, le microscope pourra imager des échantillons neuronaux vivants et faire de la microscopie assistée par l'apprentissage automatique.

Effet de la diète sur le développement du poisson-zèbre entre le stade post-embryonnaire et le stade juvénile

LADOUCEUR Shanna¹, SONGPADITH Jean-philippe^{1,2,3}, CAPERAA Margaux¹, LEMIEUX Mado¹, DE KONINCK Paul¹

[1] CERVO

[2] INAF

[3] CRIUCPQ

Au cours des dernières décennies, le poisson-zèbre s'est affirmé comme modèle d'étude en neurosciences. En effet, son développement rapide et sa similarité génétique avec l'humain en font un modèle de choix en recherche fondamentale. C'est particulièrement au stade de larve que sa petite taille et sa transparence permettent l'utilisation de techniques de microscopie afin d'étudier de façon non-invasive les mécanismes cérébraux. Malgré la popularité de ce modèle animal, les besoins nutritionnels de la larve de poisson-zèbre restent peu connus, ce qui peut conduire à une croissance anormale du cerveau et d'autres organes d'importance durant la période charnière qu'est le stade larvaire. C'est principalement l'absence d'une diète standard établie qui peut mener à une variabilité dans les résultats obtenus et rendre difficile les comparaisons inter-recherches. En outre, la littérature disponible sur l'alimentation de la larve hébergée dans des conditions restreintes (boîtes de pétri) s'avère peu étoffée. Ainsi, l'objectif de ce projet est de comparer et d'optimiser des protocoles de diète publiés dans la littérature dans le but d'obtenir un développement optimal des larves entre le stade post-embryonnaire et le stade juvénile. Pour ce faire, des larves de la lignée wild-type âgées de 5 jours sont soumises à différentes diètes pour une période de 17 jours consécutifs. Le taux de mortalité et plusieurs paramètres morphologiques sont mesurés durant cette période afin de pouvoir évaluer la croissance et le développement des individus. Les résultats préliminaires montrent qu'une diète mixte, donnée en deux temps selon le stade de développement de la larve, permet une meilleure croissance qu'une mono-diète. Pour mieux comprendre l'impact de la diète dans le développement de la larve, il serait intéressant de soumettre d'autres lignées de poisson-zèbre à la même diète. Dans le but de comprendre le rôle du microbiote intestinal dans la nutrition, il serait également pertinent de donner cette même diète à des individus dépourvus de microbiote.

Impact of inflammation on tight junctions of human brain endothelial cells

RICHER Émanuelle¹, PATON Samuel¹, COLLIGNON Adeline¹, LEBEL Manon¹, MÉNARD Caroline¹

[1] CERVO Brain Research Centre

The blood-brain barrier (BBB) is the brain's first line of defense against harmful substances circulating in the blood stream. It's made of endothelial cells, firmly connected to each other by tight junctions and surrounded by pericytes and astrocytes. Our lab has shown that chronic stress exposure diminishes expression of the tight junction protein Claudin5, causing BBB leakage and allowing detrimental peripheral inflammatory mediators such as cytokines to enter the brain, leading to the establishment of depressive symptoms. To date, the cellular and molecular mechanisms underlying stress-induced loss in BBB integrity are still under investigation. We hypothesize that inflammatory processes, known to be associated with stress response, could promote changes in endothelial cell morphology as well as tight junction proteins expression and organization, affecting BBB integrity. We used monolayer of human endothelial cells to model the BBB in vitro, and treated them with TNF- α , a pro-inflammatory cytokine, to characterize the effects of inflammation on endothelial cells. To achieve this, we combine RT-qPCR, immunofluorescent staining, MTT cell viability, scratch wound healing and barrier permeability assays. Our results revealed a TNF- α dose-dependant decrease in tight junction proteins and adherent molecules along with changes in tight junction's morphology and area coverage. As expected, these alterations lead to leakage of the endothelial cell monolayer. Furthermore, treatment with TNF- α delay the healing processes. Overall, our results show that inflammation directly affect in many ways the BBB tight junctions and endothelial cells, which could play a role in maladaptive stress responses and the development of mood disorders.

Étude du rôle des systèmes dopaminergique et noradrénergique dans l'encodage de l'erreur de prédiction de la récompense dans le cortex préfrontal médian

GAUTHIER Léa-Maude¹, BOUCHARD Sarah-Julie², BRETON-PROVENCHER Vincent²

[1] Université de Montréal

[2] Université Laval

La capacité de notre cerveau à prédire les résultats positifs et négatifs guide nos décisions et notre apprentissage. Pour supporter cette capacité, certains neurones encodent l'erreur de prédiction (RPE), définie par la différence entre le résultat attendu et celui obtenu dans un contexte comportemental. Les systèmes dopaminergique et noradrénergique signaleraient tous deux cette RPE, mais comment ces deux signaux se combinent pour permettre l'apprentissage reste inconnu. L'objectif du projet a donc été de mesurer les signaux de dopamine et de noradrénaline dans le cortex préfrontal médian, impliqué dans diverses fonctions exécutives, afin de déterminer leur rôle dans l'encodage de la RPE. Pour ce faire, des souris ont été entraînées à un protocole de conditionnement classique à tête fixée où un son d'une certaine fréquence était associé à une récompense. Afin de mesurer l'ampleur et l'évolution temporelle de la libération des catécholamines dans le cortex préfrontal, de nouveaux senseurs optiques à haute affinité pour ces deux neuromodulateurs (GRAB-NE et GRAB-DA) ont été utilisés. Il a été observé que la dopamine et la noradrénaline signalent la réception de récompenses, particulièrement lorsque celles-ci sont hautement inattendues, comme prédit par la RPE. De plus, en comparant les réponses au renforcement positif ou négatif, on note que la noradrénaline serait plus sensible aux signaux aversifs que la dopamine. Nos travaux démontrent donc que les signaux dopaminergique et noradrénergique partagent plusieurs similitudes quant à l'encodage de la récompense, mais que le signal noradrénergique serait principalement impliqué dans le renforcement négatif.

Développement d'un module d'anisotropie de fluorescence pour l'étude de la structure des neurones

MOTH Élodie¹, DESCHÊNES Andréanne¹, BARBEAU Annie¹, LAVOIE-CARDINAL Flavie^{1,2},
GODIN Antoine¹

[1] Centre de Recherche CERVO

[2] Institut Intelligences et Données

Dans le but de comprendre les nombreuses fonctions du cerveau l'observation et l'analyse de l'organisation et la dynamique des structures neuronales à l'échelle microscopique est nécessaire. Un réseau sous-membranaire formé d'anneaux périodiques de filaments d'actine (F-actin) espacés par des fibres de spectrines a été découvert en 2013 grâce à la microscopie optique de super-résolution par Xu et al [1]. Ce réseau périodique a été d'abord observé dans les axones puis dans les dendrites où il se réorganise en fibres sous l'effet de l'activité neuronale. L'objectif de mon projet est de déterminer, grâce à une mesure de l'anisotropie de fluorescence, si la réorganisation des anneaux de F-actin en fibres longitudinales nécessite le passage par l'actine monomérique (G-actin). L'anisotropie de fluorescence nous renseigne sur la façon dont une molécule change d'orientation dans l'espace par rapport au temps entre les événements d'absorption et d'émission. Elle peut être quantifiée en mesurant des changements de polarisation de la fluorescence détectée. Une anisotropie de 0 est obtenue lorsque les molécules sont libres de changer d'orientation aléatoirement, comme c'est le cas pour la G-actin. En revanche, une anisotropie non zéro est obtenue lorsque les molécules ont une orientation préférentielle, tel qu'attendu pour la F-actin. Afin de mesurer les changements d'anisotropie, j'ai, dans un premier temps, caractérisé les pièces optiques du microscope. Dans un deuxième temps, j'ai implémenté un système de détection qui permet de quantifier l'anisotropie de la fluorescence émise par les échantillons. La caractérisation de l'anisotropie est rendue possible grâce à un cube polariseur qui est intégré dans le module de détection du microscope deux photons. Nous avons testé notre nouveau module d'anisotropie sur des cellules HEK293 et des cultures primaires de neurones de l'hippocampe dans lesquelles des protéines fluorescentes de fusion ont été transfectées. Nous avons mesuré l'anisotropie pour la tubuline-GFP, une protéine du cytosquelette formant des filaments, et pour la mGFP cytosolique qui devrait diffuser librement dans la cellule. Le système développé permettra de tester prochainement la mesure de l'anisotropie sur des échantillons neuronaux, dans lesquels la F-actin et la G-actin seront marquées avec des fluorophores.

[1] Xu, K. et al. (2013) Science

[2] Lavoie-Cardinal, F. et al. (2020) Scientific Reports

PPIA est-elle impliquée dans le «dying-back mechanism» des motoneurones dans la SLA?

CRÉPEAU Frédérique¹, POZZI Silvia¹

[1] Centre de Recherche CERVO

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative causée par la mort des motoneurones. Plusieurs études ont été réalisées dans le système nerveux central mais le système nerveux périphérique a presque été négligé. Les événements pathogénétiques pourraient cependant provenir des cellules musculaires et induire la mort des motoneurones ("dying-back mechanism"). La jonction neuromusculaire (JNM) est donc un point important à étudier.

PPIA (peptidyl-prolyl isomerase A) est une protéine ayant d'importantes fonctions dans le corps. C'est aussi un biomarqueur dans la SLA. Dans la moelle épinière des souris SOD1G93A, elle est présente dans les agrégats cellulaires contribuant à la maladie et entraînant la perte des fonctions de PPIA. Plus la SLA progresse, PPIA est sécrétée dans l'espace extracellulaire où elle lie son récepteur EMMPRIN (extracellular matrix metalloproteases inducer) et induit la production de MMP-9, qui est toxique pour les motoneurones.

Mon hypothèse est que PPIA soit impliquée dans le "dying-back mechanism" dans la SLA. Mes objectifs de recherches sont d'identifier le profil d'expression de PPIA et EMMPRIN chez les souris avec la progression de la maladie et d'élucider la localisation de PPIA et EMMPRIN à la jonction neuromusculaire.

Les muscles ont été prélevés de souris SOD1G93A et TDP-43 A315T et lysés pour obtenir différentes fractions. Des western blots ont été réalisés pour quantifier PPIA et EMMPRIN ainsi que SOD1 et TDP-43. De plus, l'immunofluorescence a été utilisée pour localiser PPIA et EMMPRIN au niveau des terminaux pré-synaptiques (NFH), post-synaptiques (BTx) et dans les cellules de Schwann terminales (S100) autour de la jonction neuromusculaire.

Nous avons observé que PPIA est augmentée dans les muscles de souris SOD1G93A et TDP-43 A315T sous forme soluble et insoluble. Une dérégulation de EMMPRIN a aussi été constatée dans les souris SLA analysées. L'immunofluorescence a montré que PPIA est exprimée par les motoneurones atteignant la JNM et les cellules de Schwann qui l'entourent. EMMPRIN se retrouve plutôt dans le muscle en général et dans les axones.

En bref, l'expression et la solubilité de PPIA est altérée dans les muscles des modèles murins de SLA et EMMPRIN est dérégulé. De plus, PPIA et EMMPRIN sont exprimés par des cellules autour de la jonction neuromusculaire. Ces observations soulignent une implication de PPIA et de la voie PPIA/EMMPRIIN dans le "dying-back mechanism" dans la SLA.

Caractérisation de quatre domaines de localisation nucléaire (NLS) identifiés dans la protéine de capsid VP1 d'un AAV obtenu de Mandrills (Mandrillus sphinx)

PICARD Frederic¹, LAMARRE Claude¹, PAQUET Marie-Ève¹

[1] Centre de Recherche CERVO

Les virus adéno-associés (AAV) ont été découverts accidentellement il y a maintenant près de 60 ans. Certaines caractéristiques de leur cycle de réplication font que ces parvovirus suscitent aujourd'hui beaucoup d'intérêts dans la communauté scientifique, étant utilisés comme vecteurs viraux pour la thérapie génique.

À partir de matière fécale de mandrills, nous avons identifié un nouveau gène codant pour les protéines composant la capsid des AAV. Par la comparaison des séquences peptidiques, nous avons identifié un domaine NLS supplémentaire appelé BR4 (au lieu des 3 domaines NLS (BR1-BR2-BR3) présents chez tous les AAV jusqu'à maintenant séquencés). Ces domaines NLS permettent aux particules virales de passer par les pores nucléaires lors de l'infection initiale. L'objectif de mon stage d'été était de caractériser l'importance relative de ces 4 domaines NLS.

Afin de confirmer la présence de domaines NLS fonctionnels, nous avons assemblé dans un plasmide d'expression un cadre de lecture ouvert codant pour les acides aminés 3 à 202, suivi de mEGFP et BFP2. Ces plasmides d'expression ont été transfectés dans une lignée cellulaire HEK 293 et la localisation de la protéine produite déterminée par microscopie à fluorescence. Afin de déterminer l'importance relative des différents domaines NLS pour la localisation nucléaire de notre protéine fluorescente, nous avons effectué des mutations ponctuelles des 4 domaines NLS identifiés, de façons individuelles ou groupées.

En observant le marquage GFP dans les cellules pour chacun des plasmides mutants, nous avons observé qu'une seule mutation en trio, celle où les BR1, BR3 et BR4 sont mutés (donc où le seul BR fonctionnel est le 2), permet une translocation au noyau. Le BR2 jouerait donc un rôle plus important que les autres. En analysant les séquences plus attentivement, on constate que le BR2 est le seul NLS ne se trouvant pas en conformation d'hélice alpha. Nous avons donc procédé à une autre série de mutations afin de modifier les conformations où se trouvent les NLS. L'ajout d'une hélice alpha au BR2 a grandement diminué l'import nucléaire, cependant, le retrait des hélices sur les autres BR n'a pas amplifié cet effet.

En somme, nous avons fait du progrès dans notre compréhension des NLS, mais il reste encore beaucoup de travail à faire. Nous en sommes maintenant à comprendre l'effet de la conformation en hélice alpha sur l'effectivité des NLS et s'il y a un lien avec les modifications post-traductionnelles.

Single Image Super Resolution and Image Denoising for Digital Holographic Microscopy

SOUBEIRAN Corentin^{1,2}, MOREAUD Maxime³, LERIVIERE-LOISELLE Céline², HAOUAT Mohamed², CHANIOT Johan², BELANGER Erik², MARQUET Pierre²

[1] ENSTA Paris, 828 boulevard des Maréchaux 91120 Palaiseau, France

[2] Centre de recherche CERVO, Université Laval, Canada

[3] IFP Energies Nouvelles, Rond-point de l'échangeur de Solaize, BP 3-69360 Solaize, France

La microscopie holographique numérique monochromatique hors axe (Digital Holographic Microscopy, DHM) est une méthode non invasive d'imagerie optique permettant d'acquérir des images de phase quantitative, sans marqueurs et en temps réel, d'échantillons biologiques quasi transparents tels que les cellules vivantes. Cependant, le bruit cohérent plafonne la qualité de l'image. Le développement d'un DHM polychromatique (P-DHM) dans une configuration en transmission, fournissant des images de phase quasiment sans bruit, a permis de résoudre en partie ce problème. Cette méthode optique de débruitage révèle un ensemble de structures neuronales fines au sein de réseaux neuronaux vivants en culture indétectables avec la DHM hors axe. Néanmoins, cette technologie reste couteuse et, pour certaines applications, difficile à mettre en œuvre, notamment dû au temps d'acquisition. Des travaux récents menés au sein du laboratoire ont démontré l'intérêt de l'application d'algorithmes d'intelligence artificielle reproduisant le débruitage optique du P-DHM à partir d'images DHM classiques.

Au cours des dernières années, les intelligences artificielles ont présenté des résultats surprenants en matière d'amélioration de la résolution d'image. Nous avons ainsi développé un algorithme d'intelligence artificielle capable, à partir d'une image DHM basse résolution (grossissement x10), de produire des images de plus haute résolution (grossissement x20) et débruitées, comme celles obtenues par la technologie P-DHM. Cet algorithme se base sur un réseau convolutif couplé à une fonction de coût paramétrisée par l'analyse de structures locales. Son apprentissage se fait à partir d'images expérimentales contrairement à ce qui est majoritairement fait dans la littérature, grâce à un réajustement numérique corrigeant les déformations inhérentes aux différences de modes d'acquisition. Cet apprentissage permet de contrôler finement l'apparition de structures délétères à l'analyse biologique subséquente et le dépistage de pathologies. Finalement, cette procédure fournit pour la première fois à notre connaissance, des images haute résolution et débruitées de cellules vivantes, à partir d'images DHM basse résolution, pour un coût et un temps d'acquisition réduit.

Negative memory encoding alters blood-brain barrier along with circulating stress hormones

TURMEL Audrey^{1,2}, CADORET Alice^{1,2}, DION-ALBERT Laurence^{1,2}, LEBEL Manon^{1,2}, MÉNARD Caroline^{1,2}

[1] Université Laval

[2] CERVO Brain Research Centre, Québec (Canada)

The blood-brain barrier (BBB) represents the ultimate frontiers between the brain and deleterious circulating inflammatory molecules. While its disruption is implicated in multiple conditions, its role in normal brain functions, such as cognition, is poorly known. Emotional experience can be associated with a negative or positive valence, for example if it is linked with fear or reward respectively. Intriguingly, mice exposure to fear conditioning (FC), an acute stressor of negative valence, induces a peripheral immune response contributing to fear memory formation. Our group showed that chronic stress impairs BBB integrity allowing the passage of circulating cytokines into the brain in a sex-specific manner. Other studies also show that estrogens increase mice response to stress.

Thus, here we investigated the relationship between BBB biology, corticosterone (CORT) in the blood serum and cognitive performance of male and female mice subjected to a FC paradigm. Both sexes were included since sex hormones can affect cognitive performances. We hypothesized that mice subjected to FC would show altered BBB biology and higher CORT levels than control mice. Besides, we expected females to be more affected by FC than males according to their estrous cycle.

C57BL/6 mice were handled for 7 days before the 4-day FC paradigm (acquisition, context test, cue test and recall test) to reduce sources of exogenous stressors. Memory performance was recorded and analysed to detect freezing, a fear response. Four hours after the last FC session, whole brains or punches, serum and vaginal swabs were collected. Brain coronal sections and punches were produced to perform immunostaining and analyse the expression of BBB-related genes by quantitative PCR respectively. CORT levels were assessed in mouse serum using ELISA assays. Vaginal swabs were stained with crystal violet and used to determine estrous cycle stage.

Our results revealed that expression of many BBB-related genes, such as growth factor Fgf2 and tight junction Ocln, is increased especially in the ventral hippocampus and prefrontal cortex independent of sex. Both male and female mice exposed to FC froze more than the controls, but we observed that females froze longer and had higher CORT levels than FC males. Estrous cycle did not seem to affect behavioral or biological measures. This ongoing project will provide novel basic insights and advance fundamental aspects of the vascular biology underlying cognitive processes.

Optimisation de configurations pour l'observation de l'activité neuronale et comportementale de la larve de poisson-zèbre

POULIN Sandrine¹, LÉGARÉ Antoine¹, CAPERAA Margaux¹, LEMIEUX Mado¹, DE KONINCK Paul^{1,2}

[1] CERVO Brain Research Centre, Québec (QC). Université Laval, Québec (QC) Canada

[2] Département de biochimie, de microbiologie et de bio-informatique de l'Université Laval

Le programme de recherche du laboratoire s'appuie sur le modèle du poisson-zèbre au stade larvaire. Dans le cas présent, notre équipe utilise la microscopie par excitation à deux-photons pour étudier l'activité neuronale corrélée aux mouvements de la queue chez la larve dont la tête est immobilisée. La réponse neuronale et comportementale est étudiée en réponse à un stimulus visuel projeté sur un écran, en avant de la larve. En parallèle, des études sur le comportement des larves en nage-libre sont menées. Le premier objectif du projet était d'optimiser la stimulation visuelle ainsi que la synchronisation du montage de microscopie. En premier lieu, un projecteur a été installé pour remplacer l'écran. Ce projecteur permet la stimulation visuelle à l'avant de la larve et en dessous de celle-ci. Ensuite, le microscope, la caméra à haute-vitesse et le projecteur ont été synchronisés à l'aide d'un Arduino et de Bonsai . Bonsai est un logiciel de programmation permettant de traiter des flux de données multiples. L'ajout du projecteur augmente la reproductibilité des expériences menées et ouvre plusieurs portes pour l'étude de l'acuité visuelle chez la larve. Finalement, en plus de faciliter les acquisitions, la synchronisation permet de connaître le délai de réponse entre chaque élément du système. Elle permet également d'éliminer le biais de l'expérimentateur qui était autrefois requis pour le début de l'acquisition de la caméra et de la projection. Il est maintenant possible de connaître avec précision le lien temporel entre chacune des images du microscope, de la caméra et du projecteur. Le second objectif du projet était d'optimiser le montage expérimental permettant l'observation des larves en nage-libre. Une source d'illumination infrarouge a été ajoutée afin de filmer les interactions sans induire de biais visuel. Au-delà des modifications physiques apportées au montage, des algorithmes ont été établis afin de permettre le suivi des larves ainsi que la quantification de l'efficacité de la chasse chez celles-ci. Les changements apportés ont permis l'amélioration des expériences pour l'observation de l'activité neuronale en augmentant leur reproductibilité et leur fiabilité. Au niveau des observations comportementales, le biais visuel apporté par la lumière visible a été éliminé et les algorithmes développés permettent d'automatiser l'observation du comportement en nage libre ainsi que de mieux quantifier les comportements de l'animal.

Étude de l'effet des antagonistes du BDNF et du CGRP sur l'expression de KCC2 chez les deux sexes

MÉTHOT Lyane¹, LOCKMAN-DUFOUR Guillaume¹, FERLAND Samuel¹, DE KONINCK Yves¹

[1] Centre de recherche CERVO

Le cotransporteur K⁺-Cl⁻ isoforme 2 (KCC2) joue un rôle crucial dans le traitement des signaux de la douleur. Cette protéine module la concentration de chlore intracellulaire régulant ainsi l'inhibition neuronale exercée par l'acide γ -aminobutyrique (GABA) et la glycine dans le système nerveux central. Cette inhibition dans la moelle épinière est importante pour le contrôle et le traitement des signaux douloureux qui proviennent des fibres sensorielles. Certaines études ont montré que la perte de fonction du KCC2 rend les animaux hypersensibles aux stimuli normalement non douloureux. Toutefois, les mécanismes qui permettent de réguler KCC2 chez les mâles et les femelles sont très différents et encore peu compris. Chez le mâle, c'est le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) qui se lie au récepteur tyrosine kinase de type B (TrkB) ce qui diminue l'expression du KCC2 membranaire. Contrairement au BDNF chez les mâles, la liaison du peptide relié au gène de calcitonine (CGRP) à son récepteur (CGRP-R) augmente la concentration de chlore intracellulaire chez les femelles seulement. Cependant, cette découverte est récente et la voie moléculaire reliant CGRP, son récepteur et KCC2 n'est pas encore connue. Cet été, nous avons étudié l'effet de BDNF et de CGRP sur l'expression de KCC2 dans les différents circuits de la moelle épinière dorsale chez les deux sexes. Nous pensons alors que l'utilisation d'un antagoniste de TrkB impactera le niveau de KCC2 chez les mâles alors que l'utilisation d'un antagoniste de CGRP-R aura un effet chez les sujets femelles. Pour tester cette hypothèse, nous avons observé l'expression de KCC2 par immunofluorescence dans des tranches de moelle épinière prélevées sur des souris mâles et des souris femelles. En utilisant la même méthode, nous avons observé l'impact d'un antagoniste de TrkB, ANA-12, et d'un antagoniste de CGRP-R, l'olcegepant, sur le niveau de KCC2 dans la moelle épinière en fonction du sexe. Ainsi, nous supposons que l'ANA-12 entraînera une augmentation de KCC2 chez les mâles, tandis que l'olcegepant entraînera le même effet chez les femelles. Nous espérons que ces résultats jetteront un éclairage nouveau sur l'influence du sexe sur le traitement de l'information douloureuse dans la moelle épinière.